

МИНИСТЕРСТВО ОБЩЕГО И ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Кафедра общей химии и хроматографии

**КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ
ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ
АНАЛИЗ**

Лабораторный практикум

Издательство "Самарский университет"
1997

В лабораторном спецпрактикуме "Количественный газохроматографический анализ" приведены различные традиционные методы количественной интерпретации хроматограмм, а также некоторые новые, разработанные на кафедре, методики количественного анализа неидентифицированных компонентов смеси. Он предназначен для студентов, специализирующихся в области аналитической и физической химии, а также студентов других специальностей, дипломников и аспирантов, использующих методы газовой хроматографии.

Составители: Арутюнов Ю.И., Платонов И.А., Онучак Л.А.,
Кудряшов С.Ю., Авдеев С.В., Ревинская Е.В.

ВВЕДЕНИЕ

Настоящее пособие для лабораторного спецпрактикума по количественному газохроматографическому анализу предназначено для студентов-химиков, специализирующихся в области аналитической и физической химии. Представленные в практикуме лабораторные работы позволяют студентам овладеть основными приёмами и методами количественной интерпретации хроматограмм, поэтому пособие может быть полезным студентам других специальностей и научным сотрудникам, использующим в своей практической работе методы газовой хроматографии.

Успешное выполнение лабораторных работ данного практикума предполагает предварительное усвоение теоретического материала в объёме программы лекционных курсов по газовой хроматографии, ознакомление с аппаратурой, правилами её эксплуатации.

Каждый студент перед началом работы проходит собеседование с преподавателем для получения разрешения на выполнение работы. При этом студент должен хорошо ознакомиться с общей техникой выполнения лабораторной работы, схемой проведения эксперимента и уметь обращаться с хроматографической аппаратурой.

Отчёт по лабораторной работе выполняется студентами в рабочей тетради по следующему плану:

1. Название работы.
2. Цель работы.
3. Краткое описание основных этапов эксперимента.
4. Результаты измерения и расчёта (хроматограммы, таблицы, графики и т.д.).
5. Выводы.

После выполнения лабораторной работы каждый студент сдаёт письменный отчёт, устно комментирует его и отвечает на вопросы, приведенные в конце каждой работы.

Последовательность выполнения лабораторных работ во время практикума определяется преподавателем и может отличаться от последовательности их номеров (ввиду этого в описаниях некоторых работ встречаются однотипные рекомендации, примечания и вопросы в конце работ).

Предлагаемые лабораторные работы рассчитаны на использование хроматографов серии "Цвет" или любых других хроматографов, имеющих характеристики, аналогичные приборам серии "Цвет".

Работа N 1.

Влияние скорости газа-носителя на эффективность работы хроматографической колонки

Цель работы: Исследовать влияние скорости газа-носителя, изменяемой в широких пределах, на эффективность разделения компонентов искусственной смеси углеводородов

Краткое теоретическое введение

Одна из первых теорий размывания хроматографической полосы была разработана Мартином и Сингом. Это теория базируется на концепции теоретических тарелок, хроматографическая колонка рассматривается в виде большого количества участков и секций, в каждом из которых устанавливается равновесие между подвижной и неподвижной фазами. Это распределение происходит в соответствии с изотермой сорбции, размер тарелки определяется ее высотой. Высота тарелки зависит от коэффициента распределения, т.е. меняется в зависимости от физико-химических свойств веществ. Если число теоретических тарелок достаточно велико, то кривая становится похожей на кривую распределения Гаусса, т.е. компонент из первой тарелки будет вымываться только при бесконечно большом числе промываний.

Специфичность процесса хроматографического разделения заключается в том, что равновесие устанавливается не постепенно в отдельных тарелках, а происходит одновременно на всех тарелках. Это связано с тем, что в хроматографическую колонку дозируют больший объем пробы, чем может вместить теоретическая тарелка. Некоторое количество вещества, не поместившееся в первой тарелке, переходит на следующие, т.е. процесс хроматографического разделения сразу начинается на нескольких тарелках.

Число теоретических (воображаемых) тарелок можно определить экспериментально на основе хроматографического пика по формуле

$$n = 5,55 \left(\frac{l_x}{\mu_{0,5}} \right)^2 \quad (1)$$

где n - число теоретических тарелок; l_c - расстояние удерживания хроматографического пика; $M_{0,5}$ - ширина пика на половине его высоты.

Поскольку число теоретических тарелок не зависит от размеров и формы хроматографической колонки, оно не может являться достаточной характеристикой хроматографического разделения. Поэтому в теорию газовой хроматографии было введено понятие высоты, эквивалентной теоретической тарелке (ВЭТТ), которое в научной литературе обозначается символом H и является количественной мерой размывания. ВЭТТ - это длина элементарного участка колонки, на котором достигается мгновенное равновесие между концентрациями вещества в подвижной и неподвижной фазах. Она определяется отношением длины хроматографической колонки к ее эффективности. Каждая тарелка содержит подвижную и неподвижную фазы. Предполагается, что анализируемое вещество проходит каждую тарелку периодическими толчками, в результате чего между газовой и неподвижной жидкой фазами с каждой новой порцией газа-носителя концентрация вещества уменьшается на первых тарелках и возрастает на следующих, затем снова уменьшается и т.д. Такой процесс способствует "размыванию" компонента по тарелкам, на средних тарелках его максимальная концентрация будет ниже исходной.

Размывание хроматографической полосы Ван-Деемтер объяснил диффузией в газе и порах сорбента и массообменом между газом и неподвижной жидкой фазой.

Общий коэффициент диффузии $D_{эф}$ складывается из суммы эффективных коэффициентов диффузий отдельных стадий:

$$D_{эф} = D_{мол} + D_{пир} + D_{кин} \quad (2)$$

Для учета факторов, способствующих размыванию хроматографической полосы, Ван-Деемтер вывел уравнение, связывающее эффективность разделения с условиями хроматографического анализа

$$H = A + \frac{B}{\alpha} + C\alpha \quad (3)$$

где $A=2\lambda d$ - константа, определяющая вклад вихревой диффузии, т.е. изменение скорости потока по сечению колонки; λ - неравномерность распределения "зерна" сорбента по размерам и их конфигурации; d - поперечный размер зерен сорбента; $B=2\gamma D$ - константа определяющая вклад молекулярной диффузии; γ - коэффициент извилистости; D - коэффициент диффузии в газовой среде.

де; $C = \frac{8}{\pi} \cdot \frac{K' \delta^2}{(1 + K') D_{ж}}$; C - константа определяющая вклад внутри- и внешне-

диффузионной массопередачи; δ - эффективная толщина пленки неподвижной фазы; $D_{ж}$ - коэффициент диффузии в жидкой фазе. K' - приведенный коэффициент распределения; π - коэффициент, учитывающий шарообразную конфигурацию зерен насадки.

$$K' = \Gamma \frac{x_1}{x}$$

где Γ - истинный коэффициент распределения;

x - доля поперечного сечения колонки занятая газом носителем;

x_1 - доля поперечного сечения колонки, занятая неподвижной жидкостью

Уравнение Ван-Деемтера решать математически чрезвычайно трудно, так как необходимо учитывать действие многих факторов. Однако его можно решать графически путем построения зависимости высоты эквивалентной теоретической тарелки H от линейной скорости газа-носителя.

По графику практически определяют оптимальную скорость газа-носителя, которая соответствует наиболее высокой эффективности хроматографической колонки, а также оценивают вклад отдельных слагаемых уравнения Ван-Деемтера в размывание хроматографической полосы.

Порядок выполнения работы

Хроматографируют искусственную смесь близкипящих углеводородов при последовательном изменении скорости газа-носителя. На основании полученных данных определяют число теоретических тарелок (для каждого из режимов хроматографического разделения), находят высоту эквивалентную теоретической тарелке ВЭТТ, строят зависимость ВЭТТ от скорости газа-носителя. Используя график определяют константы уравнения Ван-Деемтера, значения оптимальной ($\alpha_{оп}$) и оптимальной практической скорости газа-носителя, коэффициент извилистости каналов (γ), а также минимальное значение H и соответствующее ему значение эффективного коэффициента продольной диффузии $D_{эфф}$.

Аппаратура, условия и объекты хроматографирования

Хроматограф с детектором по теплопроводности, сила тока моста 70 мА, множитель шкалы 10.

Колонка стальная (3 м x 3 мм), заполненная хроматоном N-AW (0,20-0,25 мм) с 10% (масс) вазелинового масла.

Температура термостата колонок 120°C, испарителя 150°C, детектора 130°C

Газ-носитель азот, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60 мл/мин

Скорость движения диаграмной ленты 720 мм/ч

Объект хроматографирования смесь из бензола, толуола, этилбензола в объемном соотношении 1:1:1

Дозирование осуществляется микрошприцем МШ-10, доза 2-4 мкл

Устанавливают колонку в термостате хроматографа, проверяют и обеспечивают герметичность газовых линий. Затем задают расход азота около 10 мл/мин и выводят хроматограф на рекомендованный режим работы.

По установлении стабильной нулевой линии на диаграмной ленте приступают к хроматографированию искусственной смеси.

Если из-за несколько затянутой во времени процедуры дозирования и низкой чувствительности детектирования на первых пробных хроматограммах перо автоматически не пропишет начало анализа, при повторных вводах пробы немедленно после дозирования мягко отклоните перо самописца рукой - поставьте стартовую отметку.

Движением плунжера микрошприца МШ-10 переведите оставшуюся в игле после дозирования жидкость в рабочий канал стеклянного корпуса и оцените с возможно большей точностью количество смеси, введенное в колонку. Запишите установленную реальную величину дозы непосредственно на хроматограмме против стартовой отметки.

Высота пиков на первых пробных хроматограммах должна достигать 60-70% ширины диаграмной ленты. Если зарегистрируются значительно меньшие или, наоборот "зашкаленные" пики, измените соответствующим образом дозу и чувствительность регистрации сигнала детектора.

Получив несколько, не менее трех, воспроизводимых хроматограмм, удовлетворяющих этому условию, увеличивают скорость пропускания азота (одновременно через рабочую и сравнительные колонки) примерно до 15 мл/мин и после прекращения дрейфа нулевой линии вновь хроматографируют искусственную смесь несколько раз, однако уже не изменяя окончательно принятые в первом рабочем цикле величину дозы и чувствительность регистрации сигнала. Постоянное значение этих важных для данной работы параметров опыта поддерживают и в следующих циклах хроматографирования при последовательно увеличиваемых расходах газа-носителя (около 20, 25, 30, 40, 60 мл/мин). Получив полный комплект хроматограмм, выключают прибор, срезают диаграмную ленту и приступают к обработке результатов.

Число теоретических тарелок (n) и высоту эквивалентную теоретической тарелки для каждого из компонентов анализируемой пробы рассчитывают по формулам

$$n = 5,55 \left(\frac{l}{\mu_{0,5}} \right)^2 = 5,55 \left(\frac{l_R}{\tau_{0,5}} \right)^2 = 5,55 \left(\frac{V_R}{\omega_{0,5}} \right)^2$$

и

$$H = L/n,$$

где l - расстояние на хроматограмме от стартовой линии до вершины пика, см;

$\mu_{0,5}$ - полуширина пика, см;

L - длина колонки, см.

Используя полученные данные, строят графики откладывая по оси абсцисс скорость движения газа-носителя через колонку (мл/мин) и (см/с), а по оси ординат - усредненные значения ВЭТТ (H). По графику находят оптимальную объемную и линейную скорости газа-носителя, обеспечивающую наибольшую эффективность разделения.

Линейную скорость газа-носителя на выходе из колонки (см/с) рассчитывают по формуле

$$\alpha_0 = V_a / 60S,$$

где S - площадь поперечного сечения колонки;

V_a - расход газа-носителя (см³/мин).

Анализируя полученные хроматограммы, находят также значения критерия разделения R для каждого из режимов разделения

$$R = \Delta l / (\mu_{0,5(1)} + \mu_{0,5(2)}),$$

где Δl - расстояние между вершинами пиков на хроматограмме.

Полученные данные оформляют в виде таблицы 3.1

Аналогично заполняют таблицу для $V = 15, 20, 25, 30, 40, 50$ и 60 мл/мин.

Графическую зависимость ВЭТТ от скорости газа-носителя (мл/мин, см/с) строят по бензолу.

Таблица 3.1

Экспериментальные данные по изучению влияния скорости газа-носителя на эффективность работы хроматографической колонки

Компоненты смеси	Скорость газа-носителя		$l_D, \text{см}$	$\Delta l, \text{см}$	$\mu_{0,3}, \text{см}$	n	H	R
	мл/мин	см/с						
бензол	10							
толуол								
этилбензол								
Средние значения								
бензол	15							
толуол								
этилбензол								

Вопросы для отчёта по работе

1. Влияние природы газа-носителя и его параметров на качество разделения веществ.
2. Требования, предъявляемые к элюенту в газовой хроматографии.
3. Расчёт ВЭТТ из хроматограммы.
4. Анализ полученной экспериментальной кривой Ван-Деемтера.
5. Уравнения Ван-Деемтера, Голея, Гиддингса.
6. Теория тарелок.
7. Влияние объёма пробы на эффективность.
8. Критерии разделения и их связь с эффективностью и селективностью.

Литература

1. Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Введение в газовую хроматографию. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Химия, 1990. С. 36-50
2. Сакодынский К.И. и др. Аналитическая хроматография. М.: Химия, 1993. С. 61-88.

Работа N 2.

Количественный хроматографический анализ

Цель работы: Рассмотреть основные этапы количественных газохроматографических определений с использованием методов внутренней нормализации, внутреннего стандарта и абсолютной градуировки.

Краткое теоретическое введение

Разработка методик анализа сложных смесей заключается в изучении качественного состава анализируемой пробы, подборе неподвижной жидкой фазы, сорбента и условий проведения анализа.

Для получения достоверных количественных результатов необходимо, чтобы параметры пика измерялись достаточно точно, а количество введенной пробы соответствовало количеству пробы вышедшей из хроматографической колонки. Задачей количественной газовой хроматографии является оценка и устранение ошибок, возникающих при проведении анализа и интерпретации хроматографических пиков.

Концентрация анализируемого компонента при прохождении его через хроматографическую колонку изменяется во времени. Это изменение фиксируется детектором, величина сигнала которого пропорциональна концентрации компонента и обусловлена природой анализируемого вещества. Количественные изменения зависят от способа отбора пробы, ее дозировки в хроматографическую колонку, методов расчета хроматограмм и качества аппаратуры. Точность хроматографического анализа определяется поставленной задачей, условиями проведения процесса и выбором метода обработки хроматограмм.

Основным фактором, влияющим на точность хроматографического анализа, является погрешность измерения площади пика. Для оценки погрешности определения результатов необходимо учитывать экспериментально определяемые величины: полноту разделения соседних пиков, их симметрию, высоту и ширину.

При расчете плохо разделенных пиков неизбежно появление систематических ошибок и усложнение измерения хроматограмм, что увеличивает случайную ошибку анализа. Достаточно полное разделение пиков является главным условием количественного хроматографического разделения.

При оценке контрольной методики хроматографического разделения необходимо учитывать асимметрию пиков. Основными причинами повышенной асимметрии хроматографических пиков является: малая упругость пара веществ, некачественный твердый носитель или плохая его обработка перед применением, использование слабополярных силиконовых неподвижных фаз с примесью кремниевой кислоты, плохое заполнение хроматографической колонки.

Если в хроматографическую колонку ввести очень малую пробу вещества, то изотерма сорбции будет иметь линейный вид. В этом случае на выходе из хроматографической колонки происходит распределение концентраций, которое можно описать гауссовой кривой с амплитудой C_{max} . Количество вещества

$$g = S \int C \cdot dx,$$

где dx - элемент длины; S - сечение колонки.

В дальнейшем происходит десорбция определяемого вещества, в результате чего пик расширяется в $(\Gamma \pm \alpha)$ раз, а концентрация в максимуме уменьшается.

Такое распределение концентраций также подчиняется уравнению гауссовой кривой, при этом амплитуда $C_{max}^0 = C_{max} \cdot \Gamma_0$, а количество вещества

$$g = V_a \int C \cdot dt,$$

где t - время.

Если регистратор и детектор не искажают форму хроматографической кривой, хроматограмму можно описать уравнением

$$y = h \cdot \Gamma^{ax^2},$$

где ρ - константа, h - амплитуда.

При количественных расчетах основными параметрами хроматографического пика являются: высота пика h , ширина пика, его площадь Q , которая ограничивается контуром пика и продолжением нулевой линии, а также время удерживания t_{y0} , удерживаемый объем V_{y0} или расстояние удерживания l .

Наиболее часто при количественных расчетах в газовой хроматографии используют площадь пика, которая зависит от количества анализируемого вещества в пробе:

$$Q = \int y \cdot dx = \int K_1 \cdot dx (K_2 \cdot t \cdot V_a) = K_1 \cdot K_2 \cdot V_a \int C \cdot dt = K_1 \cdot K_2 \cdot g,$$

где K_1 и K_2 - коэффициенты пропорциональности

Если хроматограмма идеальная, то $K_1 = K_2$ для всех компонентов смеси, а отношение концентраций равно отношению площадей.

Для определения концентрации вещества в качестве определяющего параметра пика кроме его площади можно использовать также высоту пика или произведение высоты на отрезок нулевой линии, соответствующий времени удерживания. Площадь пика используется для расчетов в тех случаях, если

стабилизирован поток газа-носителя и измерения производят в линейной области работы детектора. Используют три основных метода расчета: метод абсолютной калибровки, метод внутренней нормализации и метод внутреннего стандарта.

1. *Метод абсолютной калибровки* заключается в использовании зависимости высоты или площади пика от количества анализируемого вещества в смеси, которую определяют на основе экспериментальных данных при разделении искусственных смесей. Затем эту зависимость выражают в координатах $Q - C_i$; или при помощи коэффициента

$$C_i = \frac{K_e \cdot Q}{g} \cdot 100 \quad \text{или} \quad C_i = \frac{K_h \cdot h}{g} \cdot 100,$$

где C_i - концентрация, %; Q - площадь пика, мм²; h - высота пика, мм; g - количество вещества, введенного в колонку, г.

Расчет с помощью коэффициентов можно применять лишь в тех случаях, когда детектор работает в линейной области. Калибровку хроматографа осуществляют на основе исследования одинаковых количеств компонентов смесей различного состава или различных концентраций смеси одного и того же состава. Точность этого метода зависит от тщательности приготовления и анализа эталонных смесей, а также от постоянства режима работы хроматографической аппаратуры.

Метод абсолютной калибровки нашел широкое применение при использовании хроматографов для регулирования технологических процессов по содержанию в продуктах целевого вещества или нескольких веществ, а также для определения микропримесей.

Важным условием получения точных результатов является воспроизводимость дозирования пробы в хроматографическую колонку.

2. *Метод внутренней нормализации* основан на соотношении между количеством анализируемых компонентов смеси и одним из параметров хроматограммы. Необходимым условием этого метода является регистрация всех компонентов анализируемой смеси. Расчет количественного содержания основан на приведении к 100% суммы приведенных площадей, высот или произведения $h \cdot l$ всех хроматографических пиков (l - расстояние от ввода пробы до максимума удерживания пика):

$$C_i = \frac{K_i \cdot Q_i}{\sum_j K_j \cdot Q_j} \cdot 100,$$

где K_i - коэффициент, определяемый чувствительностью детектора к анализируемому компоненту.

Таким же образом рассчитывается концентрация на основе высот хроматографических пиков. При расчете по произведению высоты пика h на расстояние удерживания l необходимо вводить поправку на эффективность хроматографической колонки, равную $K_i \sqrt{N}$ (N - высота эквивалентная теоретической тарелке). Содержание компонентов выражают в весовых или мольных процентах в зависимости от применяемых поправочных коэффициентов чувствительности.

Преимущество этого метода обусловлено тем, что искажения, имеющиеся в одинаковой мере у всех пиков, не влияют на точность полученных результатов и во многих случаях не требуется предварительной калибровки детекторов, так как для многих органических веществ калибровочные коэффициенты приведены в литературе.

3. *Метод внутреннего стандарта* основан на введении в анализируемую смесь определенного количества стандартного вещества. Содержание компонентов в анализируемой смеси рассчитывается по формуле

$$C_i = \frac{K_i \cdot Q_i}{K_{cm} \cdot Q_{cm}} \cdot 100 \cdot r,$$

где K_i и K_{cm} - поправочные коэффициенты к площади пиков компонента и внутреннего стандарта, зависящие от чувствительности детектора; Q_i и Q_{cm} - площади соответствующего пика анализируемого компонента и стандарта; r - отношение массы внутреннего стандарта к массе анализируемой смеси.

Этот метод применим в тех случаях, когда на хроматограмме отсутствуют пики некоторых компонентов анализируемой смеси. В состав исследуемой смеси не должно входить вещество, используемое в качестве стандарта, а на хроматограмме пик стандарта должен полностью разделяться с компонентами анализируемой пробы. Физико-химические свойства вещества-стандарта должны быть близки к свойствам компонентов анализируемой смеси.

При количественных расчетах большое значение отводится поправочным коэффициентам чувствительности, которые зависят от выбранного способа расчета хроматограмм. В литературе приводятся абсолютные коэффициенты, которые выражают соотношение между параметрами пика и концентрацией компонента в смеси определенного объема, и относительные, умножение которых на определяющий параметр пика позволяет вычислить приведенное значение параметра.

При расчете хроматограмм методом абсолютной калибровки применяют абсолютные поправочные коэффициенты чувствительности. Их значения зависят от условий хроматографирования, поэтому калибровку следует про-

изводить в тех же условиях, что и разделение анализируемой смеси. Для точной калибровки необходимо не менее 10 определений.

При калибровке по площадям пиков можно использовать поправочные коэффициенты, не зависящие от скорости газа-носителя V_a , объема анализируемой смеси V_{np} , скорости диаграммной ленты B_2 и чувствительности регистратора B_j :

$$C_i = K \frac{V_a}{V_{np} \cdot B_1 \cdot B_2} \cdot 100.$$

Эту формулу можно применять только для концентрационного детектора.

При расчете хроматограмм методом внутреннего стандарта и внутренней нормализации используются относительные поправочные коэффициенты чувствительности. Если расчет производится по площадям пиков, значения коэффициентов слабо зависят от условий разделения. При этом используются калибровочные смеси, для стандартного вещества поправочный коэффициент равен единице. Расчет относительных поправочных коэффициентов производят по формуле

$$K_Q = \frac{C_i \cdot Q_{c.m.}}{C_{c.m.} \cdot Q_i} \quad \text{или} \quad K_h = \frac{C_i \cdot h_{c.m.}}{C_{c.m.} \cdot h_i}.$$

Поправочные коэффициенты бывают весовыми и мольными. При работе с катарометром мольные поправочные коэффициенты относительно бензола для членов одного гомологического ряда определяются по формуле

$$\frac{100}{K_M} = A + BM,$$

где A и B - константы; M - молекулярный вес.

Значения коэффициентов не зависят от типа катарометра и практически не изменяются при десятикратном изменении концентрации.

Мольные поправочные коэффициенты можно привести в весовые по формуле

$$\frac{M_i}{M_{c.m.}} = \frac{K_{B_i} / K_{B_{c.m.}}}{K_{M_i} / K_{M_{c.m.}}}$$

где K_{M_i} - мольные поправочные коэффициенты чувствительности;

K_{B_i} - весовые поправочные коэффициенты чувствительности.

Поскольку для стандартных веществ $K_{B_i} = K_{M_i} = 1$, то

$$\frac{M}{M_{с.м.}} = \frac{K_{B_i}}{K_{M_i}}$$

Относительные поправочные коэффициенты чувствительности мало зависят от параметров процесса хроматографического разделения и закономерно изменяются в зависимости от строения анализируемых веществ. Для многих классов органических веществ поправочные коэффициенты чувствительности приведены в справочной литературе.

Для пламенно-ионизационного детектора поправочные коэффициенты чувствительности зависят от структуры молекулы компонента значительно в большей степени, чем для катарометра, что вносит определенную погрешность в результаты анализа. В этом случае поправочный коэффициент вычисляется на основе физико-химических свойств веществ. В пределах гомологического ряда наблюдается линейная зависимость величин $1/K_{M_i}$ от числа атомов углерода в молекуле. В то же время атом углерода, который в молекуле связан с атомами азота и кислорода, не вносит вклада в сигнал пламенно-ионизационного детектора, так как он не участвует в процессе горения.

Для углеводородов справедливо соотношение

$$Q = t_{y.d.} (A_{n_c} + B).$$

При использовании бензола в качестве стандартного вещества, приближенное значение поправочного коэффициента можно определить по формуле

$$K_{B_i} = 0,0769 \frac{M_i}{n_i}.$$

Вопросы для отчёта по работе

1. Задачи количественного анализа. Хроматографический пик. Хроматограмма на слое. Хроматограмма в элюате. Идеальная регистрируемая хроматограмма. Хроматографические сигналы (коррелируемые и представительные). Расчётная концентрация, область применения.

2. Основные метрологические характеристики хроматографического анализа. Повторяемость, сходимость, воспроизводимость. Оценка погрешности измерения. Влияние различных факторов на точность результатов анализа. Выбор и расчёт определяющего параметра пика. Площадь пика, высота пика, произведение

высоты пика на расстояние удерживания: преимущества, недостатки, условия применения. Причины возникновения погрешности.

3. Абсолютные, относительные и интерполяционные хроматографические сигналы в количественном анализе.

4. Методы расчёта хроматограмм. Абсолютная градуировка. Метод внутреннего стандарта. Метод двойного внутреннего стандарта. Метод добавки. Метод двойной добавки. Метод с асинхронным вводом пробы и стандартов. Метод с использованием системы "метка - стандарт" (сетка стандартов). Метод внутренней нормализации. Метод контролируемой внутренней нормализации. Количественный анализ смеси неидентифицированных веществ с использованием величин удерживания и индекса чувствительности.

5. Определение поправочных коэффициентов чувствительности детектора. Абсолютные поправочные коэффициенты. Поправочные коэффициенты при работе с катарометром и пламенно-ионизационным детектором. Эффективное углеродное число. Соотношения между массовым, мольным и объёмным коэффициентами чувствительности. Относительная мольная чувствительность.

Литература

1. Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Введение в газовую хроматографию. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Химия, 1990. С.197-220.

2. Вигдергауз М.С. Физико-химические основы и современные аспекты газовой хроматографии. Самара: Самарский университет, 1993. С. 68-88.

Работа 2.1

Количественный хроматографический анализ методом абсолютной градуировки

Цель работы. Провести градуировку хроматографа по эталонным газовым смесям. Определить абсолютные коэффициенты чувствительности детектора и концентрации компонентов контрольной газовой смеси.

Порядок выполнения работы

Хроматограф серии "Цвет".

- Колонка из нержавеющей стали 2м×3мм с полисорбом - 1 (зернение 0,30- 0,50 мм).

- Детекторы катарометр, ток моста 200 мА, множитель шкалы (в зависимости от состава смеси и величины дозы) в пределах от 2 до 10; ДИП, шкала электромера в пределах $2 \cdot 10^{-7}$ - $2 \cdot 10^{-8}$ А. Расход водорода и воздуха 30 и 300 мл/мин соответственно.

Температура термостата колонок 80, термостата детекторов - 100, испарителя -110, крана дозатора - 80 °С.

-Газ-носитель гелий или азот (если используется только ДИП), 30 мл/мин.

- Скорость движения диаграммной ленты 600 мм/ч.

- Объекты хроматографирования:

1. Калибровочная газовая смесь, содержащая 2,5% (объемных) пропана в гелии.

2. Контрольная смесь - природный или бытовой газ.

- Дозирование осуществляется краном-дозатором. При анализе калибровочной смеси объем доз 0,250; 0,500; 1,000; 2,000; 3,000 см³.

Собирают в термостате колонок (по согласованию с преподавателем) газовую схему, предусматривающую использование только катарометра, либо одновременно катарометра и ионизационно-пламенного детектора, или знакомятся с собранным заранее соответствующим ее вариантом. Проверяют и обеспечивают герметичность схемы, задают необходимые расходы газаносителя и выводят хроматограф на рабочий режим.

Убедившись в регистрации на диаграммной ленте самописца устойчивого фонового сигнала интересующего детектора, приступают к пробным анализам.

I. Определение калибровочных коэффициентов K_0

Одну и ту же выданную преподавателем калибровочную смесь известного качественного и количественного состава хроматографируют несколько раз, изменяя, если потребуется, чувствительность регистрации сигнала детекторов. На каждой хроматограмме отмечают момент ввода пробы.

Выполнив намеченный цикл анализов, т.е. получив по 5 воспроизводимых хроматограмм для каждой из пяти доз, срезают диаграммную ленту с записанными хроматограммами и приступают к обработке результатов.

Калибровочные коэффициенты K_0 рассчитывают по уравнению

$$K_0 = 0,01 C_1 \cdot V_1 / Q_1, \quad (1)$$

где V_1 - объем калибровочной смеси;

C_1 - концентрация в ней определяемого компонента [% (об.)];

Q_1 - соответствующая площадь пика на хроматограмме.

(Если определяющим параметром пика является его высота, то калибровочный коэффициент K_0 рассчитывается аналогично уравнению (1), подставляя вместо площади пика Q_1 его высоту h_1).

Полученные результаты заносят в таблицу 1.

Таблица 1

Результаты первичной обработки экспериментальных данных

при вычислении \bar{K}_0 в искусственной газовой смеси, содержащей 2,5 % (об.) пропана в гелии.

№ п/п	Объем дозы, мм ³	$t_{R_{1, \dots, n}} / \sqrt{t_{R_{1, \dots, n}}}$	Q_1 (пропана), мм ²		\bar{Q}_1 (пропана), мм ²		K_0 (пропана)		\bar{K}_0 (пропана)	
			ДТП	ПИД	ДТП	ПИД	ДТП	ПИД	ДТП	ПИД
1	250									
2										
3										
4										
5										
...										

Площади пиков при расчетах приводятся к единой шкале чувствительности регистрации шкалы детектора.

II. Количественный анализ пропана в природном газе

Следуя данным выше рекомендациям, получают 5 воспроизводимых и удобных для последующей обработки хроматограмм природного газа при объеме дозы 1 см³

Содержание пропана [в % (об.)] в исследуемой смеси находят по уравнению (2)

$$C_{\text{пропан}} = \frac{100 \cdot \bar{K}_q \cdot \bar{Q}}{V_{**}}, \quad (2)$$

где \bar{Q} - средняя площадь пика из 5-ти определений;

V_{**} - объем анализируемой пробы при фиксированной температуре;

\bar{K}_q - средний калибровочный коэффициент, определяемый на основе анализа стандартных смесей, размерность которого зависит от размерности Q и V_{**} .

Вопросы для отчета по работе

1. Суть метода абсолютной градуировки (его достоинства и недостатки).
2. Специфика подготовки пробы при работе методом абсолютной градуировки.
3. Метрологическая оценка получаемых результатов.
4. Абсолютные поправочные коэффициенты чувствительности. Соотношение между массовым мольным и объемным коэффициентами чувствительности.

Литература

1. Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Введение в газовую хроматографию. 3-е
2. Сакодынский К.И. и др. Аналитическая хроматография
3. Столяров Б.В. и др. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии.

Работа 2.2.

Количественный газохроматографический анализ смеси методом внутренней нормализации

Цель работы. Определить состав многокомпонентной смеси методом внутренней нормализации площадей или высот пиков с учетом и без учета соответствующих поправочных коэффициентов чувствительности детектора.

Порядок выполнения работы

- Хроматограф серии "Цвет".
- Колонка из нержавеющей стали 2м ×3мм, заполненная хроматоном N-AW, зернение 0,16 - 0,20 мм с 12 % (масс) ПМС-1000.
- Детектор катарометр, ток моста 100 мА, множитель шкалы (в зависимости от состава смеси и величины дозы) в пределах от 4 до 20.
- Запись сигнала с детектора осуществляется на КСП-4, полная шкала самописца - 1 мВ, максимальная длина всей шкалы регистратора 25 см.
- Температура термостата колонок 70, температура детектора катарометра 100, испарителя -160 °С.
- Газ-носитель азот 20 мл/мин.
- Скорость движения диаграммной ленты 600 мм/ч.
- Объекты хроматографирования:

1. Искусственные смеси известного качественного количественного состава:

- А. Бензол, толуол, этилбензол, пропиленбензол.
- Б. Этиловый спирт, гептан, бензол, этилацетат.
- В. Бензол, гептан, октан, нонан.

2. Контрольные смеси известного качественного, но неизвестного студентам количественного состава, приготовленные из тех же компонентов, что и перечисленные выше искусственные смеси.

Все искусственные смеси готовят взвешиванием на аналитических весах с точностью до 1 мг в бюксах с плотно притертой крышечкой, чтобы предотвратить потерю за счет испарения. Рассчитывают процентный состав смеси. Разделяют эту смесь на газо-жидкостной хроматографической колонке при условиях указанных выше. Особое внимание следует обратить на точность дозировки, которую проводят откалиброванным и проверенным микрошприцем.

Дозирование осуществляется микрошприцем МШ-10, доза 1-2 мкл.

В термостате колонок собирают газовую схему, предусматривающую использование детектора катарометра.

Проверяют и обеспечивают герметичность, задают необходимые расходы газа-носителя через сравнительную и измерительную колонки и выводят хроматограф на режим.

Убедившись в регистрации на диаграммной ленте самописца устойчивого фоновых сигнала, приступают к пробным анализам.

Одну и ту же выбранную преподавателем искусственную смесь известного качественного количественного состава хроматографируют несколько раз, изменяя, если потребуется, чувствительность регистрации сигнала детектора, величину дозы и др., таким образом, чтобы записывались пики с высотой 50 - 70 % шкалы самописца. На хроматограммах не должно быть зашкаленных и не полностью разделенных пиков. На каждой хроматограмме необходимо отмечать момент ввода пробы.

Выполнив намеченный цикл анализов, т.е. получив по 5-7 хроматограмм каждой смеси, срезают диаграммную ленту с записанными хроматограммами и приступают к обработке результатов. Исходя из известных величин процентного содержания каждого из компонентов объема пробы смеси, ее удельного веса и площади соответствующего пика на хроматограмме, рассчитывают отношение, m_i/Q_i .

где m_i - масса пробы в мг;

Q_i - площадь соответствующего пика в $см^2$.

По формуле (1), полученной из формулы Портера (2) для чувствительности детектора, вычисляют K_i , подставляя в нее среднее значение m_i/Q_i и величины B_1, B_2, V_a

$$K_i = \frac{1}{S_i} \cdot \frac{B_1 \cdot V_a}{B_2} \quad (1),$$

где K_i - количество вещества, соответствующее единице площади пика, мг/ $см^2$;

S_i - чувствительность концентрационного детектора, мВ-мл/мг;

B_1 - чувствительность самописца, мВ/см;

B_2 - скорость движения диаграммной ленты, см/с;

V_a - скорость потока газа-носителя, мл/с.

Чувствительность концентрационного детектора по Портеру

$$S_i = \frac{Q_i \cdot B_1 \cdot V_a}{g \cdot B_2} \quad (2),$$

где Q_i - площадь пика, $см^2$;

g - масса пробы, мг;

B_1 - чувствительность самописца, мВ/см;

B_2 - скорость движения диаграммной ленты, см/с;

V_a - скорость газа-носителя, мл/с.

Чувствительность самописца определяют из следующего выражения

$$B_1 = \frac{E}{l} \quad (3),$$

где E - полная шкала самописца, мВ;

l - длина всей шкалы, см.

Величины B_1, B_2, V_a известны заранее.

Величины K_1, K_2, K_M определяют для всех углеводородов искусственной смеси.

Значения относительных поправочных коэффициентов чувствительности (которые обычно приводятся в литературе) определяют по формуле

$$K'_i = \frac{K_i}{K_{CT}} \quad (4),$$

где K_s - массовый поправочный коэффициент чувствительности детектора к площади пика;

K_i - количество i -го вещества в смеси, соответствующее единице площади i -го пика, мг/см²;

K_{CT} - количество в смеси вещества, выбранного за стандарт, соответствующее единице площади пика стандарта, мг/см².

Зная массовый поправочный коэффициент, определяют мольный и наоборот по формуле

$$\frac{M_i}{M_{CT}} = \frac{K_s}{K_M}, \quad (5)$$

где M_i и M_{CT} - молекулярные массы анализируемого вещества и стандарта.

Найденные по результатам обработки 5 - 6 хроматограмм одной и той же смеси значения K_1 и K_2 заносят в таблицу 1.

Таблица 1

Результаты первичной обработки экспериментальных данных при вычислении K_1 и K_2

Компоненты смеси	Состав смеси % масс	Площадь пика, Q см ²	Отношение % масс/ Q см ² K_i	Массовый поправочный коэффициент K_s

Площади пиков при расчетах приводятся к единой шкале чувствительности регистрации сигнала детектора.

Сомнительно выпадающие значения K_B отбрасывают, пользуясь фактором Q . Оставшиеся достоверные величины K_B усредняют (число n - остающихся достоверных величин единичных определений должно быть не менее 4) и для характеристики воспроизводимости результатов рассчитывают стандартное отклонение (среднюю квадратическую погрешность) σ и коэффициент вариации v . Правильность найденных средних значений K_B оценивают доверительными интервалами

$$K_B \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}} t(P, f)$$

в пределах которых, среднее значение K_B соответствует его истинному значению при уровне надёжности $p=0,95$. Данные о воспроизводимости и надёжности значений K_B оформляют в виде таблицы 2.

Таблица 2

Воспроизводимость и правильность найденных значений поправочных коэффициентов чувствительности K_B ($n = \dots$) при измерении площадей пиков

Компоненты смеси	K_B	σ	v	$K_B \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}} t(P, f)$

13. Следуя данным выше рекомендациям, получают 5-6 воспроизводимых хроматограм контрольной смеси (смесь тех же углеводородов в которой массовая доля каждого компонента в тех же пределах, что и в калибровочных растворах). Измеренные вручную на каждой хроматограмме количественные параметры пиков представляют в табличной форме (табл.3).

Определяя согласованные с преподавателем количественные параметры хроматографических пиков, относящиеся к каждому отдельному опыту, находят состав контрольной смеси по формуле (6) с учётом и без учёта поправочных коэффициентов чувствительности и заносят в таблицу 3.

$$C_i = \frac{m_i}{\sum m_i} \cdot 100 = \frac{Q_i \cdot K_{B(i)}}{\sum Q_i \cdot K_{B(i)}} \cdot 100 \quad (6)$$

Таблица 3

Площади пиков на хроматограммах и результаты количественного анализа методом внутренней нормализации

№ хроматограмм	Компоненты смеси	Площадь пиков, см ²	Найдено C_i , % (по массе)	
			без учета $K_{B(i)}$	с учетом $K_{B(i)}$

14. Сомнительные выпадающие из ряда значения C_i отбрасывают как и при выбраковке K_B . Оставшиеся доверительные величины C_i усредняют и для характеристики воспроизводимости и правильности результатов анализа рассчитывают σ , ν и $C_i \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}} t(P, f)$ для доверительной вероятности $P = 0,95$ (табл. 4).

Таблица 4

Воспроизводимость и правильность результатов количественного анализа ($n=...$) по площадям пиков

Компоненты смеси	Задано C_i^0 (по массе)	Найдено C_i , % (по массе)	σ , % (по массе)	ν , %	$C_i \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}} t(P, f)$ ($P=0,95$), % (по массе)	ΔC_i , % (по массе)	$\frac{\Delta C_i}{C_i^0} \cdot 100$, %
Без учета K_B							
А							
Б							
В							
Г							
С учетом K_B							
А							
Б							
В							
Г							

15. Дополнительно правильность результатов выражают также абсолютной и относительной погрешностями. В нашем случае абсолютная погрешность результата ΔC_i равна разности найденной средней C_i и заданной C_i^0 концентрацией компонентов в анализируемой смеси [в % (по массе)]:

$$\Delta C_i = \bar{C}_i - C_i^0$$

Относительная погрешность ΔC (величина безразмерная, обычно выражаемая в процентах) равна отношению абсолютной погрешности к заданной концентрации компонента:

$$\Delta C_{\text{о.ин}} = (\Delta C_i / C_i^0) \cdot 100$$

Вопросы для отчёта по работе

1. Метод внутренней нормализации, его достоинства и недостатки.
2. Оценка полученных результатов определения с учётом и без учёта поправочных коэффициентов чувствительности.
3. Сопоставить экспериментально полученные значения массовых поправочных коэффициентов чувствительности с литературными.
4. Факторы влияющие на чувствительность концентрационного и потокового детекторов.
5. Точность получаемых результатов измерений и их метрологическая оценка.

Литература

1. Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Введение в газовую хроматографию. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Химия, 1990. С. 197-220.
2. Сакодынский К.И. и др. Аналитическая хроматография. М.: Химия, 1993. С. 374-442.
3. Столяров Б.В. и др. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии. 3-е изд., перераб. Л.: Химия, 1988. С. 211-248.

Работа 2.3. Количественный газохроматический анализ методом внутреннего стандарта

Цель работы: Определить содержание этанола, пропанола и воды в исследуемой смеси, где масса этанола и пропанола известна.

Теоретическое введение по методике подготовки пробы к анализу

Методика приготовления градуировочной смеси и ее аттестация по процедуре приготовления заключается в следующем: готовят искусственную смесь, содержащую все определяемые компоненты и вещества, принятые за внутренний стандарт. Массовая доля каждого компонента должна быть того же порядка, что и измеряемые (примесные) компоненты в анализируемом продукте. Для этого предварительно проводят приближенную количественную оценку содержания определяемых компонентов (примесей) в анализируемом объекте, например методом внутренней нормализации без поправочных калибровочных (градуировочных) коэффициентов чувствительности. На основании полученных данных рассчитывают количество растворителя, необходимое для получения требуемых массовых долей определяемых веществ. В качестве растворителя используют вещество, не содержащее определяемых компонентов, желателен близкой химической природы к анализируемому веществу.

Смеси готовят гравиметрическим методом. Все взвешивания проводят на аналитических весах, записывая результат взвешивания до четвертого десятичного знака.

Процедура приготовления смеси состоит в следующем: взвешивают пустую склянку и записывают результат взвешивания m . Лучше использовать пенициллиновые склянки с плотно закрывающимися полиэтиленовыми пробками. Затем во флакон с помощью пипетки вносят 3-5 мл вещества растворителя. При этом внимательно следят, чтобы вещество с носика пипетки не размывалось по стенкам и не попадало на горло флакона во избежание попадания его на пробку. Проводят взвешивание и записывают результат взвешивания m .

В дальнейшем все манипуляции с флаконом, в который уже введен растворитель, проводят таким образом, чтобы жидкость не попадала на пробку. Затем с помощью микропипетки или микрошприца добавляют поочередно все определяемые компоненты и вещество, принятое за внутренний стандарт, записывая для каждого значение результата взвешивания m_{i+1} . Ни одна из навесок не должна иметь массу менее 40 мг.

Предварительными расчётами можно приблизительно оценить, что при добавлении к 5мл основы (растворителя или анализируемой пробы) 40-50 мкл тестового вещества получают смесь, содержащую около 1% тестового вещества. Для получения смесей, содержащих добавляемый компонент на уровне со-

тых или тысячных долей процента, используют метод двойного разбавления. Он заключается в том, что заранее рассчитанное количество смеси из первого флакона вносят во второй флакон, содержащий 3-5 мл растворителя. Рассчитывают содержание каждого компонента (в г) во втором флаконе и т.д.

Процедура приготовления смеси анализируемого вещества с веществом принятым за внутренний стандарт, аналогична процедуре приготовления смеси для градуировки прибора.

Порядок выполнения работы

1. Аппаратура, условия и объекты хроматографирования

- Хроматограф серии "Цвет" с пламенно-ионизационным детектором.

Шкала электромера переменная, в диапазоне $2 \cdot 10^8 - 2 \cdot 10^9$ А. Расход водорода и воздуха 30 и 300 мл/мин соответственно.

- Колонка из нержавеющей стали 2м×3мм, заполненная Полисорбом-1, с зернением 0,3-0,5 мм.

- Температура термостата колонок 130°, термостата детектора - 150°, испарителя - 160 °С.

- Газ-носитель азот, 30 мл/мин.

- Скорость движения диаграммной ленты 600 мм/ч.

хроматографирования.

Искусственная смесь: этанол, пропанол, вода (масса этанола и пропанола в смеси известна), внутренний стандарт - изопропанол.

- Дозирование осуществляется микрошприцем МШ-1, доза 0,2-0,4 мкл.

2. Устанавливают колонку в термостате хроматографа, проверяют и обеспечивают герметичность. Устанавливают расходы азота, водорода и воздуха, включают блок питания детектора, задают температуру в соответствующих нагревательных блоках хроматографа. Выждав 30 мин (время, необходимое для выхода прибора на рабочий режим), поджигают водород, включают самописец и проверяют стабильность нулевой линии. Убедившись в регистрации на диаграммной ленте устойчивого фонового сигнала, приступают к пробным анализам.

3. Одну и ту же искусственную смесь хроматографируют несколько раз, изменяя, если потребуются, чувствительность регистрации сигнала детектора и величину дозы таким образом, чтобы записывались пики с высотой в пределах 50-60 % шкалы самописца. Необходимо отмечать на каждой хроматограмме момент ввода пробы. Необходимо обратить внимание на тот факт, что на хроматограмме присутствуют всего два пика (этанол и пропанол). Пик воды не регистрируется.

4. Алгоритм расчёта характеристик погрешности установления значений содержаний компонентов в смеси (в г).

4.1. Суммарную погрешность определяют как сумму погрешности содержания основного вещества и неисключённой систематической погрешности процедуры гравиметрического приготовления смеси по формуле (ГОСТ 8.207-76)

$$\theta = k\sqrt{\theta_B^2 + \theta_{\tau y}^2},$$

где k - коэффициент, принимаемый равным 1,1 при доверительной вероятности $p=0,95$; θ_B - погрешность взвешивания; $\theta_{\tau y}$ - погрешность, учитывающая содержание основного вещества.

Массу каждого вещества, введённого в смесь, определяют как разность результатов двух взвешиваний:

$$m_i = m'_{in} - m'_i$$

4.2. Неисключённую систематическую погрешность рассчитывают по формуле:

$$\theta_B = 1,1\sqrt{(\Delta m_{in})^2 + (\Delta m_i)^2}.$$

Таким образом,

$$\theta_B = 1,1\sqrt{(0,0002)^2 + (0,0002)^2} = 0,00028 \text{ г.}$$

4.3. Погрешность ($\theta_{\tau y}$) определяют следующим образом: принимают погрешность содержания основного вещества равной половине интервала между номинальным значением (N) и теоретически возможным содержанием основного вещества, равным 100.

Тогда погрешность содержания основного вещества в массе m_i рассчитывают по формуле

$$\theta_{\tau y} = m_i(100 - N)/(2 \cdot 100)$$

4.4. Суммарную погрешность θ_i вычисляют по формуле:

$$\theta_i = 1,1\sqrt{(0,00028)^2 + [m_i(100 - N)/(2 \cdot 100)]^2}$$

Таким образом, содержание (в г) каждого компонента аттестованной смеси записывают в следующей форме

$$m_i \pm \theta_i$$

4.5. Массовую долю (в %) каждого компонента аттестованной смеси вычисляют по формуле

$$X_i = m_i \cdot 100 / \sum_{i=1}^n m_i$$

5. Получив 5-7 хроматограммы исследуемой смеси со стандартом, выключают хроматограф, срезают диаграммную ленту с записанными хроматограммами и приступают к обработке результатов.

6. Величины массовых поправочных коэффициентов чувствительности для этанола и пропанола рассчитывают по уравнению:

$$K = \frac{m_i \cdot Q_c}{m_c \cdot Q_i}$$

где m_i - навеска исследуемого вещества; m_c - навеска изопропанола; Q_i и Q_c - площади пиков исследуемого вещества и стандарта, соответственно.

7. Количество (%) этанола и пропанола рассчитывают по уравнению:

$$C_i = \frac{K_i \cdot Q_i}{K_c \cdot Q_c} \cdot 100 \cdot r$$

где Q_i и Q_c - площади пиков исследуемого вещества и стандарта, соответственно; K_i , K_c - калибровочные коэффициенты для компонентов исследуемой смеси и стандарта, соответственно ($K_c=1$); r - отношение навески стандарта к навеске анализируемой смеси без стандарта.

Количество воды определяют по разности 100% -этанола и пропанола.

8. Метрологическая оценка полученных результатов проводится так же как и при выполнении количественного анализа методом внутренней нормализации (см. работу 2.2.).

Вопросы для отчёта по работе

1. Требования, предъявляемые к методу внутреннего стандарта.
2. Специфика подготовки пробы при работе методом внутреннего стандарта.
3. Метрологическая оценка получаемых результатов.
4. Преимущества и недостатки метода внутреннего стандарта в сравнении с методом абсолютной градуировки и внутренней нормализации площадей.
5. Разновидности метода внутреннего стандарта.
6. Концепция эффективного углеродного числа.
7. Формула Онгкиехонга для априорной оценки градуировочных коэффициентов.

Литература

1. Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Введение в газовую хроматографию. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Химия, 1990. С. 197-220.
2. Сакодынский К.И. и др. Аналитическая хроматография. М.: Химия, 1993. С. 374-442.
3. Столяров Б.В. и др. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии. 3-е изд., перераб. Л.: Химия, 1988. С. 211-248.

Работа 3.

Количественная интерпретация хроматограмм методом двойного внутреннего стандарта

Цель работы: Определить концентрации отдельных компонентов анализируемой смеси с использованием двух стандартных веществ сравнения. Оценить общую погрешность измерения.

Краткое теоретическое введение

Метод двойного внутреннего стандарта предусматривает введение в пробу двух стандартных веществ сравнения, которые (по аналогии с определением интерполяционных величин удерживания) элюируются до и после определяемых компонентов. Концентрация i -го компонента в анализируемой пробе определяется по формуле

$$C_i = K_i y_i \sqrt{\frac{r_{ст1} \cdot r_{ст2}}{K_{ст1} y_{ст1} \cdot K_{ст2} y_{ст2}}}, \quad (1)$$

где K_i , $K_{ст1}$, $K_{ст2}$ - поправочные коэффициенты детектора для i -го компонента пробы и стандартных веществ 1 и 2, относительно бензола;

y_i , $y_{ст1}$, $y_{ст2}$ - хроматографические сигналы (площадь пика Q , высота пика h или произведение высоты пика на расстояние удерживания ht) соответственно для компонентов i , $ст1$, $ст2$;

$r_{ст1}$ и $r_{ст2}$ - отношение количества стандартных веществ 1 и 2 соответственно к количеству пробы (без стандартов 1 и 2).

Формулу (1) можно представить в виде $C_i = \sqrt{C_{i(ст1)} \cdot C_{i(ст2)}}$ - среднее геометрическое из значений

$$C_{i(ст1)} = \frac{K_i \cdot y_i}{K_{ст1} \cdot y_{ст1}} \cdot r_{ст1}$$

и аналогично $C_{i(ст2)}$, определяемых методом внутреннего стандарта относительно стандартов 1 и 2. Допускается использование в расчётах и среднего арифметического $C_{i(ст1)}$ и $C_{i(ст2)}$.

Использование метода двойного внутреннего стандарта обеспечивает взаимную корреляцию погрешностей как самих сигналов, так и коэффициентов чувствительности для веществ, значения t_R и K которых удовлетворяют условию: $t_{R_{ст2}} > t_{R_i} > t_{R_{ст1}}$ и $K_{ст1} > K_i > K_{ст2}$. Это связано с компенсирующим

влиянием двух стандартов в одном цикле анализа (при изменении параметров хроматографирования в период времени между их элюированием).

В зависимости от локализации пика компонента на хроматограмме компенсирующее влияние стандартов будет неодинаковым. Так, если стандартами являются *n*-парафины, то это влияние может быть учтено путём введения линейного индекса удерживания, тогда:

$$C_i = J_i \cdot K_i \left[\delta J'_i \frac{r_{(z+p)}}{K_{(z+p)} \cdot J_{(z+p)}} + (1 - \delta J'_i) \frac{r_z}{K_z \cdot J_z} \right] \quad (2) \text{ или}$$

$$\lg C_i = \lg J_i \cdot K_i + \delta J'_i \lg \frac{r_{(z+p)}}{K_{(z+p)} \cdot J_{(z+p)}} + (1 - \delta J'_i) \lg \frac{r_z}{K_z \cdot J_z}, \text{ где}$$

$\delta J'_i = J'_i - z$; J'_i - линейный индекс удерживания при $P=1$ или его аналог при $P>1$;

z и $(z+p)$ - число атомов углерода в молекулах *n*-парафинов.

Для уравнения (1) наибольшая точность будет при $\delta J'_i \approx 0,5$ и $\delta J'_{r_i} \approx 0,5$, где $\delta J'_{r_i} = J'_{r_i} - z$; J'_{r_i} - индекс чувствительности при $P=1$ или его аналог при $P>1$, тогда $K_{i1} / \sqrt{K_{ст1} \cdot K_{ст2}} \approx 1$ и расчёт C_i можно проводить без учёта коэффициентов чувствительности детектора. Это справедливо для веществ и стандартов с близкой молекулярной структурой и физико-химическими свойствами.

Для уравнения (2) наибольшая точность будет при $\delta J'_i \ll 0,5$ и $\delta J'_{r_i} \ll 0,5$ или $\delta J'_i \gg 0,5$ и $\delta J'_{r_i} \gg 0,5$.

Общая погрешность результата измерений методом двойного внутреннего стандарта $\Delta i, \%$ определяется

$$\Delta i = m \sqrt{\frac{\sum (\Delta l p)^2}{3} + \frac{\Delta^2 K_i / \sqrt{K_1 \cdot K_2}}{3} + \frac{\sum (\Delta_{\text{вкл}(z)})^2}{3} + S_i^2 (J_i / \sqrt{J_1 \cdot J_2})} \cdot 100 \quad (3)$$

где $m=2$ - коэффициент, зависящий от соотношения случайных и неисключённых систематических погрешностей при доверительной вероятности $P=0,95$;

$\sum (\Delta l p)^2$ - сумма квадратов относительных погрешностей приготовления пробы и двух стандартов 1 и 2;

$\Delta K_i / \sqrt{K_1 \cdot K_2}$ - относительная погрешность определения коэффициентов чувствительности;

$\sum (\Delta_{\text{всп}(1-2)})^2$ - сумма квадратов относительных погрешностей поддержания параметров хроматографирования в течении времени между выходом 1 и 2 стандартов ($t_{R_{z+1}} - t_{R_z}$);

$S_r(y_i / \sqrt{y_1 \cdot y_2})$ - относительное СКО среднего арифметического значения сигнала $y_i / \sqrt{y_1 \cdot y_2}$.

При $P=0,95$

$$\Delta_{\text{всп}} = 1,4 \sqrt{\sum \Delta_{\text{всп}}^2 + \sum \Delta_{\text{атт}}^2} \quad (4)$$

где $\sum \Delta_{\text{всп}}^2$ - сумма квадратов относительных погрешностей взвешивания;

$\sum \Delta_{\text{атт}}^2$ - сумма квадратов относительных погрешностей аттестации веществ стандартов.

$$S_r \left(\frac{y_i}{\sqrt{y_1 \cdot y_2}} \right) = \frac{1}{\left(\frac{y_i}{\sqrt{y_1 \cdot y_2}} \right)} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \left[\left| \frac{y_i}{\sqrt{y_1 \cdot y_2}} \right| - \left| \frac{y_i}{\sqrt{y_1 \cdot y_2}} \right| \right]^2}{n(n-1)}} \quad (5)$$

где n - число последовательных анализов пробы.

Результат анализа записывают как $C_i \pm \Delta_i$.

Порядок выполнения работы

1. Анализ смеси веществ, содержащей анализируемый компонент i (например, спирт или углеводород) и другие компоненты, в которую по массе добавляют два стандартных вещества сравнения (n -парафины или n -спирты) с числом углеродных атомов в молекулах z и $z+1$. Стандарты выбирают из условия, чтобы $t_{R_{(z+1)}} > t_{R_i} > t_{R_z}$.

1.1. Пробу приготавливают в отдельном пузырьке. На аналитических весах взвешивают пустой пузырёк (m_0), затем добавляют смесь, содержащую компонент i , ($m_0 + m_{np}$). После чего добавляют стандарт 1 (m_1) и стандарт 2 (m_2).

$$r_{ст 1} = \frac{m_1}{m_{np}} \text{ и } r_{ст 2} = \frac{m_2}{m_{np}}$$

1.2. Анализ приготовленной пробы проводят на хроматографе типа "Цвет" с пламенно-ионизационным детектором. Колонка (длина 100см, диаметр 0,3см) заполнена соответствующим сорбентом по заданию преподавателя. Температура термостата колонок 120°C. Температура испарителя 180-200°C. Объём вводимой пробы не более 0,5 мкл. Газ-носитель азот. Расход газа-носителя равен $V_{a(онс2)}$.

2. Проводят не менее $n = 8 \div 10$ последовательных анализов пробы. Измеряют n значений y_1 , $y_{ст 1}$ и $y_{ст 2}$ ($y = Q, h$ и hI). Вычисляют n значений C_i по формулам (1) и (2) для каждого сигнала (Q и hI). Рассчитывают для вычисленных различными методами и с различными сигналами значений C_i соответствующие величины

$$\bar{C}_i = \frac{\sum C_i}{n} \text{ - среднее из } (n) \text{ анализов.}$$

2.1. Определяют общую погрешность результатов измерений по формуле (3). Для этого определяют:

2.1.1. Сумму квадратов относительных погрешностей при взвешивании $\sum \Delta_{взв}^2$ (класс точности аналитических весов 0,0005г) определяется по формуле:

$$\sum \Delta_{взв}^2 = \left(\frac{0,0005}{m_0} \right)^2 + \left(\frac{0,0005}{m_0 + m_{np}} \right)^2 + \left(\frac{0,0005}{m_0 + m_{np} + m_1} \right)^2 + \left(\frac{0,0005}{m_0 + m_{np} + m_1 + m_2} \right)^2$$

2.1.2. Сумму квадратов относительных погрешностей аттестации стандартных веществ 1 и 2 принимают равной $\sum \Delta_{атт}^2 = 0,002$; Δ_{np} рассчитывают по формуле (4).

2.1.3. Относительную погрешность определения коэффициентов чувствительности принимают равной $\Delta K_i / \sqrt{K_1 \cdot K_2} = 0,03$.

2.1.4. Сумму квадратов относительных погрешностей поддержания параметров хроматографирования в течении времени между выходом 1 и 2 стандартов ориентировочно рассчитывают по формуле

$$\sum \Delta_{\text{вс}}^2 = \left(\frac{\Delta T}{T}\right)^2 + \left(\frac{\Delta P}{P}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_{\alpha}}{V_{\alpha}}\right)^2$$

где T , P и V_{α} - температура в термостате колонки, давление газа-носителя на входе в колонку и расход газа-носителя на выходе колонки;

$\Delta T/T$ - погрешность поддержания температуры $\pm 1\%$;

$\Delta P/P$ - погрешность поддержания давления $\pm 3\%$;

$\Delta V_{\alpha}/V_{\alpha}$ - погрешность поддержания расхода $\pm 3\%$.

2.1.5. Относительное среднее квадратичное отклонение среднего арифметического значения сигнала рассчитывают по формуле (5).

3. Измеренные величины сигналов и вычисленные значения занести в таблицы 1-3.

Значения коэффициентов чувствительности детектора к анализируемым веществам относительно бензола уточнить у преподавателя.

Таблица 1

№ анализа	h_i	$Q_i = h_i \mu_{0,5}$	h_{cm1}	Q_{cm1}	$h_{cm1} I_{cm1}$	h_{cm2}	Q_{cm2}	$h_{cm2} I_{cm2}$	C_i по (1)		C_i по (2)		
									Q	hI	Q	hI	
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
...													
n	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
C_i - среднее арифметическое из n замеров										+	+	+	+

Таблица 2

№ анализа	$C_{i(ст 1)} = \frac{K_i \cdot Q_i}{K_{ст} Q_{ст 1}} \cdot f_{ст}$	$C_{i(ст 2)} = \frac{K_i \cdot Q_i}{K_{ст 1} / K_{ст 2}} \cdot f_{ст}$	По формуле (5)	
			$S_i(Q_i / \sqrt{Q_{ст 1}})$	$S_i(Q_i / \sqrt{Q_{ст 2}})$
1	+	+		
2	+	+		
3	+	+		
...				
n	+	+		
	$\bar{C}_{i(ст 1)} = \frac{\sum C_{i(ст 1)}}{n} +$	$\bar{C}_{i(ст 2)} = \frac{\sum C_{i(ст 2)}}{n} +$	+	+

4. Полученные значения C_i таблицы 1 и 2 сравнить между собой и объяснить причины их различия.

5. Полученные значения S_i и Δ_i таблицы 2 и 3 сравнить между собой и объяснить причины их различия.

Вопросы для отчёта по работе

1. Основные метрологические характеристики хроматографического анализа.
2. Влияние различных факторов на точность результатов количественного анализа.
3. Достоинства и недостатки метода двойного внутреннего стандарта. Сравнение с обычным методом внутреннего стандарта.
4. Коррелируемые и представительные хроматографические сигналы. Ограничения их применения при различных методах количественной интерпретации хроматограмм.

Литература

1. Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Введение в газовую хроматографию. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Химия, 1990. С.127-145, 148-154, 197-215, 275-277.
2. Вигдергауз М.С. Метрология количественных хроматографических измерений. Куйбышев: Куйбышевский госуниверситет, 1989. 44с.

Таблица 3

Наименование	S_r по формуле (2) для C_{r+1} из (1)		S_r по формуле (5) для C_r из (2)	
	$S_r \left(\frac{h_r}{\sqrt{h_{r+1} h_{r+2}}} \right)$	$S_r \left(\frac{Q_r}{\sqrt{Q_{r+1} Q_{r+2}}} \right)$	$S_r \left(\frac{h_r \delta y_r \dots h_r (1 - \delta y_r)}{h_{r+1}} \right)$	$S_r \left(\frac{Q_r \delta y_r \dots Q_r (1 - \delta y_r)}{Q_{r+1}} \right)$
S_r	+	+	+	+
$\Delta r, \%$	+	+	+	+
				$S_r \left(\frac{h_r \delta y_r \dots h_r (1 - \delta y_r)}{h_{r+1}} \right)$
				$S_r \left(\frac{Q_r \delta y_r \dots Q_r (1 - \delta y_r)}{Q_{r+1}} \right)$
				$S_r \left(\frac{h_r \delta y_r \dots h_r (1 - \delta y_r)}{h_{r+1}} \right)$
				$S_r \left(\frac{Q_r \delta y_r \dots Q_r (1 - \delta y_r)}{Q_{r+1}} \right)$

Работа 4.

Количественная интерпретация хроматограмм методом "метка-стандарт"

Цель работы: Определить концентрации отдельных компонентов анализируемой смеси с использованием метода расчёта хроматограмм с помощью "метки", добавляемой к анализируемой пробе и смеси, содержащей стандартные вещества сравнения. Оценить общую погрешность результата измерений.

Краткое теоретическое введение

В количественном хроматографическом анализе используются различные методы расчёта хроматограмм. Наибольшее распространение получили метод абсолютной градуировки, методы внутреннего стандарта и двойного внутреннего стандарта, методы добавки, метод внутренней нормализации, а также метод предусматривающий асинхронный ввод пробы и стандартов, который является промежуточным между методами абсолютной градуировки, внутреннего стандарта или добавки при постоянном объёме вводимой пробы. Метод с использованием системы "метка - стандарт" исключает необходимость ввода фиксированных проб. К пробе и стандартной смеси добавляют некоторое количество ещё одного вещества, называемого меткой. Метод может быть реализован как путём последовательного хроматографирования смесей "проба + метка" и "стандарт + метка", так и путём асинхронного ввода, если обеспечивается раздельная регистрация всех пиков на хроматограмме.

$$C_i = \frac{k_i \cdot y'_i}{k_{cm} \cdot y''_{cm}} C_{cm} \cdot \frac{y''_m \cdot r'_m}{y'_m \cdot r''_m} \quad (1) \text{ или}$$

$$C_i = k_i \cdot y'_i \cdot \frac{y''_m \cdot r'_m}{y'_m \cdot r''_m} \sqrt{\frac{C_{cm1} \cdot C_{cm2}}{k_{cm1} \cdot y''_{cm1} \cdot k_{cm2} \cdot y''_{cm2}}} \quad (2)$$

где y'_m и r'_m - хроматографический сигнал метки на первой хроматограмме и отношение количества метки к количеству пробы (без метки); y''_m и r''_m - хроматографический сигнал метки на второй хроматограмме и отношение количества метки к количеству смеси стандартов (без метки); y'_i - хроматографический сигнал i -го компонента пробы на первой хроматограмме; y''_{cm} , y''_{cm1} , y''_{cm2} - хроматографические сигналы стандартов на второй хроматограмме; C_{cm} , C_{cm1} , C_{cm2} - концентрации стандартных веществ

сравнения в смеси стандартов. Если в качестве стандарта используется одно вещество, то $C_c = 1,0$.

В качестве хроматографических сигналов для уравнения (1) чаще всего используют площадь пика Q , можно использовать произведение высоты пика h на расстояние удерживания l или высоту пика h , однако в последнем случае необходимо определить коэффициенты чувствительности детектора (K_h). Для уравнения (2) (Q, hl и h при известных K_h).

Наибольшая точность определения C_i по формулам (1) и (2) будет наблюдаться при асинхронном вводе сначала пробы, а затем через некоторое время смеси стандартов. Тогда полученные хроматограммы будут идентичны одному циклу анализа и погрешность от влияния параметров процесса хроматографирования будет минимальной.

Требования, предъявляемые к стандартам и метке для (1):

$$\Delta t_R = t_{R_i} - t_{R_m} \rightarrow 0; \Delta t_R = t_{R_i} - t_{R_m} \rightarrow 0; C_{c_m} \approx C_i$$

$$\text{для (2) } t_{R_{\tau 1}} > t_{R_i} > t_{R_{\tau 2}}; \Delta t_R = t_{R_i} - t_{R_m} \rightarrow 0; K_{c_{\tau 1}} > K_i > K_{c_{\tau 2}};$$

$C_{c_{\tau 1}} \approx C_{c_{\tau 2}} \approx C_i$; $\delta J'_i \approx 0,5$; $\delta J'_z \approx 0,5$, где $\delta J'_i = J'_i - Z$ и $\delta J'_z = J'_z - Z$, J'_i и J'_z - соответственно линейный индекс удерживания и индекс чувствительности при $P=1$ или их аналоги при $P>1$ (если в качестве стандартов используют n -парафины с числом углеродных атомов в молекулах x и $z+p$; $Ст1 - z$, $Ст2 - z+p$), тогда $K_i / \sqrt{K_{c_{\tau 1}} \cdot K_{c_{\tau 2}}} \approx 1$ и расчёт C_i можно проводить без учёта коэффициентов чувствительности детектора. Это справедливо для веществ и стандартов, близких по молекулярной структуре и физико-химическими свойствам.

Общая погрешность результата измерений методом "метка-стандарт" для уравнения (1), $\Delta i(1)$, % определяется:

$$\Delta i(1) = m \sqrt{\frac{\sum \Delta^2 np}{3} + \frac{\Delta^2 am}{3} + \frac{\Delta^2 K_i / K_{c_m}}{3} + \frac{\sum \Delta^2 xp}{3} + S_r^2 (y'_i / y'_m) + S_r^2 (y''_m / y''_i)} \cdot 100 \quad (3)$$

для уравнения (2)

$$\Delta i(1) = m \sqrt{\frac{\sum \Delta^2 np}{3} + \frac{\Delta^2 am}{3} + \frac{\Delta^2 K_i / \sqrt{K_1 \cdot K_2}}{3} + \frac{\sum \Delta^2 xp}{3} + S_r^2 (y'_i / y'_m) + S_r^2 \left(\frac{y''_m}{\sqrt{y''_1 \cdot y''_2}} \right)} \cdot 100 \quad (4)$$

где $m=2$ - коэффициент, зависящий от соотношения случайных и неисключённых систематических погрешностей при доверительной вероятности $P=0,95$;

$\sum \Delta^2_{np}$ - сумма квадратов относительных погрешностей приготовления смесей "проба + метка" и "стандарт + метка" (погрешность взвешивания и погрешность аттестации вещества метки);

Δ_{sm} - погрешность аттестации стандартов в смеси;

$\Delta K/K_{cm}$ и $\Delta K_i/\sqrt{K_1 K_2}$ - относительная погрешность определения поправочных коэффициентов чувствительности;

$\sum \Delta^2_{xp}$ - сумма квадратов относительных неисключённых погрешностей параметров хроматографирования (температура, давление и расход газоносителя, масштаб измерения и др.);

S_r - относительное среднее квадратическое отклонение среднего арифметического значения сигналов на первой и второй хроматограммах.

$$S_r \left(\frac{y_k}{y_m} \right) = \left(\frac{y_k}{y_m} \right) \sqrt{\frac{\sum_i \left[\left(\frac{y_k}{y_m} \right) - \left(\frac{y_k}{y_m} \right) \right]^2}{a(n-1)}} \quad (5)$$

где $\left(\frac{y_k}{y_m} \right) = \left(\frac{y'_i}{y'_m} \right); \left(\frac{y''_M}{y''_{c\ m}} \right); \left(\frac{y''_M}{\sqrt{y''_{c\ T\ 1} \cdot y''_{c\ T\ 2}}} \right)$ - хроматографические сигналы для расчёта S_i по формулам (1) и (2); n - число последовательных анализов пробы и стандартов;

$\left(\frac{y_k}{y_m} \right) = \frac{\sum_i y_k / y_m}{n}$ - среднее арифметическое значение сигналов из n определений.

Порядок выполнения работы

1. Анализ смеси веществ, содержащей анализируемый компонент i (например, n -углеводород или спирт) и другие компоненты, в которую по массе добавлено вещество "метка" и смеси стандартных веществ сравнения

(например, *n*-парафинов или *n*-спиртов) в которую также добавлено по массе такое же вещество "метка". Стандарты выбирают из условия $t_{R_{ст 2}} > t_{R_i} > t_{R_{ст 1}}$

1.1. Анализируемую смесь и смесь стандартов приготавливают в отдельных пузырьках. Для этого на аналитических весах взвешивают пустые пузырьки (m_{01} , m_{02}), затем добавляют в них анализируемую пробу, содержащую *i*-й компонент ($m_{01} + m_{пр}$) и смесь стандартов ($m_{02} + m_{см}$). После чего добавляют вещество "метку" ($m_{01} + m_{пр} + m'_m$) и ($m_{02} + m_{см} + m''_m$). Вычисляют

$$r'_{i м} = \frac{m'_m}{m_{пр}} \quad \text{и} \quad r''_{i м} = \frac{m''_m}{m_{см}}$$

1.2. Анализ приготовленных смесей "проба+метка" и "стандарт+метка" проводят на хроматографе типа "Цвет" с пламенно-ионизационным детектором. Колонка (длина 100см, диаметр 0,3см) заполнена соответствующим сорбентом по заданию преподавателя. Температура термостата 120°C. Температура испарителя 180-200°C. Объём вводимой пробы не более 0,5 мкл. Газ-носитель азот. Расход газа-носителя равен $V_{a(анал)}$.

2. Определение концентрации *i*-го компонента в анализируемой пробе.

2.1. Проводят не менее $n=8-10$ последовательных анализов смеси "проба+метка" и смеси "стандарт+метка". Измеряют *n* значений y'_i , $y'_{см}$, y''_m , $y''_{см1}$, $y''_{см2}$ из двух хроматограмм. Из второй хроматограммы определяют методом внутренней нормализации средние значения концентрации стандартов в смеси по формулам:

$$C_{ст 1} = \frac{K_{ст 1} \cdot Q_{ст 1}}{\sum_1 K_{ст} \cdot Q_{ст}}; \quad \bar{C}_{ст 1} = \frac{\sum C_{ст 1}}{n}$$

$$C_{ст 2} = \frac{K_{ст 2} \cdot Q_{ст 2}}{\sum_1 K_{ст} \cdot Q_{ст}}; \quad \bar{C}_{ст 2} = \frac{\sum C_{ст 2}}{n}$$

где *N* - число хроматографических пиков стандартов (без пика метки); $K_{см1}$, $K_{см2}$ - поправочные коэффициенты чувствительности детектора относительно бензола (уточнить у преподавателя).

2.2. По формулам (1) и (2) вычисляют по n значений C_i для каждого хроматографического сигнала ($y=Q$ или hI) и их средние арифметические значения из n анализов.

$$C_i = \frac{\sum C_i}{n}$$

K_i - поправочный коэффициент чувствительности детектора к i -му компоненту относительно бензола (уточнить у преподавателя).

3. Определение общей погрешности измерения по уравнению (1), $\Delta i(I)$, % рассчитывают по формуле (3). При $P=0,95$, $\Delta_{np} = 1,1 \sqrt{\sum \Delta_{\sigma \sigma}^2 + \sum \Delta_{\text{ам(м)}}^2}$. Цена деления аналитических весов 0,0005г.

$$\begin{aligned} \sum \Delta_{\sigma \sigma}^2 = & \left(\frac{0,0005}{m_{01}} \right)^2 + \left(\frac{0,0005}{m_{02}} \right)^2 + \left(\frac{0,0005}{m_{01} + m_{np}} \right)^2 + \left(\frac{0,0005}{m_{01} + m_{np} + m'_{\text{м}}} \right)^2 + \\ & + \left(\frac{0,0005}{m_{02} + m_{\text{с м}}} \right)^2 + \left(\frac{0,0005}{m_{02} + m_{\text{с м}} + m''_{\text{м}}} \right)^2 \\ \sum \Delta_{\text{ам(м)}}^2 = & 2 \left(\frac{\delta_{\text{с м(м)}}}{C(\text{М})} \right)^2 \end{aligned}$$

где $\delta_{\text{ам(м)}}$ - погрешность измерения концентрации основного компонента ("метки") $C(\text{М})$ при аттестации изготовителя. $\sum \Delta_{\text{ам(м)}}^2$ принимают 0,001;

$$\Delta_{\text{ам}}^2 = 2 \sqrt{\frac{\Delta_{K_i}^2}{3} + S_i \left(\frac{Q_i}{\sum Q_i} \right)}, \text{ где } \Delta_{K_i}^2 \text{ принимают } 0,001;$$

$$S_i = \frac{1}{\frac{Q_i}{\sum Q_i}} \sqrt{\frac{\sum \left[\left(\frac{Q_i}{\sum Q_i} \right) - \left(\frac{\bar{Q}_i}{\sum \bar{Q}_i} \right) \right]^2}{n(n-1)}}, \text{ где } K_i/K_{\text{см}} \text{ принимают } 0,03;$$

$$\Sigma \Delta_{xp}^2 \cong \left(\frac{\Delta T}{T}\right)^2 + \left(\frac{\Delta P}{P}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_a}{V_a}\right)^2,$$

где T , P , V_a - температура в термостате колонки, давление на входе колонки, расход газа-носителя на выходе колонки;

$\Delta T/T$ - погрешность поддержания температуры $\pm 1\%$;

$\Delta P/P$ - погрешность поддержания давления $\pm 3\%$;

$\Delta V_a/V_a$ - погрешность поддержания расхода $\pm 3\%$.

$S_r\left(\frac{y_i'}{y_n'}\right)$ и $S_r\left(\frac{y_n''}{y_{c,m}''}\right)$ определяют по формуле (5) ($y=h, Q, hl$).

3.2. Погрешность результатов измерения по уравнению (2), $\Delta i(2)$, % рассчитывают по формуле (4).

$\Delta\left(\frac{K_i}{\sqrt{K_{c,m1}K_{c,m2}}}\right)$ принимают равным 0,03.

$S_r\left(\frac{y_n''}{\sqrt{y_{c,m1}''y_{c,m2}''}}\right)$ определяют по формуле (5), ($y=h, Q, hl$).

Остальные составляющие погрешности формулы (4) рассчитывают аналогично формуле (3).

4. Измеренные величины сигналов и вычисленные значения занести в таблицы 1 и 2.

Таблица 1

№ анализа	h_i	Q_i	hl_i	h_{cm1}	Q_{cm1}	$hl_{(cm1)}$	h_{cm2}	Q_{cm2}	$hl_{(cm2)}$	C_i по (1)		C_i по (1)		C_i по (2)	
										относ. C_{cm1}		относ. C_{cm2}			
										Q	hl	Q	hl	Q	hl
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
...															
n	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C _i - среднее арифметическое из n замеров										+	+	+	+	+	+

Таблица 2

Наименование	ΣS_i , по формуле (5)								
	Для C_i по (1) ст 1			Для C_i по (1) ст 2			Для C_i по (1) ст 1 и ст 2		
	h	Q	hl	h	Q	hl	h	Q	hl
$S_i = \sqrt{\Sigma S_i^2}$									
$\Delta i(1)$, %									
$\Delta i(2)$, %									

Полученные значения C_i таблицы 1, значения S_i , $\Delta i(1)$ и $\Delta i(2)$ таблицы 2 сравнить между собой и объяснить причины их различия.

Вопросы для отчёта по работе

1. Основные методы расчёта хроматограмм. Достоинства и недостатки.
2. Оценка точности абсолютных методов градуировки, относительных и интерполяционных методов количественной интерпретации сигналов.
3. Основные метрологические характеристики хроматографического анализа. Влияние различных факторов на результаты измерений.
4. Коррелируемые и представительные сигналы.

Литература

1. Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Введение в газовую хроматографию. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Химия, 1990. С.127-145, 148-154, 197-215, 275-277.
2. Вигдергауз М.С. Метрология количественных хроматографических измерений. Куйбышев: Куйбышевский госуниверситет, 1989. 44с.

Работа 5.
**Количественный хроматографический анализ
неидентифицированных компонентов смеси**

Цель работы: Провести количественный анализ неидентифицированных компонентов смеси, используя информацию о величинах их удерживания на неполярной и полярной неподвижных фазах и сигналы детектора, определить молярные концентрации компонентов смеси с применением методов внутреннего стандарта и внутренней нормализации для расчета хроматограмм.

Краткое теоретическое введение

Хроматографические сигналы для количественной интерпретации хроматограмм условно разделяют на коррелируемые и представительные. Представительные (чаще всего площадь пика $Q = 1,065h\mu 0.5$) связаны только с откликом детектора $C_i = K_D Q_i$, где C_i и K_D - концентрация и коэффициент чувствительности детектора для компонента i .

Коррелируемые сигналы (высота хроматографического пика h или произведение высоты на расстояние удерживания hl) помимо отклика детектора зависит также от условий хроматографирования (колоночный фактор), при этом $C_i = K_D K_{ki} y_i$, где $y_i = h_i$ или $h_i l_i$ - хроматографический сигнал; K_{ki} - коэффициент, учитывающий влияние эффективности и селективности колонки, адсорбционные и другие факторы процесса хроматографирования на величину h_i или $h_i l_i$ для i -го компонента смеси.

Для количественного расчета хроматограмм применяют различные методы:

1. Метод абсолютной градуировки: $C_i = K_{yi} y_i / g_i$, где $y_i = Q_i \cdot h_i \cdot h_i l_i \cdot K_{yi}$ - абсолютные градуировочные коэффициенты чувствительности детектора для соответствующего хроматографического сигнала y_i к i -му компоненту; g - количество анализируемой пробы.

2. Метод внутреннего стандарта: $C_i = \frac{K_{yi} \cdot y_i}{K_{уст} \cdot y_{уст}} r_{ст}$, где $K_{yi} / K_{уст}$ - относительный поправочный коэффициент чувствительности детектора для соответствующих сигналов (чаще всего Q) $y = Q; h; hl; r_{ст}$ - количество стандарта, отнесенное к количеству пробы без стандарта.

3. Метод внутренней нормализации:
$$C_i = \frac{K_{y_i} \cdot y_i}{\sum_1^N K_{y_i} \cdot y_i}$$

где N - число регистрируемых на хроматограмме компонентов пробы;
 $y = Q, h, hl$ - хроматографический сигнал (чаще всего Q)

В методах (п.п. 2 и 3) применение коррелируемых сигналов без учета коэффициента K_x вносит значительную погрешность.

4. Метод двойного внутреннего стандарта:

$$C_i = y_i \sqrt{\frac{r_{cm1} \cdot r_{cm2}}{y_{cm1} \cdot y_{cm2}}} \cdot K_{y_i} \sqrt{\frac{1}{K_{y_{cm1}} \cdot K_{y_{cm2}}}}$$

где $y = Q; h; hl$.

Концентрация i -го компонента определяется интерполяцией двух значений C_i относительно стандартов 1 и 2. Если свойства стандартов близки к

свойствам компонентов смеси, то $K_{y_i} \sqrt{\frac{1}{K_{y_{cm1}} \cdot K_{y_{cm2}}}} \approx 1$

тогда расчет может быть проведен с использованием как представительных, так и коррелируемых хроматографических сигналов.

В зависимости от выбора поправочного коэффициента чувствительности детектора концентрацию можно определять в массовых, мольных или объемных долях (процентах). Соотношения между массовым K_B , мольным K_M и объемным $K_{об}$ коэффициентами имеют вид:

$K_B/K_M = M/M_{cm}$; $K_B/K_{об} = \rho/\rho_{cm}$; $K_M/K_{об} = \rho_i M_{cm}/\rho_{cm} M_i$, где M_i , ρ_i - молекулярная масса и плотность i -го компонента, M_{cm} , ρ_{cm} - молекулярная масса и плотность стандартного вещества, относительно которого определяются коэффициенты чувствительности (чаще всего бензол или бутан).

Очевидно, что если пары веществ по своим свойствам приближаются к свойствам идеального газа, то $K_{об} = K_M$ так как $\rho/\rho_{cm} = M/M_{cm}$.

Концентрации неидентифицированных компонентов смеси можно определить для близких по физико-химическим свойствам веществ без использования поправочных коэффициентов чувствительности детектора: по п.3

$$C_i = y_i / \sum_1^N y_i$$

Предполагается одинаковая чувствительность детектора к анализируемым веществам (так называемый равночувствительный детектор).

Подобным свойством обладает пламенно-ионизационный детектор, например, для углеводородов с числом углеродных атомов в молекулах от 11 и выше, для которых $K_B \approx 1$. А также по п.4, когда

$$K_{y_i} \sqrt{\frac{1}{K_{y_{c,n}} \cdot K_{y_{c,m}}}} \approx 1$$

для близких по свойствам веществ.

5. Метод контролируемой внутренней нормализации для одного неидентифицированного компонента

$$C_s = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N K_i Q_i}{K_{c,m} \cdot Q_{c,m}} r_c$$

6. Методика количественного анализа неидентифицированных компонентов с использованием величин удерживания сорбатов на неполярной и полярной неподвижных фазах и корреляционной зависимости относительной мольной чувствительности (ОМЧ) детектора $1/K_M$ от индекса чувствительности, предложенного на кафедре по аналогии с линейным индексом удерживания. Индекс чувствительности определяют по формуле:

$$J_{z_i} = \frac{\sqrt{K_{M_i}} - \sqrt{K_{M_{(z)}}}}{\sqrt{K_{M_{(z+1)}}} - \sqrt{K_{M_{(z)}}}} + Z,$$

где $1/K_{M_{(z+1)}} > 1/K_{M_i} > 1/K_{M_{(z)}}$ - относительные мольные чувствительности стандартных веществ сравнения (n-алканов) с числом углеродных атомов в молекулах z и $z+1$ и i -го компонента.

$$K_{M_i} = a + b J_{z_i} \quad (1),$$

где a и b - коэффициенты корреляционного уравнения гомологического ряда n-парафинов. Уравнение (1) справедливо для любых сорбатов, принадлежащих к различным классам соединений.

По результатам анализа исследуемой смеси на колонках с неполярной и полярной фазами, определяют принадлежность сорбатов к "углеводородам" и "неуглеводородам". По градуировке для n-парафинов, согласно (1), определяют $1/K_{M_1}; 1/K_{M_2}; \dots; 1/K_{M_n}$ при допущении, что $J_{z_i} \approx J_i$

для сорбатов, принадлежащих к углеводородам (предпочтительная пара соседних гомологов стандартов z и $(z+1)$). Для сорбатов "углеводородов" выбирают пару соседних гомологов $(z-1$ и $z)$; $(z-2$ и $z-1)$ и т.д. до выполнения равенства

$$\sum_1^N C_i \approx 1, \text{ где } C_1 = \frac{1/K_{c1} \cdot y_1}{1/K_1 \cdot y_{cm}} \cdot r_{cm}; C_2 = \frac{1/K_{c2} \cdot y_2}{1/K_2 \cdot y_{cm}} \cdot r_{cm}; \dots$$

$$C_N = \frac{1/K_{cN} \cdot y_N}{1/K_N \cdot y_{cm}} \cdot r_{cm}$$

Порядок выполнения работы

1. Для анализа используют смесь, содержащую неидентифицированные компоненты, принадлежащие к углеводородным и углеводородным классам соединений.

2. В исследуемую смесь добавляют внутренний стандарт (н-парафин), элюирующий между компонентами смеси (примерно в середине хроматограммы) отдельным пиком. Для этого отбирают микропипеткой на 50 мкл в пустой пузырёк 250 мкл пробы и добавляют в него 50 мкл стандартного вещества.

3. Анализ проводят на хроматографе "Цвет-100" с пламенно-ионизационным детектором. Температура колонки 120°C, температура испарителя 180-200°C. Расход газа-носителя (азота) соответствует $V_{a(онс)}$. Объём вводимой пробы не более 0,5 мкл.

4. Пробу без стандарта хроматографируют не менее трех раз. Сначала на колонке с неполярной неподвижной фазой, затем на колонке с полярной неподвижной фазой. Из полученных хроматограмм для каждого компонента определяют время удерживания t_{R_i} и соответствующую площадь пика Q_i . На этих же колонках дополнительно хроматографируют смесь последовательных гомологов н-парафинов и определяют их времена удерживания t_{R_i} ("сетка" стандартов).

5. По результатам анализа пробы и "сетки" стандартов (п.4) определяют линейные индексы удерживания компонентов пробы

$$J_i = \frac{t_{R_i} - t_{R_z}}{t_{R_{(z+1)}} - t_{R_z}}$$

отдельно для каждой колонки. Принадлежность пиков на хроматограммах, полученных на каждой колонке, соответствующему компоненту пробы определяется сравнением расчётных концентраций компонентов пробы.

$$C_i^{pac} = Q_i / \sum_1^N Q_i \text{ для колонки с неполярной фазой } \approx C_i^{pac} = Q_i / \sum_1^N Q_i \text{ для}$$

колонки с полярной фазой.

По величине $\Delta J_i = J_i^{nca} - J_i^{nca}$ определяют принадлежность компонентов пробы к углеводородам ($\Delta J \approx 0$) или неуглеводородам ($\Delta J_i \gg 0$).

6. Пробу со стандартом хроматографируют не менее трех раз на одной из колонок, которая обеспечивает лучшее разделение компонентов пробы и стандартного вещества. Из полученных хроматограмм для каждого компонента и стандарта определяют площади пиков Q_i и (Q_i / Q_{cm}) - среднее арифметическое из трех анализов.

7. Определение концентраций компонентов пробы.

7.1. Для углеводородных компонентов пробы.

Допуская, что $J_{z_i} = J_i$ или $(J_{z_i} - z) = (J_i^{nca} - z)$, где J_{z_i} - индекс чувствительности i -го компонента; J_i^{nca} - линейный индекс удерживания на колонке с неполярной неподвижной фазой, определяют относительные молярные чувствительности $1/K_M^{pac}$:

$$1/K_M^{pac} = (J_i - z)(1/K_{(z+i)} - 1/K_z) + 1/K_z$$

где $1/K_{(z+i)}$ и $1/K_z$ - относительные молярные чувствительности n -парафинов (уточнить у преподавателя), при этом $t_{R_{(z+i)}} > t_{R_z} > t_{R_i}$.

7.1.1. Методом внутреннего стандарта определяют молярные концентрации углеводородных компонентов пробы.

$$C_{M_i} = \frac{K_{M_i}^{pac}}{K_{M_{cm}}^{pac}} \left(\frac{\bar{Q}_i}{Q_{cm}} \right) r_M$$

где r_M - количество стандарта, отнесенное к количеству пробы без стандарта. Учитывая, что при условиях хроматографирования пары веществ по своим свойствам приближаются к свойствам идеального газа, $K_{ob} = K_M$ и $r_M = r_{ob} = 50/250$ (п.2).

7.2. Для неуглеводородных компонентов пробы.

7.2.1. Рассчитывают значения $1/K_{M_i}^{рас}$, используя прием последовательного поиска так называемой "предпочтительной" пары соседних гомологов стандартов, когда в уравнение для расчета $1/K_{M_i}^{рас}$ (п.7.1.) подставляют $1/K_2$ и $1/K_{(z-1)}$ (вместо $1/K_{(z+1)}$ и $1/K_2$), затем $1/K_{(z-1)}$ и $1/K_{(z-2)}$ и т.д. Рассчитывают молярные концентрации для углеводородных компонентов согласно формуле п.7.1.1. Критерием правильности определения $1/K_i^{рас}$ (при различных сочетаниях в процессе последовательного поиска) является равенство единице суммы концентраций пробы: $\sum_1^N C_{M_i} \approx 1$ с погрешностью не более 5,0 %.

8. Результаты измерения и расчетов занести в таблицу.

Анализируемые компоненты	$J_i^{ноа}$	$J_i^{кноа}$	ΔJ_i	K_{M_i}	C_{M_i}
1	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+
...					
N	+	+	+	+	+

Вопросы для отчета по работе

1. Задачи количественного анализа. Хроматографический пик. Хроматограмма на слое. Хроматограмма в элюате. Идеальная регистрируемая хроматограмма. Хроматографические сигналы. Коррелируемые и представительные. Расчетная концентрация, область применения.

2. Основные метрологические характеристики хроматографического анализа. Повторяемость, сходимость, воспроизводимость. Оценка погрешности измерения. Влияние различных факторов на точность результатов анализа. Выбор и расчет определяющего параметра пика. Площадь пика, высота пика, произведение высоты пика на расстояние удерживания. Преимущества, недостатки, условия применения, причины возникновения погрешности. Абсолютные, относительные и интерполяционные хроматографические сигналы в количественном анализе.

3. Методы расчета хроматограмм. Абсолютная градуировка. Метод внутреннего стандарта. Метод двойного внутреннего стандарта. Метод добавки. Метод двойной добавки. Метод с асинхронным вводом пробы и стандартов. Метод с использованием системы метка-стандарт. Метод внутренней нормализации. Метод контролируемой внутренней нормализации. Количественный анализ смеси неидентифицированных веществ с использованием величин удерживания и индекса чувствительности.

4. Определение поправочных коэффициентов чувствительности детектора. Абсолютные поправочные коэффициенты. Относительные поправочные коэффициенты. Поправочные коэффициенты при работе с катарометром и пламенно-ионизационным детектором. Эффективное усредненное число. Соотношения между массовым, мольным и объемным коэффициентами чувствительности. Относительная мольная чувствительность.

Литература

1. Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Введение в газовую хроматографию. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Химия, 1990. С. 197-220.
2. Вигдергауз М.С. Физико-химические основы и современные аспекты газовой хроматографии. Самара: Самарский университет, 1993. С. 68-88.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
Работа 1. Влияние скорости газа-носителя на эффективность работы хроматографической колонки	4
Работа 2. Количественный хроматографический анализ	10
2.1. Количественный хроматографический анализ методом абсолютной градуировки	17
2.2. Количественный хроматографический анализ методом внутренней нормализации	20
2.3. Количественный хроматографический анализ методом внутреннего стандарта	26
Работа 3. Количественная интерпретация хроматограм методом двойного внутреннего стандарта	30
Работа 4. Количественная интерпретация хроматограм методом "метка-стандарт"	37
Работа 5. Количественный хроматографический анализ неидентифицированных компонентов смеси	44