

Динамическая модификация неполярных фаз анализитами как причина аномальной температурной зависимости газохроматографических индексов удерживания



Павловский Александр Александрович

Научный руководитель: Зенкевич Игорь Георгиевич,
д.х.н., профессор

*Санкт-Петербургский государственный университет,
Институт химии*

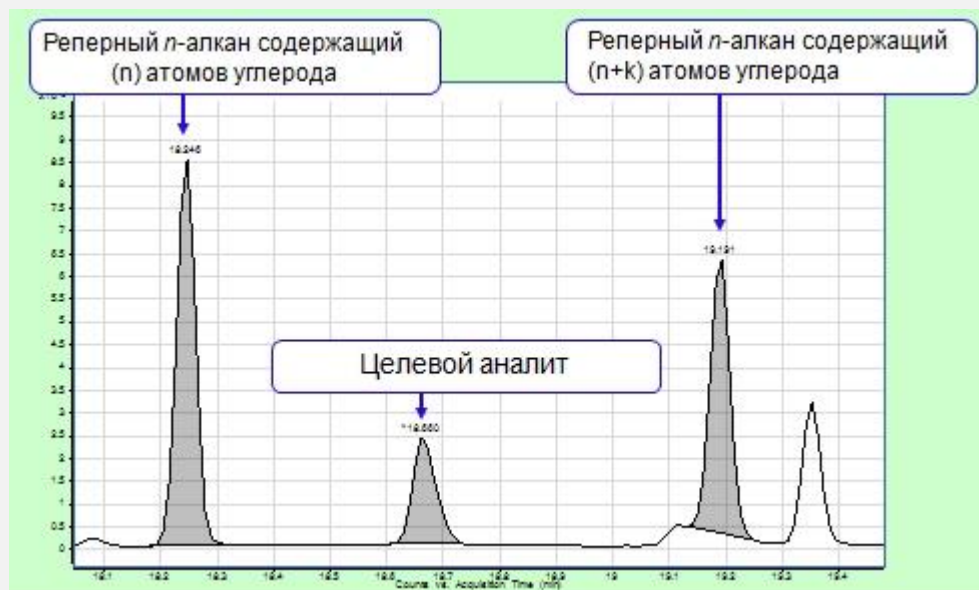


2016

Цели работы

- выявление основных факторов, снижающих воспроизводимость газохроматографических индексов удерживания: аномалии температурной зависимости индексов удерживания, эффекты перегрузки хроматографических колонок, в том числе особенности влияния относительных количеств целевых и реперных компонентов;
- детальная характеристика эффекта динамической модификации неподвижной фазы хроматографической колонки анализатами, поскольку установлено, что именно этот эффект определяет аномалии температурной зависимости индексов удерживания;

Индексы удерживания



Система RI для изотермических условий разделения (Kovats, 1958)

$$RI = RI_n + (RI_{n+k} - RI_n) [(\lg(t_{R,x}) - \lg(t_{R,n})) / (\lg(t_{R,n+k}) - \lg(t_{R,n}))]$$

Kovats E. Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1: Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone // Helv. Chim. Acta. 1958. Vol. 41. №. 7. P. 1915-1932.

Условием идентификации на основании RI является следующее неравенство:

$$| RI_{\text{эксп}} - RI_{\text{справ}} | \leq ks(RI_{\text{справ}}), \text{ где}$$

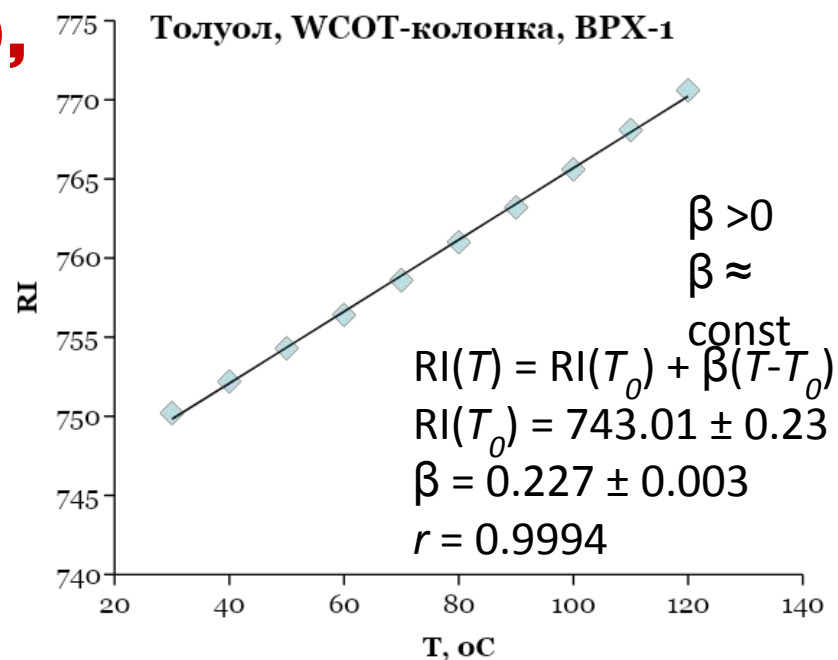
- $s(RI_{\text{справ}})$ – стандартные отклонения статистически обработанных межлабораторных значений RI идентифицируемого аналита на стандартных неподвижных фазах;
- k – переменный коэффициент $2 \leq k \leq 4$, позволяющий регулировать однозначность ответов и ожидаемое число ошибок идентификации I рода.

Значения $s(RI_{\text{справ}})$ определяют надежность и однозначность идентификации

Индексы удерживания являются наиболее воспроизводимыми межлабораторными инвариантами

Для них типична температурная зависимость

$$RI(T) = RI(T_0) + \beta(T - T_0),$$
$$\beta = dRI/dT$$

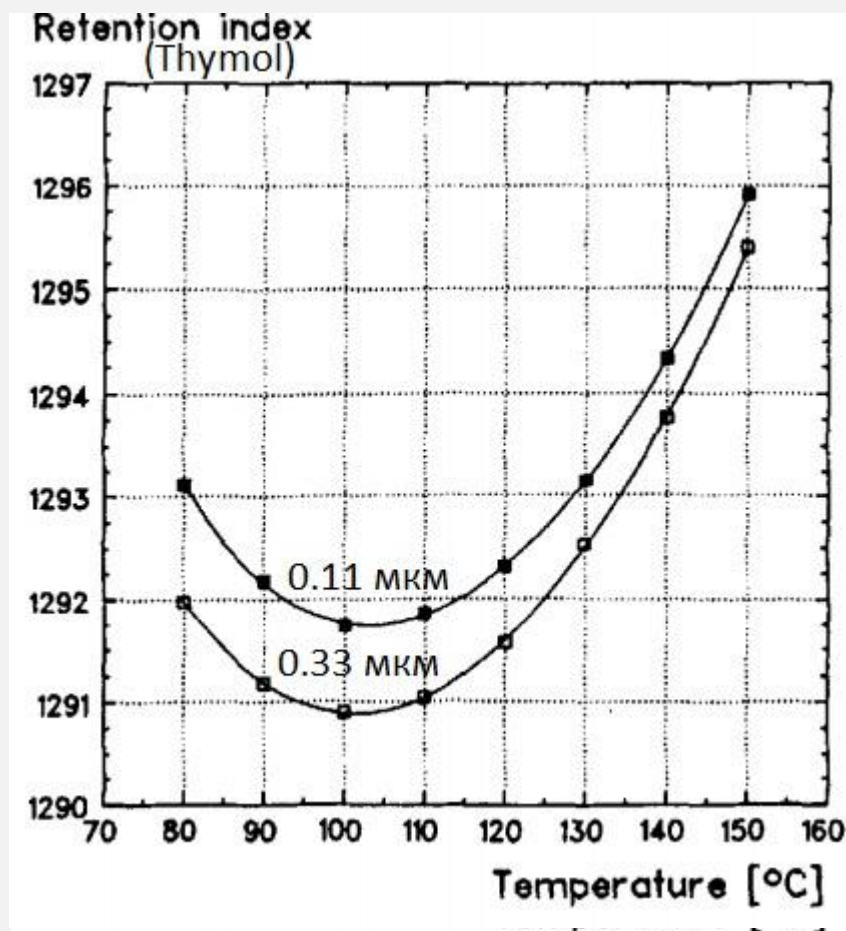


Индексы удерживания

Некоторые оценки $\beta = dRI/dT$

Структурный тип	$\beta = dRI/dT$, ед. инд. / град
Ациклические соединения	-0.1 – 0.2
Моноциклические	0.2 - 0.5
Бициклические	0.5 – 1.0
Трициклические	1.0 – 2.0

Аномальная температурная зависимость $RI(T)$ тимолола на неполярной фазе НР-5

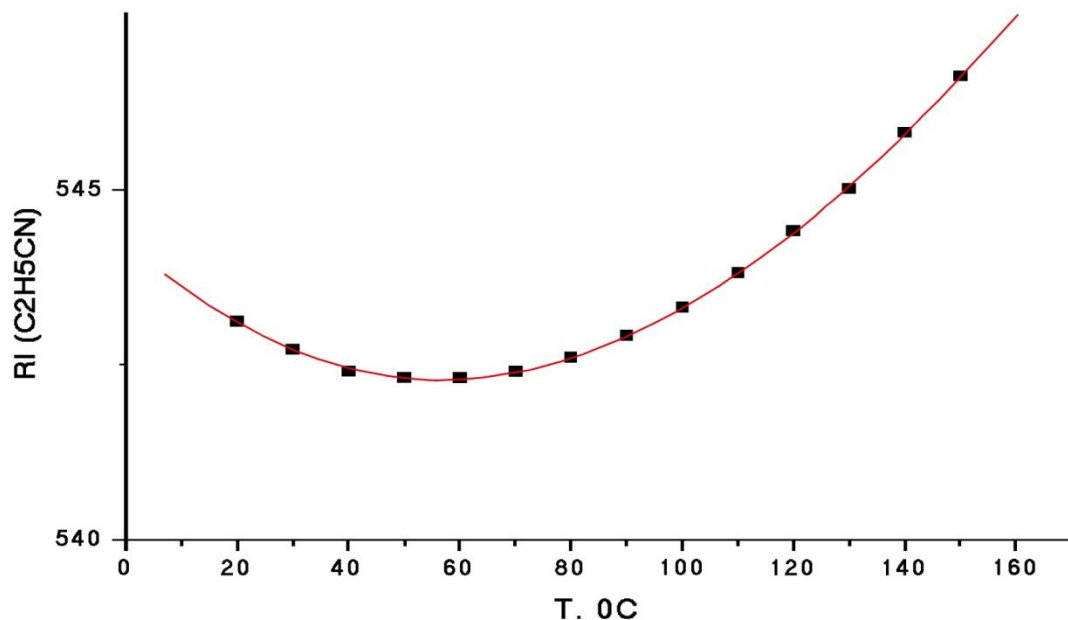


Engewald W., Hennig P. Influence of adsorption effects on retention indices of selected C10-Hydroxy compounds at various temperatures. // J. Chromatogr. 1994. Vol. 38. № 1-2. P. 93-97.

Аномальная температурная зависимость индексов удерживания

2002 – 2003, М. Gordenyi, е.а.

Зависимость RI полярных соединений (CH_3NO_2 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{CN}$, etc.) на неполярной неподвижной фазе (НР-1) от температуры нелинейна (имеет минимум):



$$RI(T) = A + B/T + C \ln T$$

где A , B , C – эмпирические константы;

T – температура колонки в °C.

Gordenyi M., Heberger K. Minimum in the temperature dependence of the Kovats retention Indices of nitroalkanes and alkanenitriles on an apolar phase // J. Chromatogr. 2003. V. 985. P. 11-19.

Характеристики полярности

Классические характеристики полярности в органической химии – диэлектрическая проницаемость (ϵ) и дипольный момент (μ).

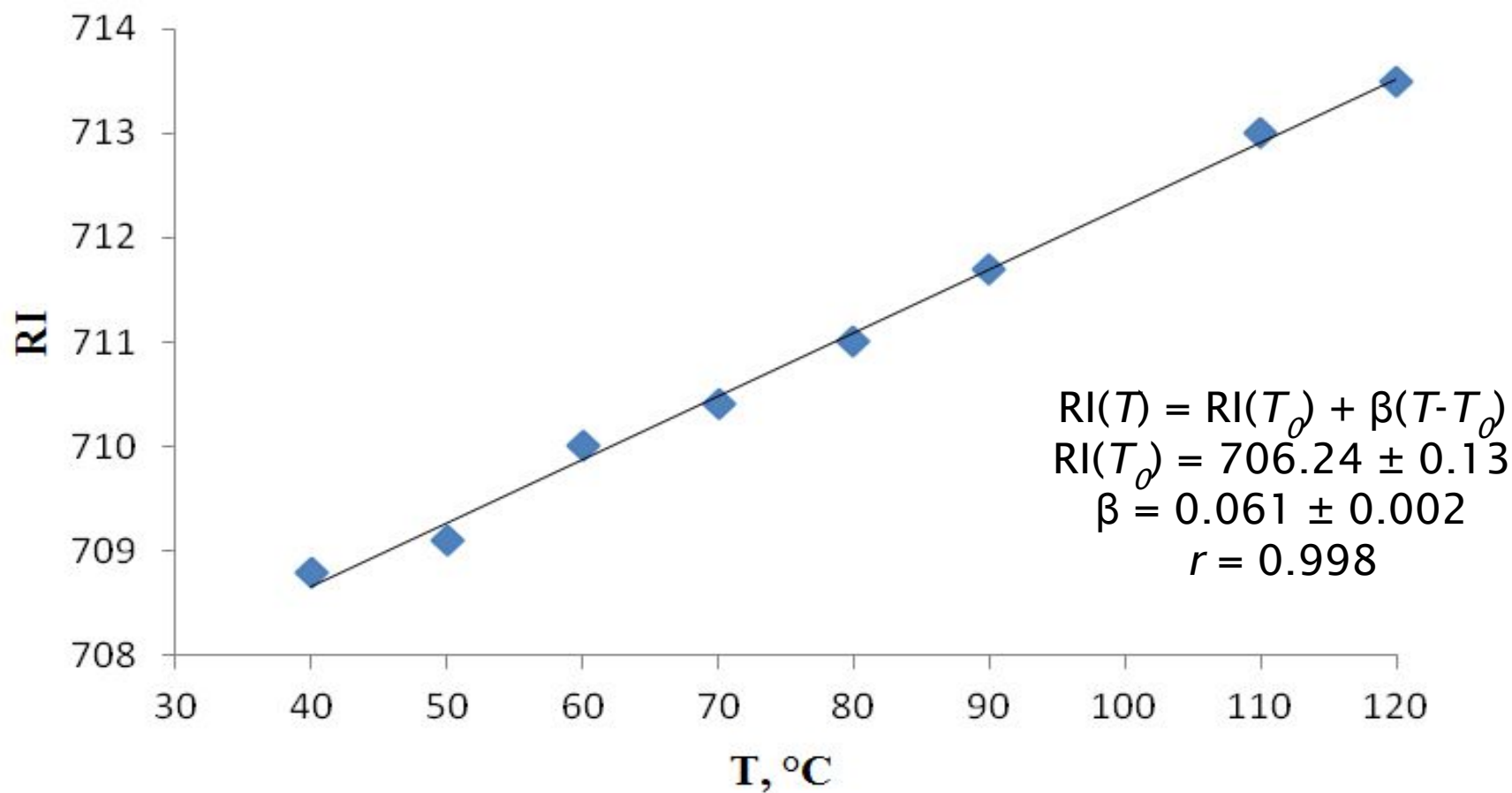
Соединение	Диэлектрическая проницаемость, ϵ	Дипольный момент, μ , D
Диметилформаид	$37,1 \pm 0,8$	$3,8 \pm 0,1$
Диметилсульфоксид	$47,1 \pm 1,2$	$4,0 \pm 0,1$
Диметилацетамид	37,8	3,80
Диэтиленгликоль	31,7	2,69
Толуол	2,38	0,36
CH ₃ COOH	6,15	1,74
1-пентанол	13,9	$1,58 \pm 0,03$
1-бутанол	17,8	1,66
1-нитропропан	23,2	$3,66 \pm 0,07$
Пропионитрил	27,7	4,01
Нитрометан	$37,2 \pm 1,4$	$3,4 \pm 0,2$
Ацетонитрил	$37,3 \pm 1,0$	$3,7 \pm 0,2$

Проверка зависимости $RI(T)$

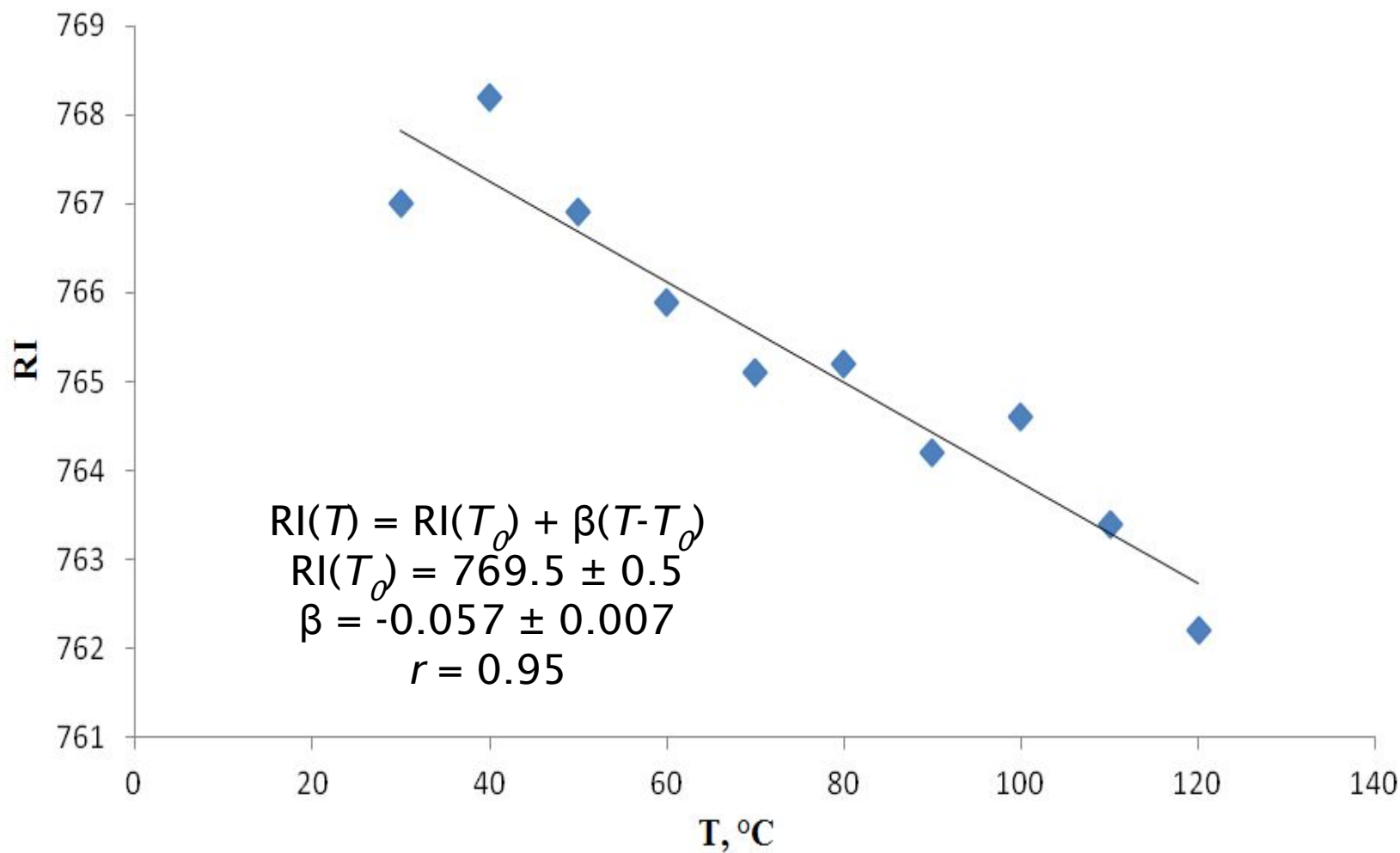
Условия газохроматографического анализа

- **Газовый хроматограф:** универсального назначения Хроматэк-Кристалл 5000.2;
- **Детектор:** ПИД ($T = 180\text{ }^{\circ}\text{C}$);
- **Хроматографическая колонка:** капиллярная со стандартной неполярной неподвижной фазой ВРХ- 1 ($l = 10\text{ m}$, i.d. = 0, 53 mm, толщина пленки = 2,65 μm , max $T = 370\text{ }^{\circ}\text{C}$);
- **Газ-носитель** - N_2 , поток - 4, 9 мл/мин, $v = 48,5$ см/сек, сброс: 32,9 мл/мин (1 : 6.7);
- **Испаритель:** $T = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- **Кратность определений** индексов при каждой температуре: 2-4.

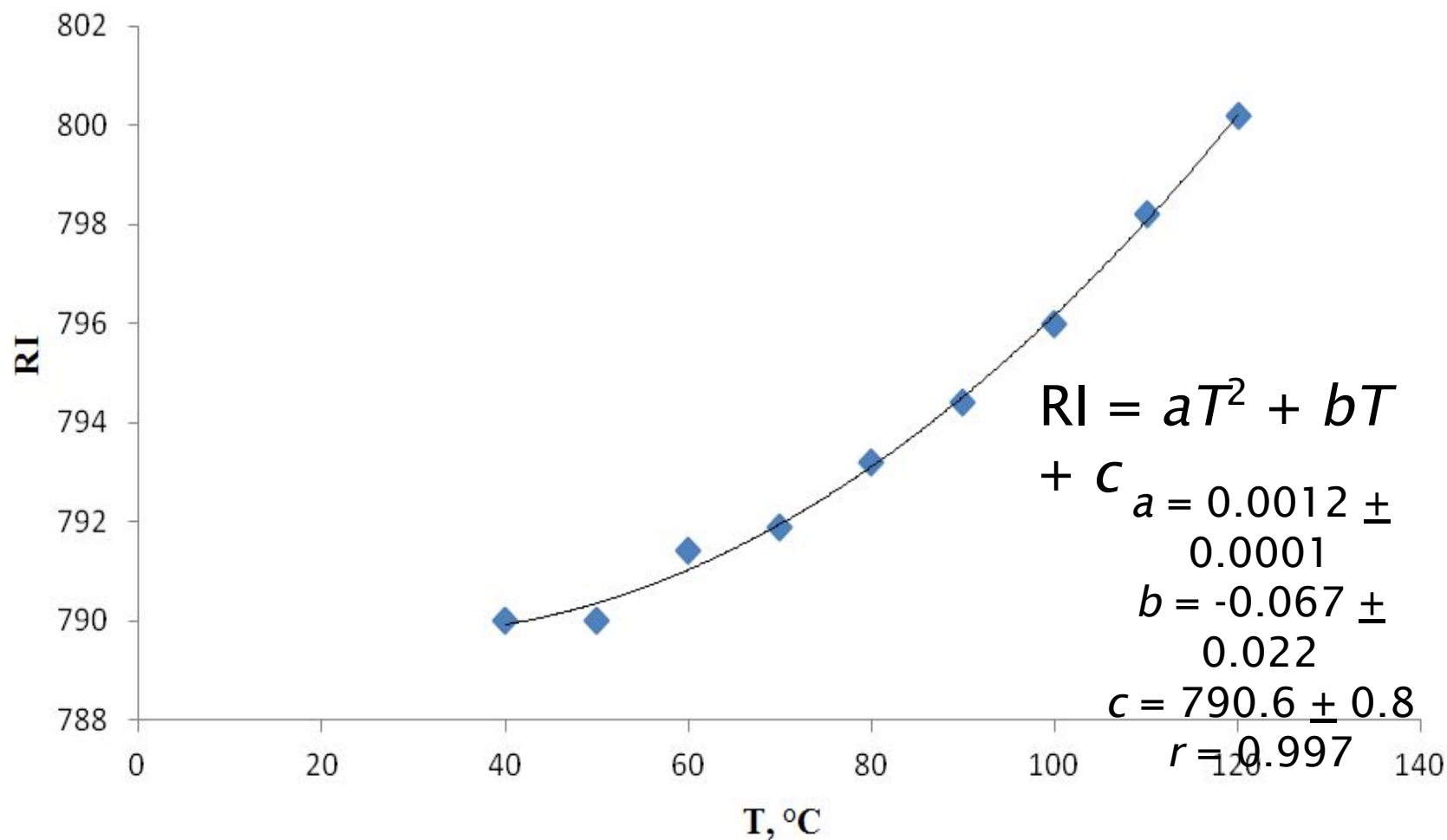
1-нитропропан ($m = 4.5$ мкг)



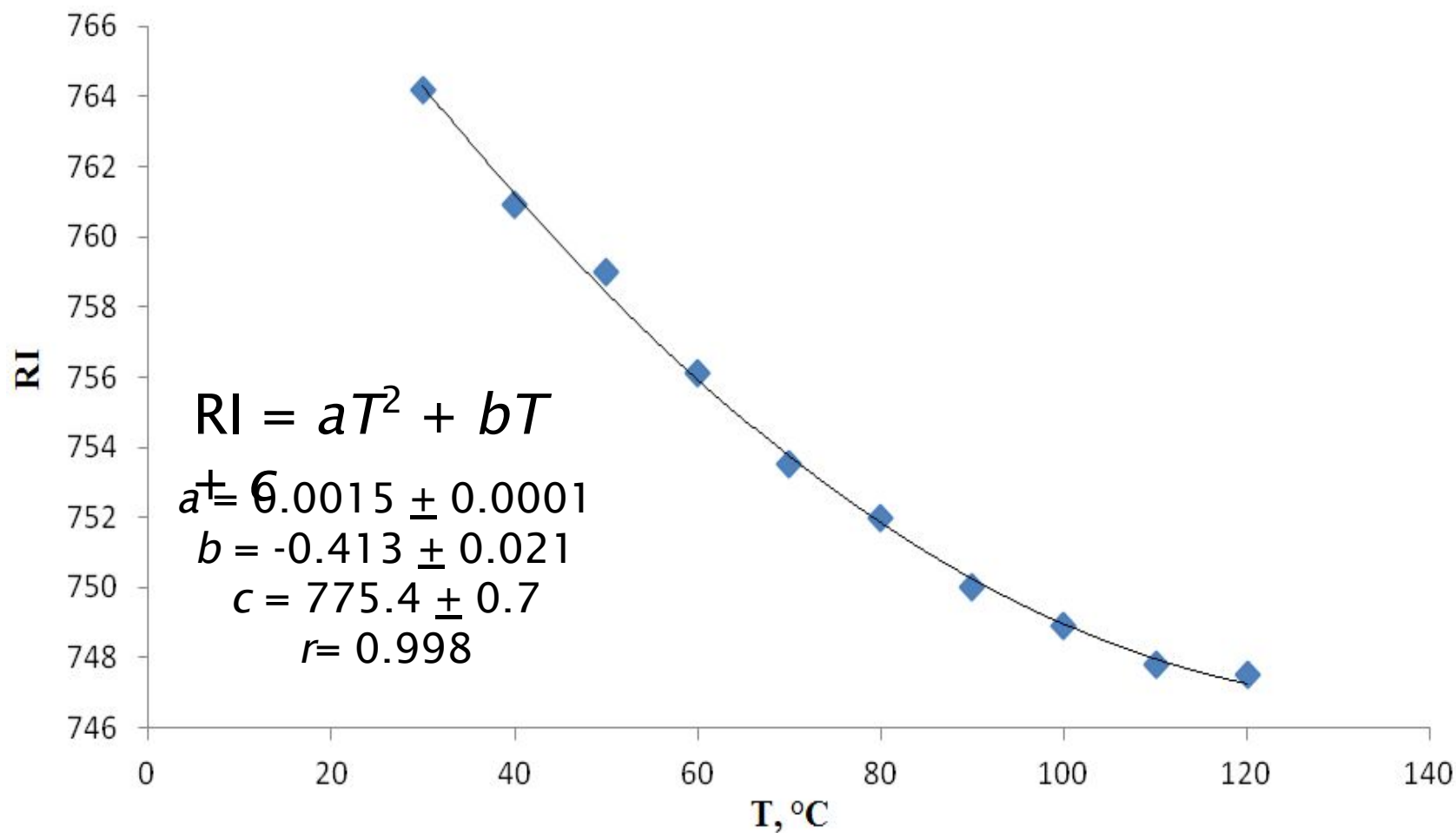
Диметилформамид ($m=16.9$ мкг)



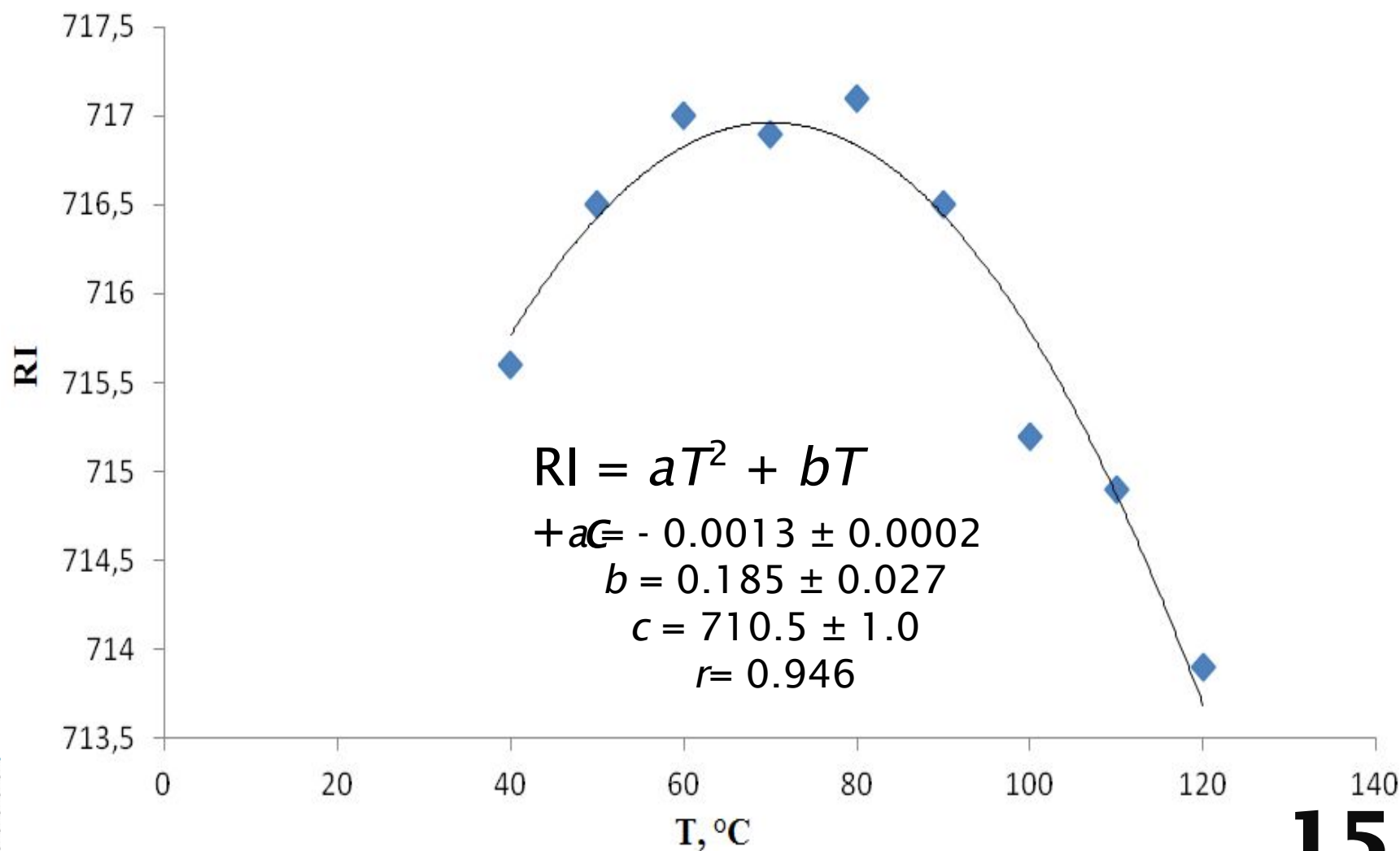
Диметилсульфоксид ($m = 4.9$ мкг)



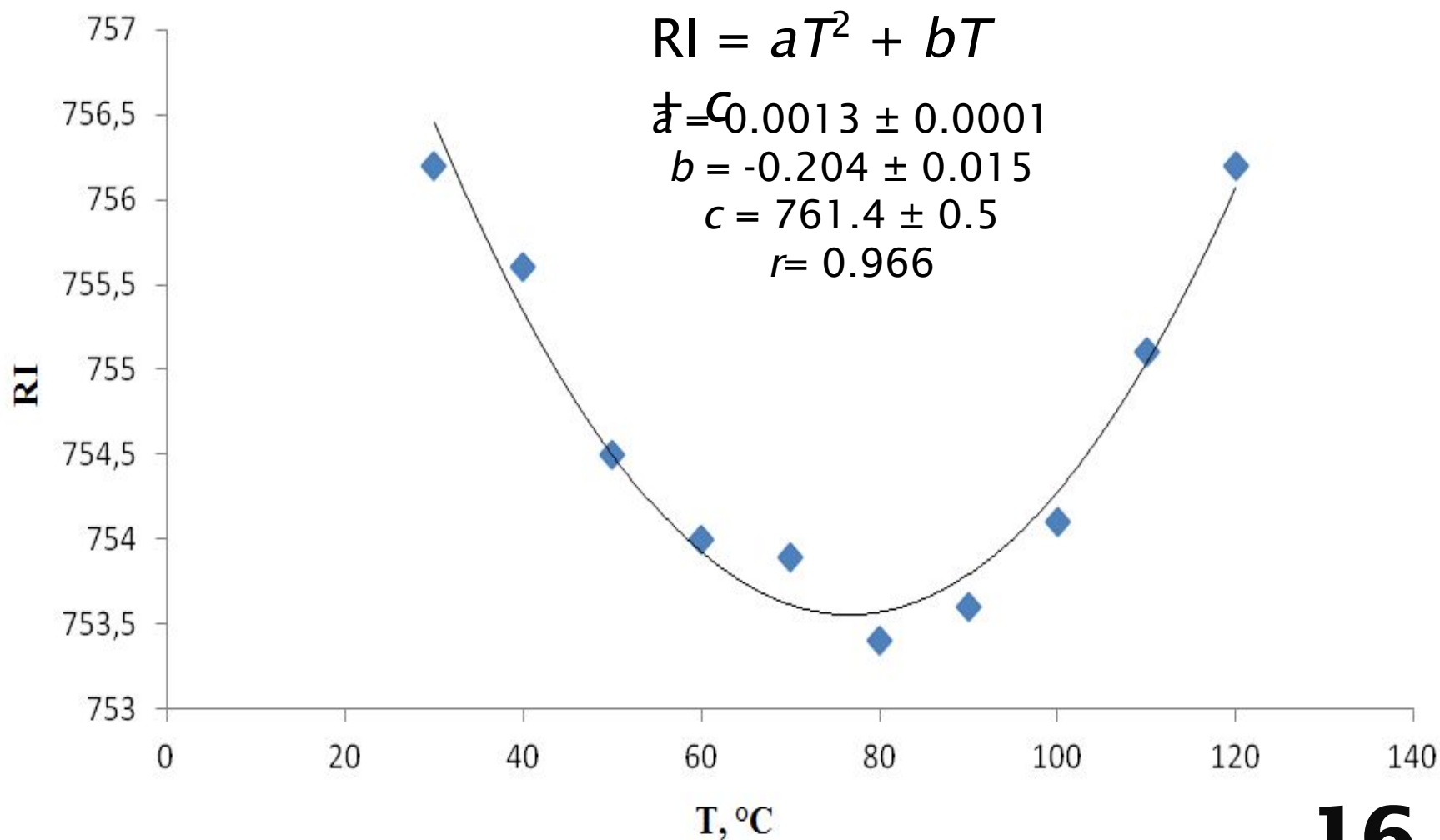
1-Пентанол ($m = 6.1$ мкг)



1-Нитропропан ($m = 15$ мкг)

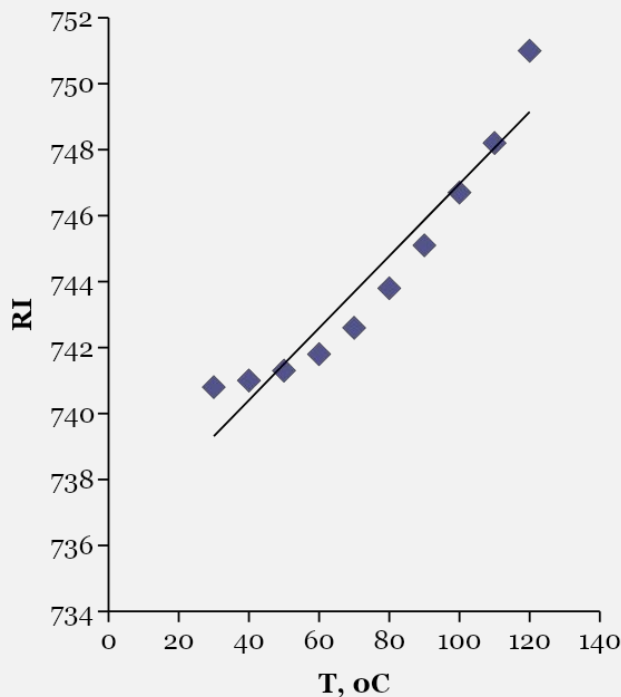


Диметилформамид ($m = 4.3$ МКГ)



Влияние дозы на вид температурной зависимости

ДМФА ($m = 0.6$
мкг)



$$RI = aT^2 + bT + c$$

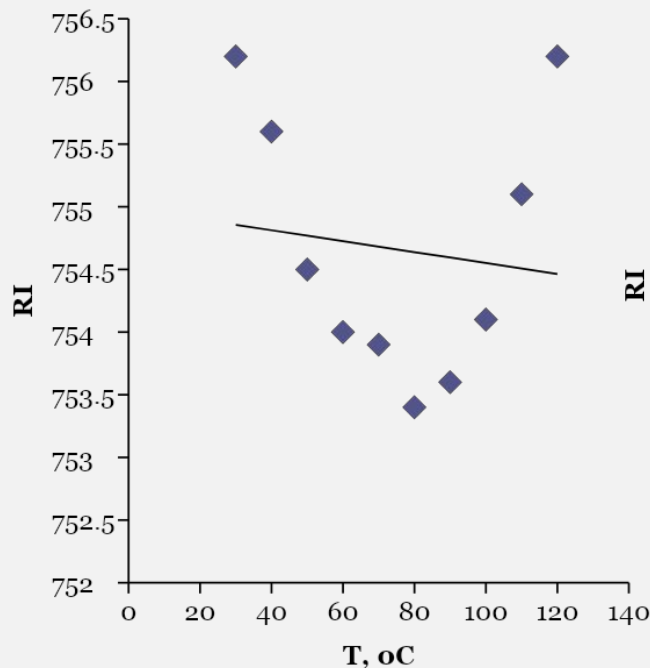
$$a = 0.0013 \pm 0.0001$$

$$b = -0.089 \pm 0.012$$

$$c = 742.4 \pm 0.4$$

$$r = 0.998$$

ДМФА ($m = 4.3$
мкг)



$$RI = aT^2 + bT + c$$

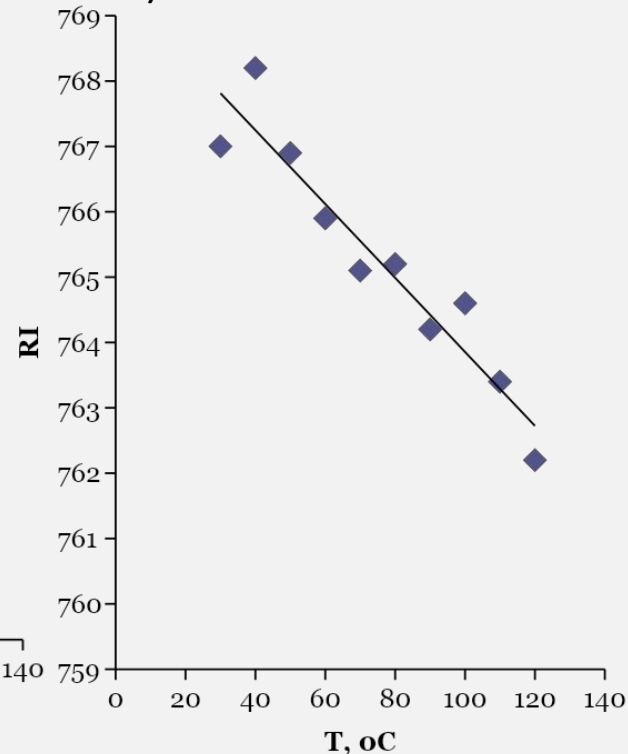
$$a = 0.0013 \pm 0.0001$$

$$b = -0.204 \pm 0.015$$

$$c = 761.4 \pm 0.5$$

$$r = 0.97$$

ДМФА ($m = 16.9$
мкг)



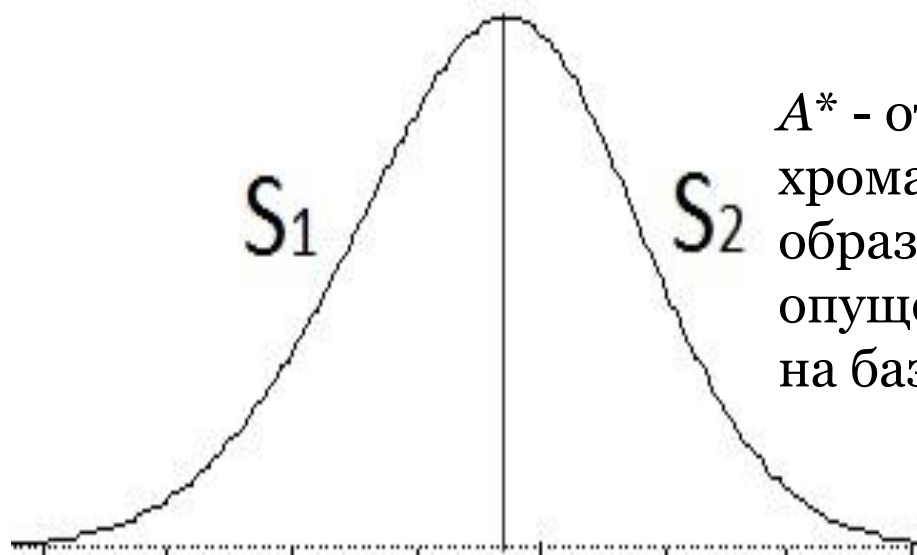
$$RI(T) = RI(T_0) + \beta(T - T_0)$$

$$RI(T_0) = 769.5 \pm 0.5$$

$$\beta = -0.057 \pm 0.007$$

$$r = 0.95$$

Оценка значений факторов асимметрии



A^* - отношение площадей двух частей хроматографических пиков, образуемых перпендикулярами, опущенными из их максимумов на базовую линию.

$$A^* = S_2/S_1$$

Зенкевич И.Г., Макаров А.А. Новое определение и интерпретация асимметрии

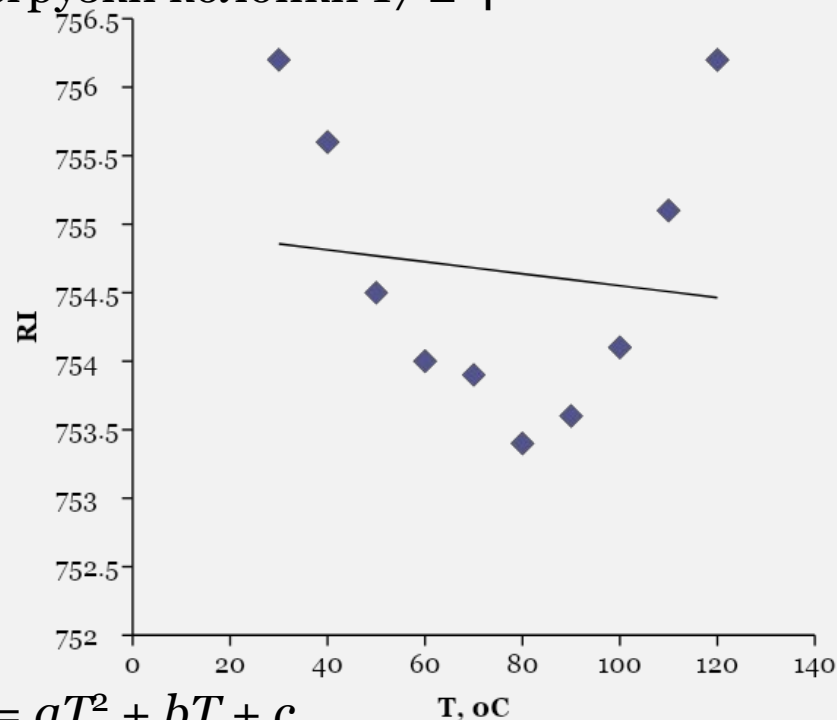
хроматографических пиков при анализе органических соединений //

Тез. Международн. конф. «Органическая химия от Бутлерова и Бельштейна

Изменение A^* при понижении температуры для ДМФА ($m = 4.3$ мкг)

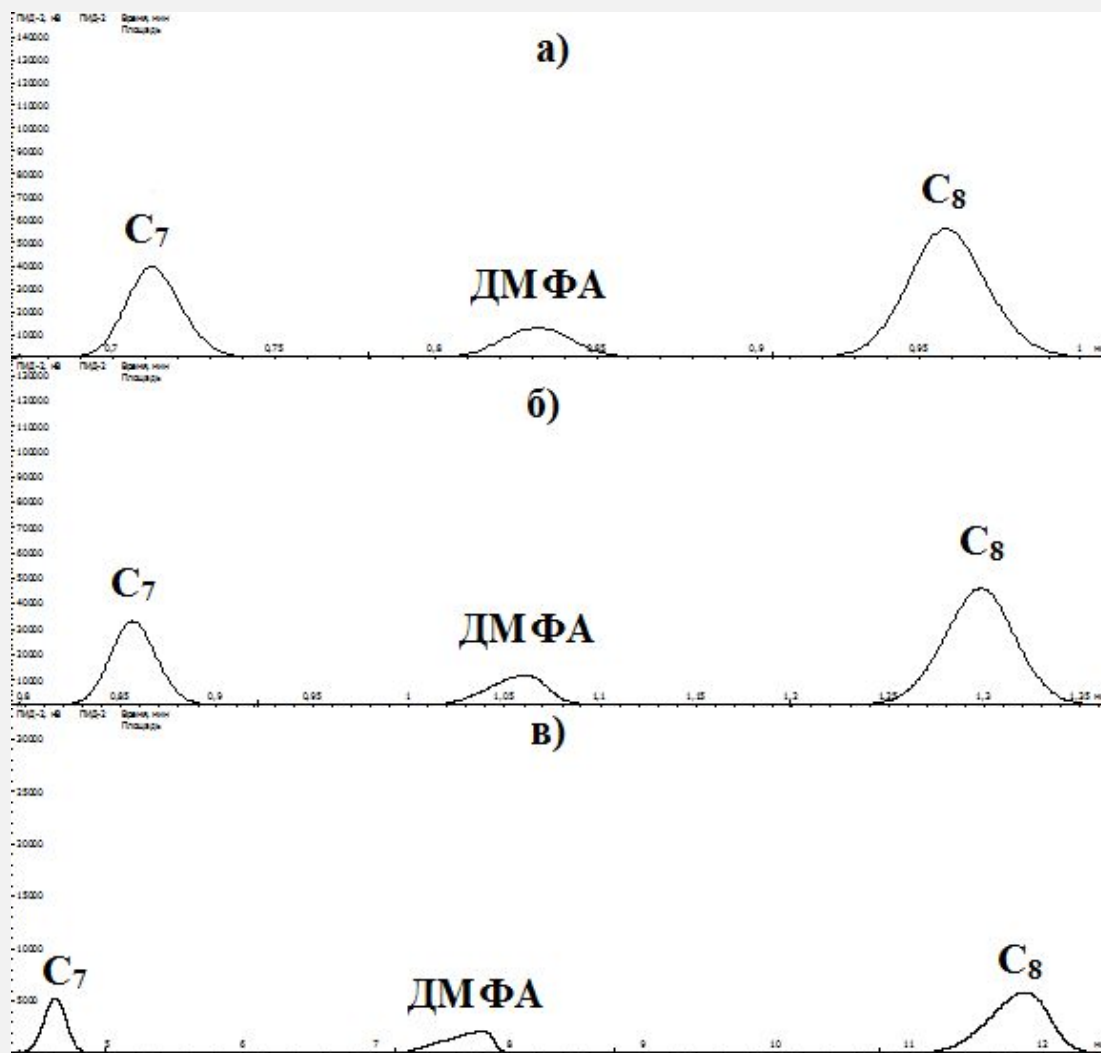
T, °C	RI	A^*
120	756.2	1.11
110	755.1	1.01
100	754.1	0.69
90	753.6	0.56
80	753.3	0.47
70	753.9	0.39
60	754.0	0.33
50	754.5	0.28
40	755.6	0.27
30	756.2	0.32

Граница перегрузки колонки 17 ± 4 мкг



$$\begin{aligned} RI &= aT^2 + bT + c \\ a &= 0.0013 \pm 0.0001 \\ b &= -0.204 \pm 0.015 \\ c &= 761.4 \pm 0.5 \\ r &= 0.97 \end{aligned}$$

Фрагменты хроматограмм диметилформаида ($m = 4.3$ мкг)
 между двумя соседними реперными н-алканами (C_7 и C_8),
 иллюстрирующие изменение асимметрии его пиков в
 зависимости от температуры



а) $T = 120$
 $^{\circ}\text{C}$
 $A^* = 0.64$

б) $T = 100$
 $^{\circ}\text{C}$
 $A^* = 0.22$

в) $T = 30$ $^{\circ}\text{C}$
 $A^* = 0.11$

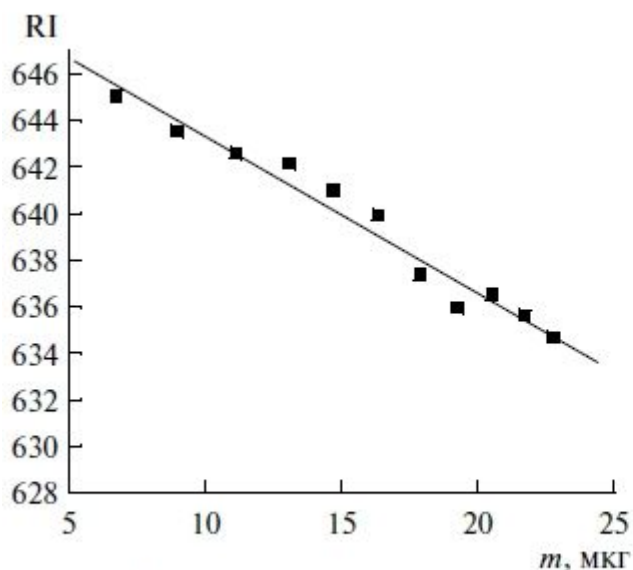
«Перегрузка» хроматографической КОЛОНКИ

Проявление перегрузки обычно связывают с:

- уширением хроматографических пиков;
- искажением формы пиков (обычно за счет увеличения их асимметрии);
- аномально выраженной зависимостью времен удерживания аналитов от их дозируемых количеств.

До настоящего времени термин «перегрузка» не имеет четкого определения и нередко воспринимается на интуитивном уровне.

Зависимость индексов удерживания от дозируемых количеств перегрузки

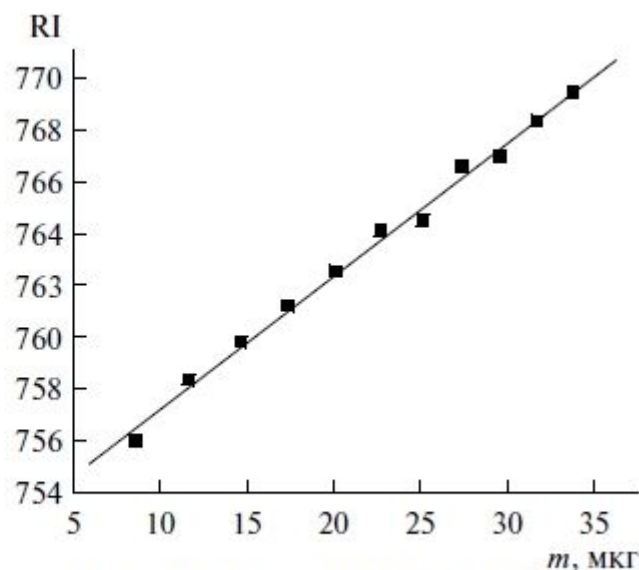


$RI = f(m)$ для 1-бутанола при 120 °C

$$dRI/dm < 0$$

$$d(dRI/dm)dT < 0$$

(для неполярных аналитов)



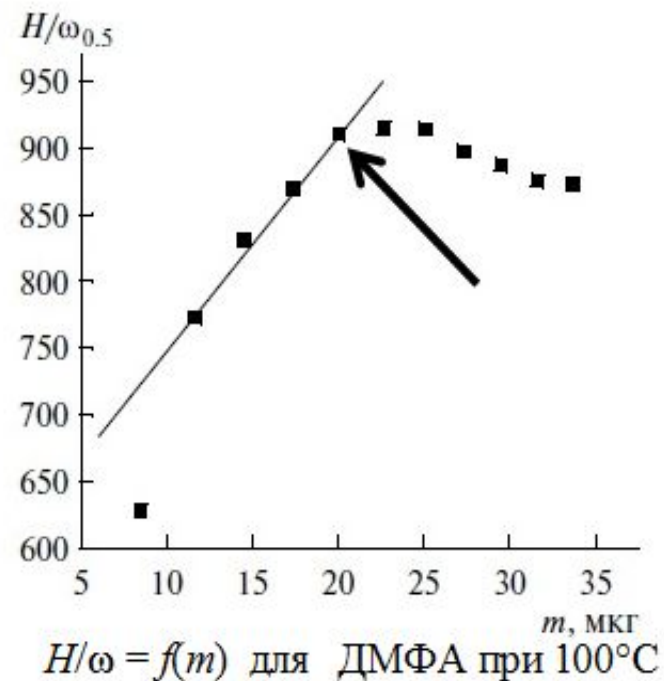
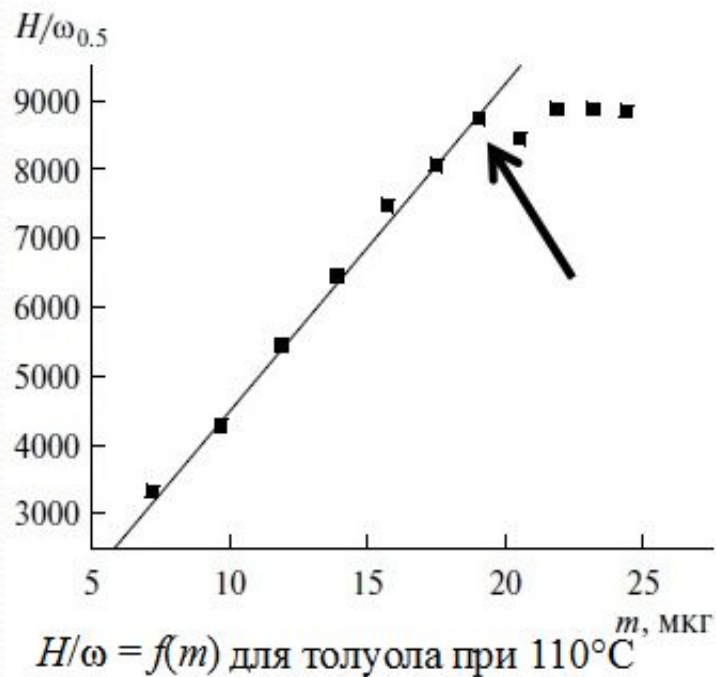
$RI = f(m)$ для ДМФА при 100 °C

$$dRI/dm > 0$$

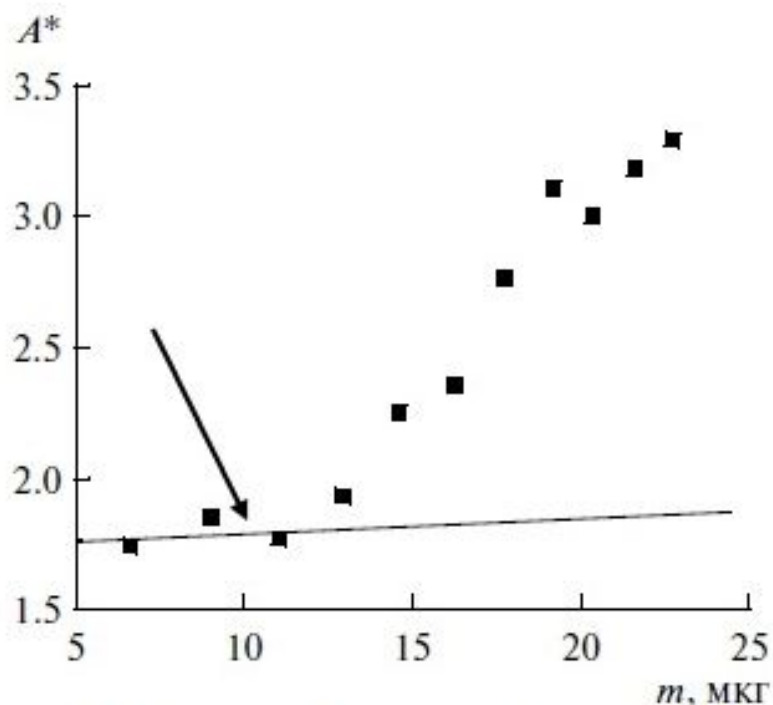
$$d(dRI/dm)dT > 0$$

(для полярных аналитов)

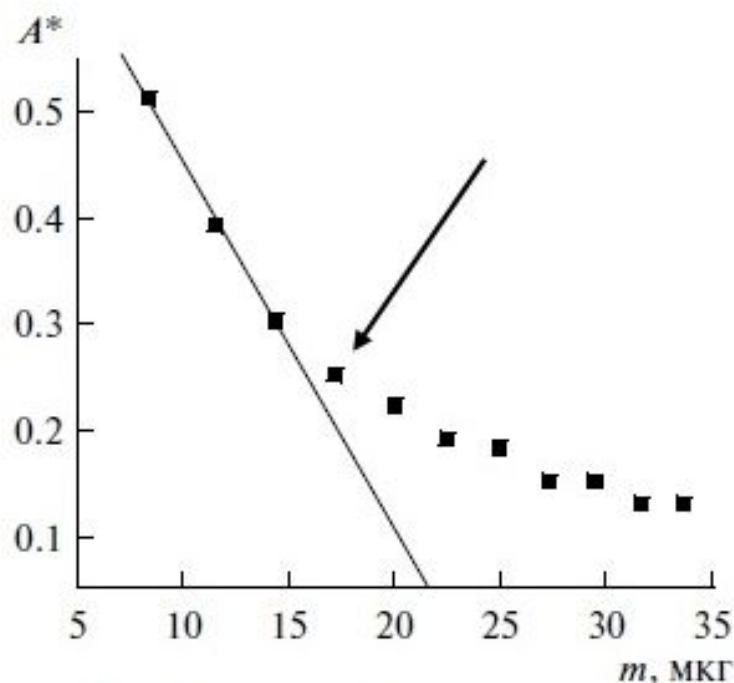
Критерии перегрузки, основанные на непосредственно измеряемых параметрах хроматографических пиков (критерий III)



Критерии перегрузки, основанные на непосредственно измеряемых параметрах хроматографических пиков (критерий IV)



$A^* = f(m)$ для бутанола-1 при 120°C



$A^* = f(m)$ для ДМФА при 100°C

Оценки границ перегрузки по критерию IV хорошо согласуются с оценками по критерию III (12–24 мкг в хроматографической зоне, среднее значение **17 ± 4 мкг**).

Аналит	$H/\omega = f(m)$ (критерий III)			$A^* = f(m)$ (критерий IV)		
	120 °C	110 °C	100 °C	120 °C	110 °C	100 °C
Толуол	21	19	-*	<10	12	-
Бутанол-1	15	12	13	13	12	-
ДМФА	-	22	21	-	24	18

Прочерк здесь и далее соответствует невозможности выявления границ перегрузки (аномалии рассматриваемой зависимости маскируются влиянием других факторов).

Концепция динамической модификации неполярной фазы в газовой хроматографии полярными анализатами.
Численное моделирование зависимости $RI(T)$

$$RI = RI(T_0) + \beta(T - T_0) + kM\Delta RI \cdot [K_p / (K_p + 1)]$$

M – масса компонента в хроматографической зоне;

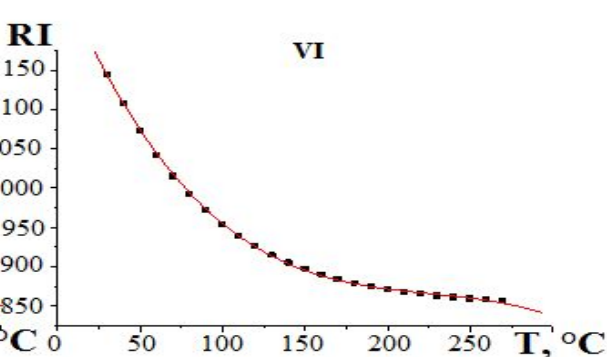
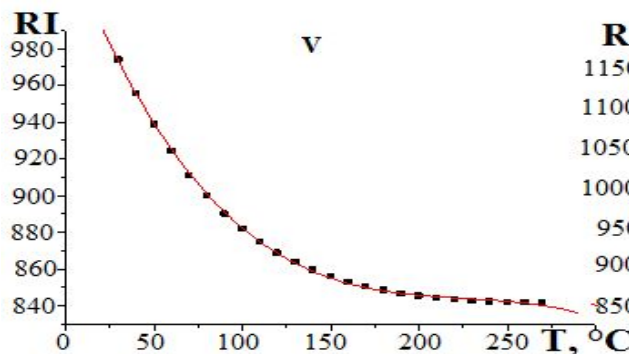
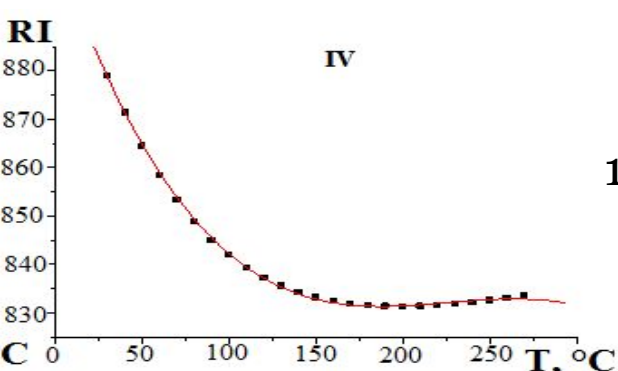
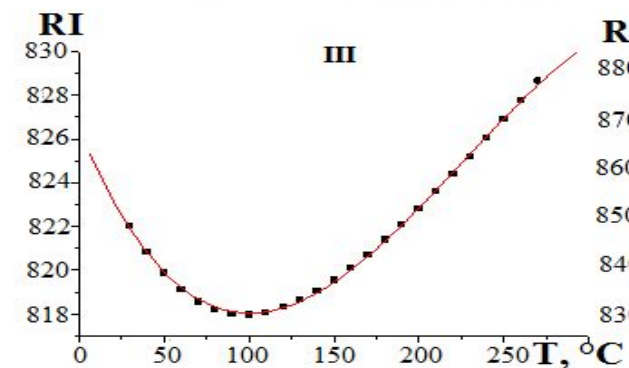
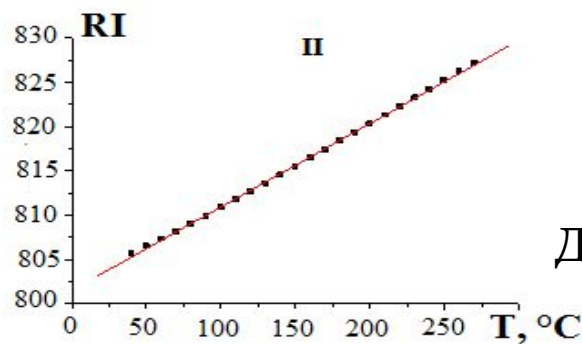
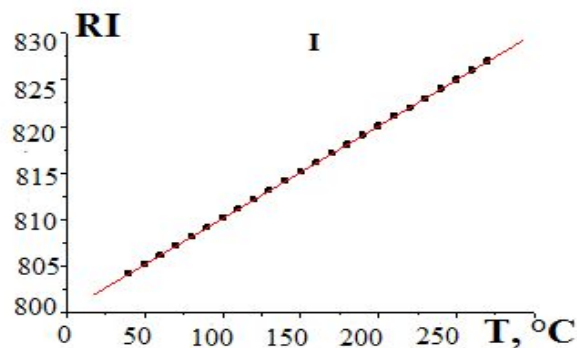
K_p – коэффициент распределения в неподвижной и подвижной фазах ($K_p = \exp(a/T + b)$);

k – дополнительный постоянный коэффициент пропорциональности;

RI – индекс удерживания характеризуемого полярного анализата на неполярной фазе колонки;

ΔRI – увеличение индекса удерживания полярного анализата на фазе, представляющей собой этот же анализат.

Графические зависимости $RI(T)$ по результатам численного моделирования



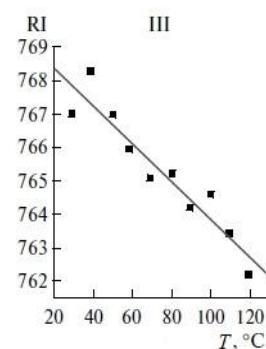
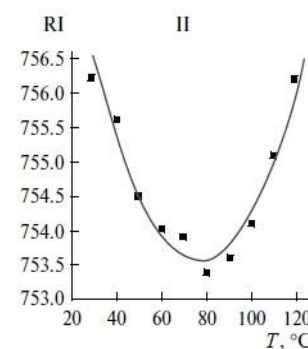
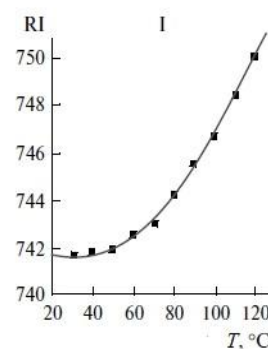
Для совокупности следующих значений параметров:
 $a = 2100$, $b = -7$, $\beta = 0.1$,
 $\Delta RI = 500$, $k = 0.05$,
 $M = 0.01$ (I), 0.1 (II),
 1 (III), 4 (IV), 9 (V), 18 (VI)
 условных единиц

Значения RI (при 0 °C) в зависимости от параметра M по результатам численного моделирования соотношения

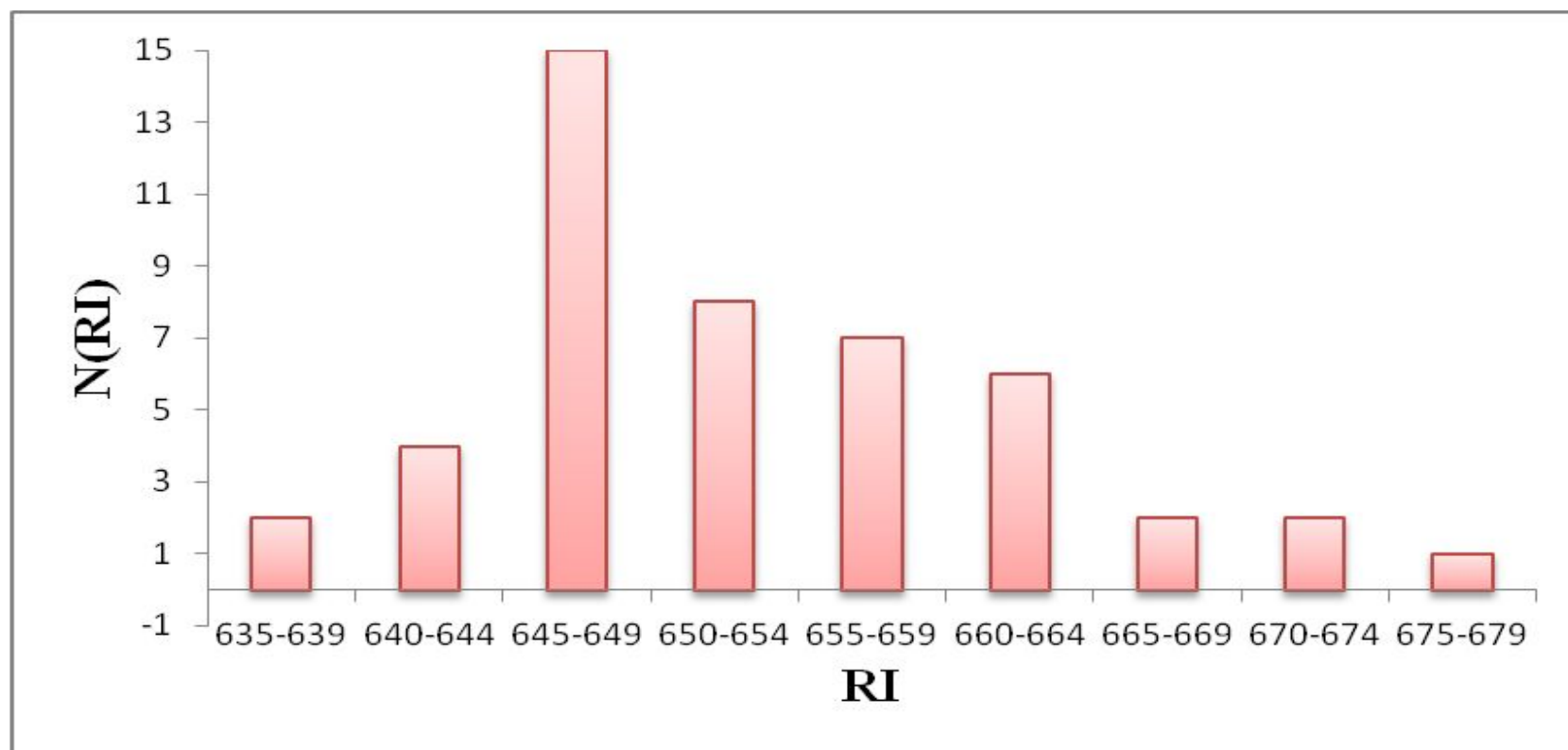
M	RI (0 °C)	r
0.01	800.15 ± 0.01	1.0000
0.1	801.50 ± 0.09	0.9998
1	826.4 ± 0.2	0.9993
4	905.5 ± 0.6	0.9994
9	1037.5 ± 1.3	0.9996
18	1275.0 ± 2.6	0.9997

Значения RI (при 0 °C) в зависимости от дозируемых количеств ДМФА (экспериментальные данные)

M	RI (0 °C)	r
0.6	742.4 ± 0.4	0.998
4.3	761.4 ± 0.5	0.97
16.9	769.5 ± 0.5	0.95

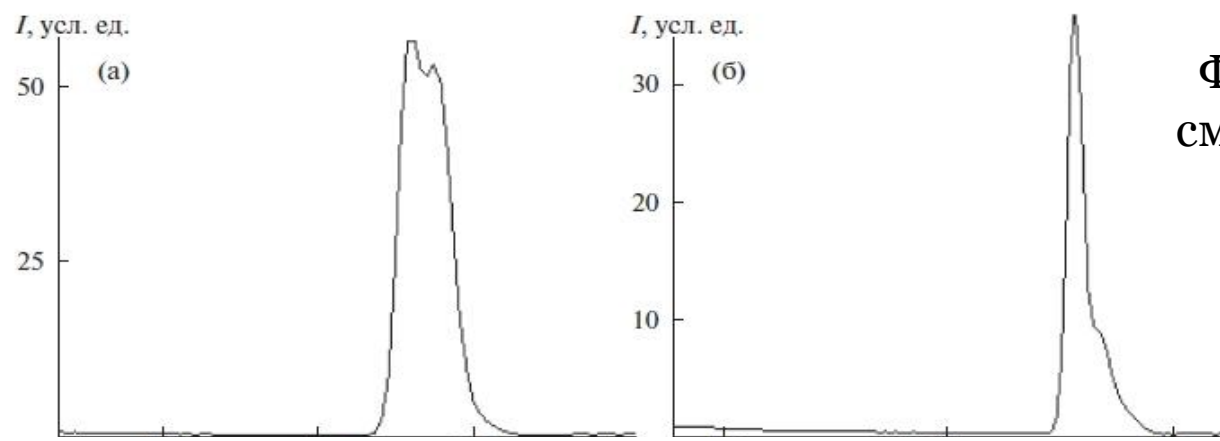


Аномалии температурных зависимостей $RI(T)$ полярных соединений на неполярных фазах - одна из причин асимметричного распределения справочных значений их RI

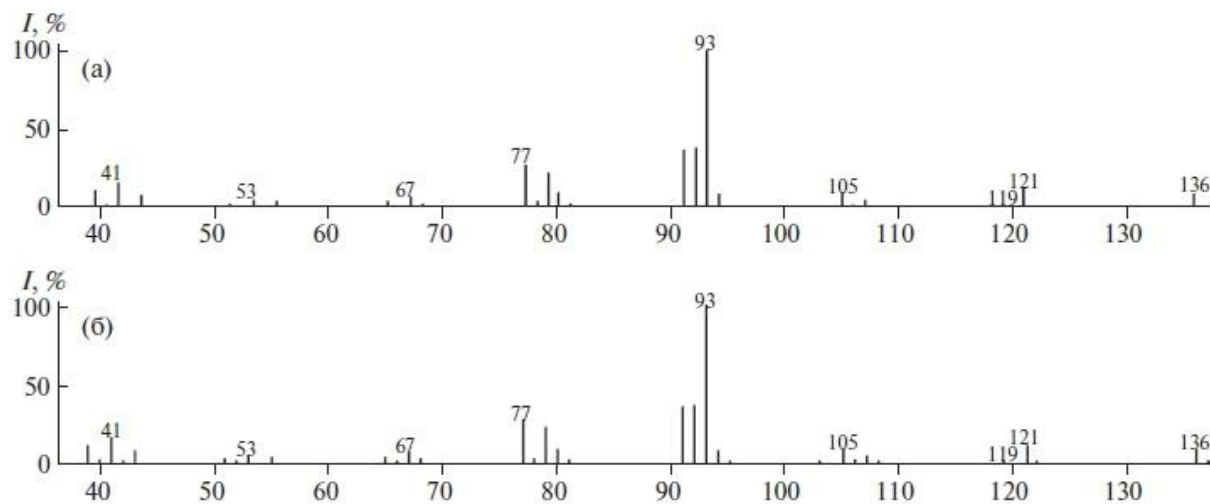


Гистограмма распределения изотермических индексов удерживания бутанола – 47 значений для капиллярных WCOT колонок на стандартных неполярных фазах в базе данных NIST 2014

Возможность частичного разделения энантиомеров на колонке с ахиральной неподвижной фазой - еще один пример проявления эффекта динамической модификации неподвижной фазы анализатами в газовой хроматографии

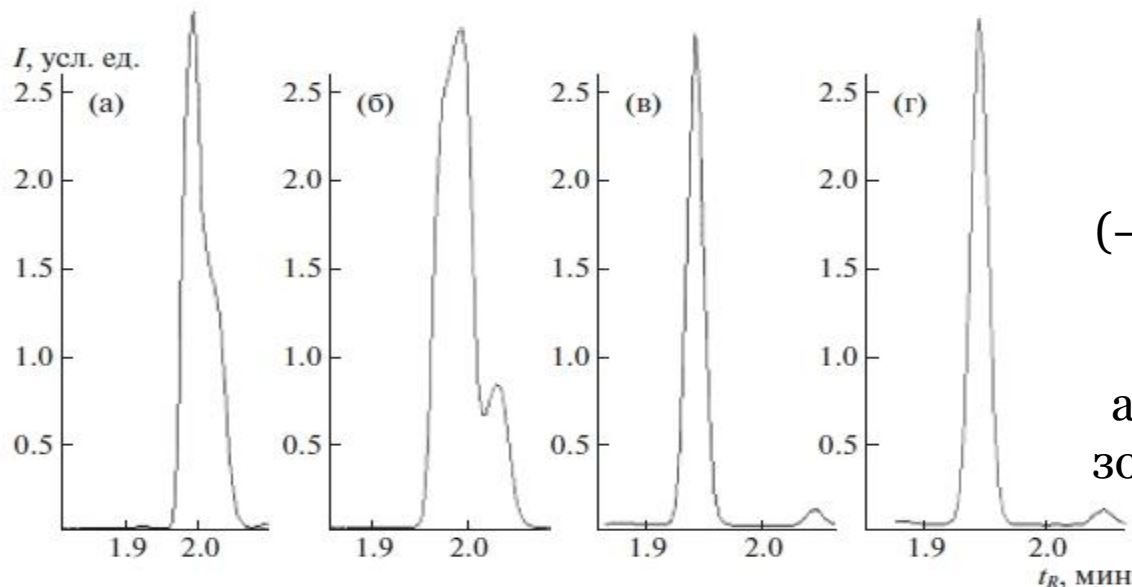


Фрагменты хроматограмм смеси (+)- и (-)-α-пиненов в соотношении 1 : 3; суммарные количества энантиомеров в хроматографических зонах 33 (а) и 65 нг (б)

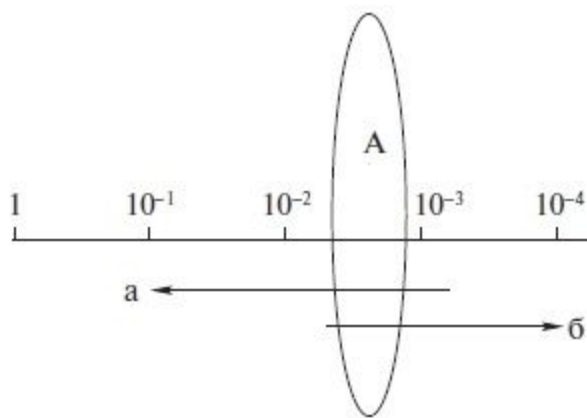


Масс-спектры двух составляющих частично разделенного хроматографического пика α-пинена: с меньшим (а) и с большим временами удерживания (б).

Возможность частичного разделения энантиомеров на колонке с ахиральной неподвижной фазой - еще один пример проявления эффекта динамической модификации неподвижной фазы анализатами в газовой хроматографии



Фрагменты хроматограмм, иллюстрирующие разделение (–)- и (+)-энантиомеров α-пинена на WCOT-колонке RTX-5 для разных суммарных количеств анализатов в хроматографических зонах: а – 71, б – 33, в – 15, г – 5 нг



Схематическое изображение диапазона масс, соответствующего возможному частичному разделению энантиомеров (эллипс А) на ахиральных колонках;

ухудшение разделения: а – за счет уширения пиков при приближении к границам массовой перегрузки колонки, б – за счет уменьшения динамической модификации неподвижных фаз при уменьшении количеств сорбатов в хроматографической зоне

Выводы

- ? Показано, что температурные коэффициенты газохроматографических индексов удерживания не во всех случаях являются хроматографическими инвариантами. Для некоторых полярных веществ на неполярных фазах эти коэффициенты меняют знак в зависимости от количества аналита в хроматографической зоне.
- ? В результате рассмотрения известных ранее критериев массовой перегрузки хроматографических колонок предложено несколько новых их вариантов, обеспечивающих получение сопоставимых значений границ перегрузки для разных аналитов.
- ? Критически переосмыслена известная с середины 1990-х гг. аномальная температурная зависимость индексов удерживания, заключающаяся в изменении знаков температурных коэффициентов индексов при разных температурах. Показано, что этот эффект обусловлен динамической модификацией неполярной полярными аналитами и не связан с перегрузкой хроматографических систем.

- ? Предложена физико-химическая модель эффекта динамической модификации неполярных фаз полярными анализитами, основанная на известных принципах хроматографии.
- ? Показана связь между аномальной температурной зависимостью индексов удерживания и вариациями фактора асимметрии (A) хроматографических пиков полярных соединений. Установлено, что увеличение коэффициентов температурной зависимости с повышением температуры сопровождается с уменьшением значения (A).
- ? Концепция динамической модификации неполярных фаз анализитами в газовой хроматографии позволила предсказать, объяснить и на примере (+) и (-)- α -пиненов экспериментально подтвердить возможность частичного разделения энантиомеров на ахиральных фазах.

***Исследования проведены с использованием оборудования
ресурсного центра Научного парка СПбГУ «Ресурсный
Образовательный Центр по направлению химия»***

Публикации по теме работе:

Статьи:

1. *Зенкевич И.Г., Павловский А.А.* Об аномальной температурной зависимости газохроматографических индексов удерживания полярных соединений на неполярных фазах // Аналитика и контроль. 2014. Т. 18. № 2. С. 171-177.
1. *Зенкевич И.Г., Павловский А.А.* Особенности и критерии перегрузки газохроматографических систем // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70. № 9. С. 984-991.
1. *Zenkevich I.G., Pavlovskii A.A.* Overloading control of gas chromatographic systems // J. Sep. Sci. 2015. V. 38. No. 16. P. 2848-2856.
1. *Павловский А.А., Зенкевич И.Г.* Особенности зависимости газохроматографических индексов удерживания от соотношения количеств целевых аналитов и реперных компонентов для капиллярных колонок большой емкости // Сорбц. и хроматогр. процессы. 2015. Т. 15, Вып. 5. С. 607-618.
1. *Pavlovskii A.A., Heberger K., Zenkevich I.G.* Anomalous temperature dependence of gas chromatographic retention indices of polar compounds on non-polar stationary phases // J. Chromatogr. A. 2016. V. 1445. pp. 126-134.
1. *Зенкевич И.Г., Павловский А.А.* Аномальная температурная зависимость газохроматографических индексов удерживания полярных соединений на неполярных фазах // Журн. физ. химии. 2016. Т. 90. № 5. С. 792-799.
2. *Zenkevich I.G., Pavlovskii A.A.* Temperature Dependence of Gas Chromatography Retention Indices As One of the Main Factors Determining Their Interlaboratory Reproducibility // Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces. 2015. V. 51. No. 6. P. 1058-1064.

Тезисы докладов:

1. *Pavlovskii A.A., Zenkevich I.G.* Anomalous temperature dependence of gas chromatographic retention indices of polar compounds on non-polar phases // Abstr. IX Internat. Conf. "Mendeleev-2015". St. Petersburg, April 7-10, 2015. P. 411.
2. *Zenkevich I.G., Pavlovskii A.A., Heberger K.* Anomalous temperature dependence of retention indices of polar compounds on non-polar phases // Abstr. 38th Internat. Symp. on Capillary Chromatography. Riva del Garda, Italy, May 18-23, 2014. A. 02.
3. *Зенкевич И.Г., Павловский А.А.* Особенности и критерии перегрузки газохроматографических систем // Тез. докл. 3-го Всерос. симп. «Кинетика и динамика обменных процессов». Воронеж, окт. 2014 г. 392 с. С. 119-121.
4. *Pavlovskii A.A., Zenkevich I.G.* Criteria for overloading of gas chromatographic systems // Abstr. IX Internat. Conf. "Mendeleev-2015". St. Petersburg, April 7-10, 2015. P. 412.
5. *Zenkevich I.G., Pavlovskii A.A.* Features and criteria for overloading of gas chromatographic systems // Abstr. XV Congreso Latinoamericano de Chromatografia y Tecnicas Afines. Cartagena de Indias, Colombia, Sept. 29 – Oct. 04, 2014.
6. *Зенкевич И.Г., Павловский А.А.* Сравнительная характеристика факторов, определяющих межлабораторную воспроизводимость газохроматографических индексов удерживания // Тез. докл. IV Всерос. симп. «Кинетика и динамика обменных процессов». Сочи, 01-08 ноября 2015 г.
7. *Павловский А.А., Зенкевич И.Г.* Аномальная температурная зависимость газохроматографических индексов удерживания полярных соединений на неполярных фазах // Тез. докл. Всерос. конф. «Теория и практика хроматографии». Самара, май 2015 г. 284 с. С. 69.
8. *Zenkevich I.G., Pavlovskii A.A.* Effects of dynamic modification of stationary phases by analytes in gas chromatography. Partial separation of enantiomers. Abstr. 40th Internat. Symp. on Capillary Chromatogr. Riva del Garda, Italy, May 29 – June 03, 2016. A.01.

Спасибо за внимание

$$N \sim k(t_R/\omega)^2, \text{ но } S \sim Ht_R \text{ и тогда } N \sim k[S/(H\omega)]^2$$

- Для оценки максимальных количеств аналитов $\lim(m)$, дозирование которых еще не приводит к перегрузке колонок, рекомендовано использовать следующее соотношение:

$$\lim(m) \sim k \phi d^{5/2} L^{1/2} = k d_f d^{3/2} L^{1/2}, \text{ where}$$

- k – размерный коэффициент пропорциональности (зависит от химической природы аналитов и неподвижных фаз);
- d – диаметр колонки;
- d_f - толщина пленки неподвижной фазы;
- $\phi = d_f / d$;
- L – длина колонки.

Из-за сложностей оценок значений коэффициента k это соотношение более применимо не для абсолютных вычислений, а для сравнения границ перегрузки различных колонок.