

УДК: 543.544

ОБ ОСНОВНЫХ ФАКТОРАХ, ВЛИЯЮЩИХ НА МЕЖЛАБОРАТОРНУЮ ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ИНДЕКСОВ УДЕРЖИВАНИЯ

И.Г. Зенкевич, Е.С. Уколова

*Санкт-Петербургский государственный университет, химический факультет;
198504, С-Петербург, Университетский пр., 26
izenkevich@mail15.com*

Поступила в редакцию 21 октября 2010 г.

Несмотря на многолетнее (с 1958 г.) использование концепции индексов удерживания в хроматографии, один из главных факторов, влияющих на их межлабораторную воспроизводимость, – соотношение количеств характеризуемых и реперных компонентов – до настоящего времени оказался подробно не рассмотренным. Однако именно он в значительной степени определяет возможности использования этих параметров для хроматографической идентификации.

Ключевые слова: Хроматографические индексы удерживания, межлабораторная воспроизводимость, соотношение количеств характеризуемых и реперных компонентов.

Зенкевич Игорь Георгиевич – профессор, д.х.н., зав. лабораторией газовой хроматографии химического факультета СПбГУ.

Область научных интересов: хроматографические методы анализа, идентификация неизвестных веществ.

Автор/соавтор более 550 публикаций.

Уколова (Ивлева) Елена Сергеевна – аспирантка химического факультета СПбГУ.

Тема диссертационной работы связана с характеристикой влияния соотношения целевых аналитов и реперных компонентов на воспроизводимость и точность определения хроматографических индексов удерживания.

Соавтор двух находящихся в печати статей.

Введение

Одно из основных предназначений хроматографических методов разделения состоит в идентификации компонентов смесей веществ без их препаративного выделения. Простейшим и наиболее известным способом решения таких задач является сравнение параметров (чаще всего времен) удерживания целевых аналитов с соответствующими данными для соединений, доступных в качестве препаратов сравнения (стандартных образцов). Для повышения надежности и однозначности результатов такое сравнение принято проводить в нескольких режимах, обычно при использовании 2-3 колонок с неподвижными фазами разной полярности.

При всей простоте и распространенности такого способа, нельзя не отметить ряд его отрицательных моментов. Возможности идентификации с его использованием полностью зависят от доступности образцов срав-

нения, а преимущества хроматографической техники анализа используются лишь в незначительной степени. Первый парадокс связан с тем, что затраты времени на поиск препаратов сравнения нередко могут превышать время самих определений [1]. Второй же, более серьезный момент, обусловлен исключительной «утилитарностью» такого подхода; в результате проведения нередко достаточно сложных анализов весьма «экзотических» веществ не остается никакой информации, которая **упростила бы выполнение подобных анализов последователями**. Им остается рассчитывать на все тот же поиск и использование образцов сравнения. Приведенное утверждение, прежде всего, касается информации об абсолютных параметрах удерживания аналитов и обычно не относится к условиям самих определений, которые традиционно принято характеризовать достаточно подробно. Характерным признаком подобного подхода являет-

ся представление результатов в виде малоинформативных рисунков хроматограмм¹.

Ситуацию с сохранением информации о параметрах удерживания анализируемых соединений принципиально изменило создание Эрвином Ковачем в 1958 г. концепции индексов удерживания (ИУ, обозначение в формулах R_I) [2] – интерполяционных величин, вычисляемых относительно времен удерживания минимум двух реперных компонентов. Если выбрать в качестве таких реперов соединения, не имеющие в составе молекул гетероатомов, циклов, кратных связей и разветвлений углеродного скелета, то появляется уникальная возможность выявлять все перечисленные структурные элементы именно по хроматографическим параметрам удерживания, что эквивалентно идентификации аналитов. Гомологический ряд, удовлетворяющий всем перечисленным требованиям, – n -алканы C_nH_{2n+2} – чаще всего и используют в газовой хроматографии в качестве реперного.

Наиболее известный способ вычисления ИУ основан на следующем общем соотношении [3]:

$$R_{I_x} = R_{I_n} + (R_{I_{n+i}} - R_{I_n}) \frac{[f(t_{R,x}) - f(t_{R,n})]}{[f(t_{R,n+i}) - f(t_{R,n})]}, \quad (1)$$

где $t_{R,x}$, $t_{R,n}$ и $t_{R,n+i}$ – времена удерживания характеризующего аналита и реперных компонентов с числом атомов углерода n и $(n + i)$ и индексами $100n$ и $100(n + i)$, соответственно ($i \geq 1$). Вид функции $f(t_R)$ определяется режимом разделения (изотермический или линейное программирование температуры). В системе логарифмических индексов Ковача $f(t_R) = \lg(t_R - t_0)$, t_0 – «мертвое время» хроматографической системы; при программировании температуры используют линейные ИУ, для которых $f(t_R) = t_R$.

В отличие от абсолютных характеристик удерживания, значения ИУ не зависят от геометрических параметров хроматографических колонок, природы и скорости газа-носителя, содержания неподвижной фазы на носителе (насадочные колонки) или толщины ее пленки (капиллярные колонки). Влияние химической природы неподвижной фазы на ИУ, естественно, сохраняется, так что без ее указания такие инварианты использовать нельзя. Однако если

¹ Представление рисунков оригинальных хроматограмм в статьях и, особенно, в монографиях, является, прежде всего, декоративным элементом, облегчающим восприятие текста. Широко используется в рекламных целях в каталогах фирм, выпускающих хроматографические колонки. Относительно же их информативности можно провести аналогию с рисунками тонкослойных хроматограмм, спектров ЯМР и т.д., которые в соответствии с правилами большинства журналов мира в настоящее время в научных изданиях приводить не рекомендуется.

сопоставить между собой значения ИУ, определенные с соблюдением всех перечисленных выше условий (оценка межлабораторной воспроизводимости), то легко выявить, что они достаточно близки, но не идентичны друг другу. Для таких сравнений можно рекомендовать наиболее подробную из известных в настоящее время базу Национального института стандартов и технологии (NIST, США) [4], последняя версия которой (август 2008 г.) содержит 293247 значений ИУ 44008 соединений.

Причины межлабораторного разброса ИУ, определяющего возможности использования этих параметров для хроматографической идентификации (в частности, количество ошибок II-го рода), обусловлены влиянием нескольких факторов, которые за более чем 50-летнюю историю этой концепции в хроматографии неоднократно были предметом специального рассмотрения. Первый из них – нелинейность зависимостей $R_{I_{ref}} = f(t_R)$, где $R_{I_{ref}}$ и t_R – индексы и времена удерживания реперных компонентов, особенно значим в режимах программирования температуры. Его причиной являются математические проблемы нелинейной аппроксимации, устраняемые оптимальным выбором функций $f(t_R)$ [5, 6]. Второй, наиболее известный, связан с температурной зависимостью ИУ ($\beta = dR_I/dT \neq 0$, обычно $\beta > 0$) [7]; его влияние теоретически может быть минимизировано приведением всех экспериментальных значений ИУ к некоторым стандартным температурам. Третий фактор, выявленный и подробно охарактеризованный в работах проф. В.Г. Березкина, обусловлен эффектами неконтролируемой сорбции аналитов на границах раздела фаз в хроматографических колонках [8]. Эти эффекты представляют наибольшие сложности для компенсации, причем их проявление в общем случае дополнительно усугубляется недостаточной инертностью хроматографических систем в целом [9].

Однако, в дополнение к перечисленным, существует еще один экспериментальный фактор, влияющий на значения ИУ, определяемые даже на одной и той же колонке, в не меньшей, а, нередко, в большей степени по сравнению с остальными. Как ни парадоксально, но до настоящего времени его принимали во внимание исключительно редко. Он заключается не столько в зависимости ИУ от объема дозируемых в хроматографические колонки проб [10, 11], сколько в гораздо более сильно выраженной зависимости ИУ **от соотношения количества целевых аналитов и реперных компонентов в анализируемых пробах** [12-14].

Настоящая статья посвящена обсуждению значимости указанной зависимости в сравнении с другими факторами, снижающими межлабораторную воспроизводимость хрома-

тографических индексов удерживания, а также ее следствий, важных для представления этих аналитических параметров.

Выявление и экспериментальное подтверждение зависимости $RI(\gamma)$ предельно просто (подробности описаны в работах [13, 14]) и основано на сравнении результатов анализа ряда смесей, содержащих модельные компоненты и реперные *n*-алканы в различных соотношениях, при разных температурах и в разных концентрациях. Обсуждаемые эффекты проявляются в любых режимах анализа (изотермических или с программированием температуры), но для исключения возможного влияния температурной зависимости ИУ рассматриваются только результаты измерений в изотермических условиях.

Результаты и их обсуждение

Парадоксы температурной зависимости индексов удерживания. Как было отмечено выше, из всех факторов, влияющих на газохроматографические ИУ, наиболее известно влияние температуры:

$$RI(T) = RI(T_0) + \beta(T - T_0), \quad \beta = dRI/dT. \quad (2)$$

В практике современной хроматографии существует «негласный» приоритет оптимизации условий анализа для обеспечения лучшего разделения компонентов, но не для упрощения последующей обработки получаемых данных. Поэтому не удивительно, что значения ИУ одних и тех же соединений были определены в разных условиях, в том числе при неодинаковых температурах, когда проявление зависимости (2) приводит к их дополнительному разбросу, т.е. снижению их межлабораторной воспроизводимости. В такой ситуации достаточно естественно предположить, что значения ИУ могут быть приведены к некоторым стандартным температурам, что увеличит их воспроизводимость. Для этого нужно дублировать определения ИУ как минимум в двух разных температурных режимах:

$$\begin{aligned} RI_1 &= RI(T_0) + \beta(T_1 - T_0), \\ RI_2 &= RI(T_0) + \beta(T_2 - T_0). \end{aligned}$$

Вычитая первое уравнение из второго, получаем:

$$\beta = (RI_2 - RI_1)/(T_2 - T_1)$$

и, окончательно,

$$RI(T_0) = RI_1 - (RI_2 - RI_1)(T_1 - T_0)/(T_2 - T_1).$$

Известно большое число публикаций, в которых было предложена экстраполяция (или интерполяция) экспериментальных значений ИУ на стандартную температуру $T_0 = 100$ °С; часть из них цитирована в монографии [7]. Дополнительно к этому небезынтересно упомя-

нуть другую родственную концепцию «унифицированных индексов удерживания» (Unified Retention Indices), «новизна» которой состояла лишь в предложении экстраполировать ИУ на стандартную температуру $T_0 = 0$ °С [15-17]. Естественно, что при этом для каждого соединения должно быть указано значение коэффициента β , что позволяет (теоретически) оценивать значения ИУ при любых температурах. Однако эта рекомендация, увы, оказалась практически бесполезной.

Несмотря на то, что официальных «опровержений» концепции приведения ИУ к стандартным температурам не известно, в настоящее время ее популярность *de facto* весьма невелика. Первой причиной этого можно считать необходимость дублирования анализа в иных температурных режимах, что не согласуется с критерием [1] необходимости экономии времени экспериментальных операций. В действительности же отчетливо прослеживается безусловное предпочтение однократных определений ИУ, несмотря на то, что они могут относиться к другим температурам, чем справочные данные. При использовании же режимов программирования температуры компоненты характеризуются разными температурами удерживания, так что их контроль становится еще более затруднительным.

Вторую причину нагляднее всего проиллюстрировать оценками реального межлабораторного разброса ИУ какого-либо достаточно подробно охарактеризованного соединения, например, одного из простейших ароматических углеводородов – толуола, для которого в первой версии базы данных NIST [4] приведено 227 значений ИУ, определенных в изотермических условиях. На рис. 1 представлена гистограмма распределения этих значений в интервалах 5 ед. индекса (шаг гистограммы) в диапазоне $728 \leq RI \leq 797$. Общий вид гистограммы типичен для большинства соединений, зарегистрированных в базе [4]. Она характеризуется одним максимумом в интервале $755 \leq RI \leq 759$, что подтверждает отсутствие в выборке значений ИУ, принадлежащих другим соединениям (соответствующий тест предложен в работе [18]). Вместе с тем, легко заметить, что распределение ИУ асимметрично: их разброс в сторону ИУ, больших среднего значения, отчетливо превышает разброс в сторону меньших значений. Другой способ характеристики такой особенности выборки данных предполагает ее несколько необычную статистическую обработку. Среднее арифметическое значение ИУ (761) можно сочетать не с обычным стандартным отклонением (12 ед. индекса), а двумя, вычисляемыми независимо для значений, больших (15) и меньших (10) среднего [19]. Результат подобной обработки

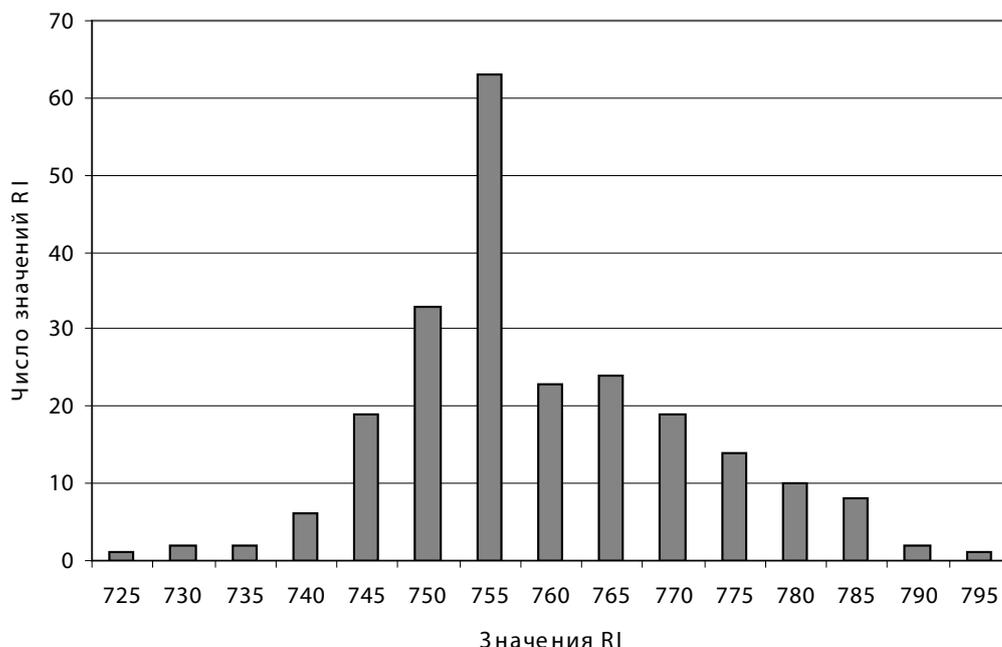


Рис. 1. Гистограмма распределения индексов удерживания толуола; 227 значений на стандартных неполярных фазах (насадочные и капиллярные колонки) из базы данных Национального института стандартов и технологии (NIST, США) [4]; диапазон $728 \leq RI \leq 797$, шаг гистограммы 5 ед. индекса

данных можно записать в виде $761_{-10(137)}^{+15(90)}$, где числа в скобках указывают соответствующее количество значений ИУ. Отношение двух стандартных отклонений составляет 1.47, что подтверждает существенную асимметрию выборки. Учитывая известные факторы, влияющие на значения индексов удерживания, естественно предположить, что одной из главных причин их наблюдаемого разброса является температурная зависимость.

Если представить распределение 227 ИУ толуола на стандартных неполярных фазах в зависимости от температуры, $RI(T)$, то получаем зависимость, изображенную на рис. 2.

При рассмотрении этого рисунка специально можно не отмечать «обращает на себя внимание значительный разброс точек на графике», поскольку это и так более чем хорошо заметно. Если зависимость $RI(T)$ и проявляется, то всего лишь как некоторая достаточно слабая тенденция, деформирующая область распределения точек в направлении линии регрессии (коэффициент корреляции составляет всего $r = 0.660$). При этом такие параметры линейной регрессии $RI = aT + b$ как коэффициенты $a = dRI/dT = 0.24 \pm 0.02$ и $b = RI(T = 0^\circ\text{C}) = 741 \pm 2$ характеризуются неплохой воспроизводимостью. Однако этот эффект имеет статистический характер и достигается за счет большого объема выборки (227 точек). При любой попытке уменьшить число пар данных до величин, приемлемых для экспериментальных определений

($N = 2, 3, \dots, < 10$), можно получить совершенно невероятные значения коэффициентов a и b .

Величина генеральной дисперсии S_0 выборки данных, представленной на рис. 2, составляет около 9. Это значение в первом приближении характеризует отклонения данных от линии регрессии (более корректна оценка коридора ошибок [20]). Например, вариации ИУ толуола при изменении температуры на 100°C должны составлять $100dRI/dT \approx 24 \pm 2$ ед. индекса, тогда как разброс данных за счет отклонений точек от линии регрессии даже в пределах $\pm S_0$, достигает ~ 18 ед. индекса, что сопоставимо с предыдущей величиной. Если разброс ИУ при одних и тех же температурах сравним с их вариациями за счет изменения температуры, то вряд ли можно говорить о принципиальном влиянии этого фактора. Такая же картина наблюдается и для других соединений. Таким образом, температурная зависимость ИУ проявляется именно как более или менее заметно выраженная тенденция их увеличения при повышении температуры, которая не отражает истинной картины их межлабораторного разброса.

Тем не менее, зависимость $RI(T)$ неоднократно подтверждали прецизионными измерениями на примерах модельных смесей фиксированного состава в таких условиях хроматографического анализа, когда варьируемым параметром была только температура. Тогда почему же ее реальное проявление (рис. 2) выглядит столь неубедительно? Ответ на этот вопрос, по мнению авторов, достаточно очевиден:

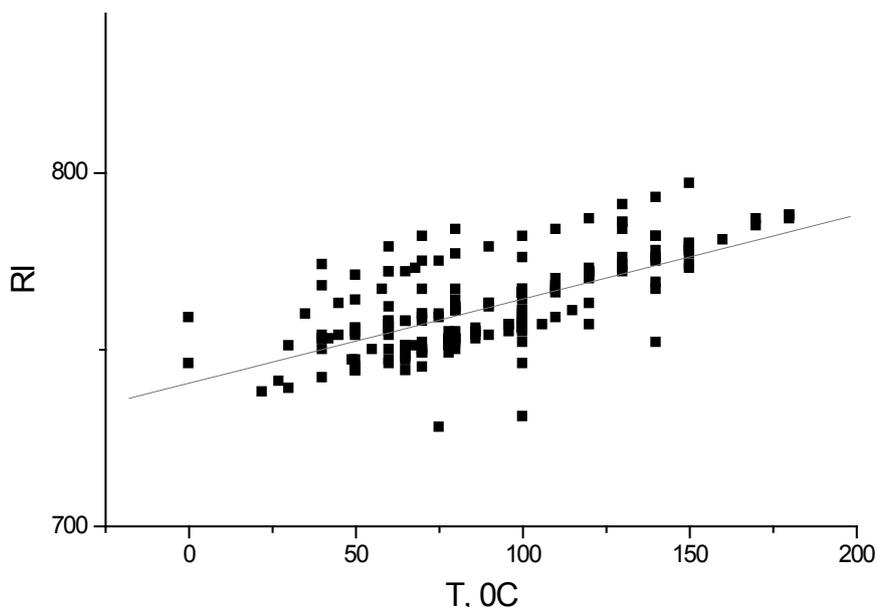


Рис. 2. Графическая иллюстрация вариаций индексов удерживания толуола в зависимости от температуры (изотермические условия); 227 значений на стандартных неполярных фазах (насадочные и капиллярные колонки) из базы данных Национального института стандартов и технологии (NIST, США) [4]. Параметры линейной регрессии $RI = aT + b$: $a = dRI/dT = 0.24 \pm 0.02$, $b = RI(T = 0 \text{ °C}) = 741 \pm 2$, $r = 0.660$, $S_0 = 9$

зависимость (2) искажена за счет наложения, по крайней мере, еще одного эффекта, сравнимого с ней по значимости. Возможно, что некоторый вклад в такие искажения вносит сорбция аналитов на границах раздела фаз [8], однако для относительно низкокипящих углеводородов она, как правило, минимальна (для иллюстрации на рис. 2 выбран толуол с $T_{\text{кип}} = 110.6 \text{ °C}$). Следовательно, остается признать, что речь может идти об эффекте, недостаточно принимавшемся во внимание ранее, а именно о зависимости ИУ от соотношения количеств целевых аналитов и реперных компонентов.

В отличие от зависимостей хроматографических ИУ от температуры колонок [7] и содержания неподвижных фаз в них [8], влияние соотношения характеризуемых и реперных компонентов на ИУ ранее чаще всего рассматривали лишь на полуквантитативном уровне, классифицируя его как источник ошибок определения ИУ, т.е. относя к негативным факторам, снижающим точность определений [12]. Между тем, такая зависимость допускает математически корректное описание. Первый вариант рекомендуемого для этих целей соотношения был предложен в публикации [13]. Ниже рассматривается рекомендуемое для этих целей уточненное уравнение [14].

Для оценки соотношения целевых и реперных компонентов целесообразно использовать не отношение их масс (для реальных образцов оно обычно неизвестно), а отношение непосредственно измеряемых площадей хроматографических пиков целевых аналитов (S_x) к сумме

площадей пиков соседних реперных компонентов ($S_n + S_{n+i}$ при условии $t_{R,n} < t_{R,x} < t_{R,n+i}$; $i \geq 1$) [13, 14]:

$$\gamma = S_x / (S_n + S_{n+i}). \quad (3)$$

Зависимость индексов удерживания от соотношения целевых и реперных компонентов и ее следствия. Зависимость $RI(\gamma)$ может быть аппроксимирована следующим логарифмическим уравнением [14]:

$$RI = RI_0 + k \ln \gamma \quad (\gamma > 0). \quad (4)$$

Необходимо заметить, что это уравнение справедливо только для распределительного варианта хроматографического разделения, т.е. применимо в газо-жидкостной хроматографии, когда $k > 0$. Газоадсорбционный вариант разделения (здесь не обсуждается) принципиально отличен, так как характеризуется другим знаком коэффициента k ($k < 0$).

Продолжая сравнение с температурной зависимостью ИУ, следует отметить, что коэффициенты $\beta = dRI/dT$ определяются исключительно химической природой анализируемых соединений. Что же касается зависимости $RI(\gamma)$, то она отражает «чувствительность» хроматографических колонок разных типов к изменениям соотношений компонентов анализируемых образцов вне зависимости от их химической природы.

Наиболее интересным фактом оказывается степень проявления рассматриваемого

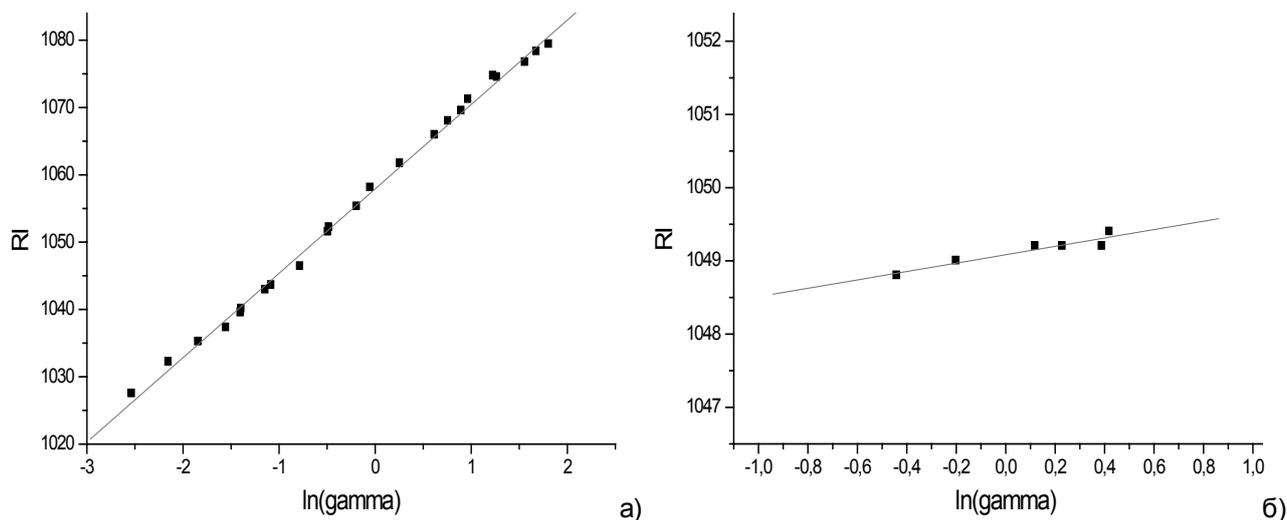


Рис. 3. Линейные зависимости индексов удерживания ацетофенона от $\ln \gamma$ по данным работы [14] для: а - насадочной колонки с SE-30 (70 °С). Параметры линейной регрессии $RI = RI_0 + k \ln \gamma$: $RI_0 = 1057.9 \pm 0.2$, $k = 12.5 \pm 0.1$, $r = 0.998$, $S_0 = 0.9$; б - кварцевой WCOT колонки с DB-1 (140 °С, разбавление образцов инертным растворителем 1 : 100, деление потока при вводе проб 1 : 30); $RI_0 = 1049.1 \pm 0.0$, $k = 0.6 \pm 0.1$, $r = 0.948$, $S_0 = 0.07$; сглаживание данных выполнено с использованием алгоритма [21]. Масштаб оси ординат графика (а) в десять раз меньше, чем графика (б)

эффекта для колонок разных типов [13, 14]. На рис. 3, а приведен график зависимости (4) для ИУ ацетофенона, определенных на насадочной колонке с неполярной неподвижной фазой SE-30 при 80 °С в диапазоне $-2.5 \leq \ln \gamma \leq 2.0$, что соответствует $0.08 \leq \gamma \leq 7.4$. Прежде всего, обращает на себя внимание исключительно линейный характер этой зависимости ($r = 0.998$) во всем диапазоне вариаций параметра γ . Это позволяет заключить, что наблюдаемая зависимость не связана с перегрузкой колонки и проявляется для хроматографических пиков даже малых интенсивностей. Вариации ИУ, обусловленные вариациями γ , составляют для этой колонки более 50 ед. индекса (!), что превышает вариации ИУ за счет температурной зависимости $\beta = dRI/dT$. Для сравнения, на рис. 3, б приведен график аналогичной зависимости для ИУ этого же соединения, определенных на кварцевой WCOT колонке с неполярной неподвижной фазой DB-1 при 140 °С в диапазоне $-0.4 \leq \ln \gamma \leq 0.4$, что соответствует $0.7 \leq \gamma \leq 1.5$. В этом случае пробы представляли собой растворы ацетофенона и реперных *n*-алканов в гексане с суммарными концентрациями около 1%, вариации ИУ составили всего $1049.3 - 1048.6 \approx 0.7$ ед. индекса, но общая тенденция зависимости $RI(\gamma)$ при этом осталась неизменной. Времена удерживания компонентов составляли 150-180 с, а возможности их измерения с помощью программного обеспечения MultiChrom были ограничены сотыми долями секунды, т.е. число значащих цифр в их значениях не превышало пяти. Выявленные вариации ИУ оказались достаточно малыми, проявились только в пятой значащей цифре, и, следовательно, находятся на

пределе возможной точности их определения. Обусловленный этим разброс данных может быть скомпенсирован сглаживанием значений ИУ, для чего был применен алгоритм, охарактеризованный в работе [21].

Другими факторами, уменьшающими степень зависимости ИУ от соотношения целевых и реперных компонентов, являются температура анализа [13] (значения коэффициентов k в соотношении (4) снижаются с ростом температуры) и разбавление проб [14] (уменьшаются при разбавлении), однако во всех случаях рассматриваемый эффект полностью устранен быть не может.

Существенно меньшие проявления зависимости $RI(\gamma)$ для капиллярных колонок по сравнению с насадочными, обуславливают их дополнительные преимущества в современной хроматографической практике. Конечно же, предпочтительное использование капиллярных колонок объясняется, прежде всего, их большей эффективностью. Это исключает необходимость решения проблем повышения селективности разделения (в случае насадочных колонок) путем специального подбора неподвижных фаз, что было весьма «популярно» в начальный период развития газовой хроматографии. Кроме того, при равных площадях хроматографических пиков их меньшая ширина и большие высоты при использовании капиллярных колонок обуславливают меньшие пределы обнаружения. Материал современных WCOT колонок (плавный кварц) обеспечивает значительно большую инертность капиллярных хроматографических систем [9], по сравнению с насадочными,

содержащими неподвижные фазы на диатомовых носителях. К этому перечню преимуществ необходимо добавить, что влияние соотношения целевых и реперных компонентов в случае капиллярных колонок существенно меньше, что приводит к большей воспроизводимости определяемых с их использованием ИУ. В первом приближении можно считать, что эффекты зависимости $RI(\gamma)$ пропорциональны ширине хроматографических пиков в единицах ИУ, т.е., ориентировочно, 1-3 ед. инд. для капиллярных и 10-30 ед. инд. для насадочных колонок (а иногда и более, что иллюстрирует рис. 3, а). С другой стороны, характеристика самого эффекта $RI(\gamma)$ более наглядна на примере насадочных колонок, что и было использовано в работах [13, 14].

Существование зависимости $RI(\gamma)$ позволяет объяснить многие, казалось бы, парадоксальные особенности ИУ в хроматографии. Прежде всего, даже для капиллярных колонок обусловленные ею вариации ИУ не могут быть менее 1-3 ед. инд. Отсюда следует важнейший вывод, касающийся представления индексов удерживания как в оригинальных публикациях, так и, особенно, в базах данных (в том числе [4]): **приведение десятых и, тем более, сотых долей в значениях ИУ некорректно**. По числу значащих цифр в значениях ИУ самой «провокационной» работой представляется публикация Сояка и Рикса (1976 г.) [22], авторы которой за счет особо прецизионного термостатирования хроматографической колонки (до сотых долей градуса) добились воспроизводимости ИУ на уровне $\pm 0.01-0.02$. В таком случае ИУ, например, бензола (неподвижная фаза сквалан, 100 °С) равен 644.42. Однако, как следует из приведенного выше обсуждения, **столь высокая точность достижима только для идентичных образцов с постоянными соотношениями целевых и реперных компонентов**. Несложно заключить, насколько такая рекомендация «ценна» для хроматографической практики. Неудивительно, что с момента публикации статьи [22] никто не пытался воспроизвести подобные условия определения ИУ для достижения декларированной авторами точности.

С другой стороны, известны многочисленные примеры, иллюстрирующие вариации ИУ в фиксированных условиях хроматографического разделения. Так, в работе [23] была выполнена даже хемометрическая характеристика подобного разброса ИУ на насадочных колонках, но без выяснения ее причин. С учетом изложенного выше можно вполне обоснованно полагать, что наиболее вероятной из них являются неконтролируемые вариации отношения γ для разных

образцов и, следовательно, проявление зависимости $RI(\gamma)$.

Резюмируя, следует еще раз отметить, что любые попытки и рекомендации замены непосредственно определяемых экспериментальных значений ИУ величинами, приведенными к некоторым стандартным температурам (в том числе 0 и 100 °С), можно считать бесперспективными именно потому, что проявления зависимости $RI(\gamma)$ могут быть сопоставимыми с температурной зависимостью этих хроматографических параметров.

Рассмотренные эффекты влияния соотношения количеств определяемых и реперных компонентов на значения ИУ не ограничены только газовой хроматографией, а наблюдаются также в обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и, скорее всего, в других хроматографических и родственных методах разделения.

Заключение

Хромато-масс-спектрометрия в настоящее время относится к наиболее информативным гибридным (хроматографическое разделение и спектральное детектирование) методам идентификации компонентов сложных смесей. Между тем, распространенное представление, что при интерпретации результатов хромато-масс-спектрометрического анализа можно ограничиться рассмотрением только масс-спектров и не принимать во внимание хроматографические параметры (индексы удерживания) некорректно. Именно эти одномерные хроматографические параметры позволяют выявлять не различимые по масс-спектрам фрагменты структуры молекул органических соединений.

Корректное использование хроматографической информации предполагает знание основных факторов, снижающих межлабораторную воспроизводимость ИУ и, следовательно, возможности их использования для идентификации. Хорошо известная температурная зависимость ИУ не является единственным из них. Определение ИУ предполагает анализ образцов совместно с набором реперных компонентов (параллельно или в смеси), однако относительные количества целевых компонентов и реперов обычно не контролируют. Именно с этим связан второй фактор: зависимость ИУ от соотношения характеризуемых и реперных компонентов.

Для насадочных колонок вариации ИУ за счет этого фактора могут достигать нескольких десятков. В случае капиллярных они на порядок меньше, что обуславливает дополнительные преимущества таких колонок в аналитической практике. Другими важными следствиями обсуждаемой зависимости оказываются:

– значения индексов удерживания не имеет смысла представлять с указанием в них десятых и, тем более, сотых долей;

– любые попытки компенсации температурной зависимости ИУ путем их приведения к некоторым стандартным температурам представляются бесперспективными, так как она «маскируется» зависимостью ИУ от соотношения компонентов образцов.

Тем не менее, выявление указанных источников межлабораторного разброса ИУ не снижает ценности этих параметров, а лишь объясняет его причины. Роль индексов удерживания в хроматографической и хроматомасс-спектрометрической идентификации остается крайне важной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zenkevich I.G. // Партнеры и конкуренты. 2004. № 5. С. 18-25.
2. Kovats E. // Helv. Chim. Acta. 1958. V. 41. P. 1915-1932.
3. Zenkevich I.G. Kovats' Retention Index System // Encyclopedia of Chromatography / Ed. J. Cazes. 3rd Edn. New York: Taylor & Francis. 2010. V. 2. P. 1304-1310.
4. NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (2008). Software/Binary Version. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899; NIST Standard Reference Database, Number 69, August 2008. [Электронный ресурс]: <http://webbook.nist.gov> (дата обращения: октябрь 2010).
5. Halang W.A., Langlais R., Kugler E. // Anal. Chem. 1978. V. 50, № 13. P. 1829-1932.
6. Zenkevich I.G., Ioffe B.V. // J. Chromatogr. 1988. V. 439. P. 185-194.
7. Вигдергауз М.С., Семенченко Л.В., Езрец В.А., Богословский Ю.Н. Качественный газохроматографический анализ. М.: Наука, 1978. 244 с.
8. Berezkin V.G., Retunsky V.N. // J. Chromatogr. 1984. V. 292. P. 9-17.
9. Zenkevich I.G., Макаров Е.Д., Макаров А.А., Климова И.О. // Аналитика и контроль. 2006. Т. 10, № 2. С. 175-183.
10. Albrecht J., Verzele M. // Chromatographia. 1971. V. 4. P. 419-421.
11. Березкин В.Г., Королев А.А. // Ж. аналит. химии. 1993. Т. 48, № 8. С. 1355-1360.
12. Vernon F., Suratman J.B. // Chromatographia. 1983. V. 17, № 11. P. 597-599.
13. Zenkevich I.G., Цибульская И.А. // Ж. аналит. химии. 1989. Т. 44, № 1. С. 90-96.
14. Zenkevich I.G., Ивлева Е.С. // Ж. аналит. химии. 2011. Т. 66. В печати.
15. Boneva S., Dimov N. // Chromatographia. 1986. V. 21. № 2. P. 697-700.
16. Skrbic B.D., Cveanov J.D. // Chromatographia. 1992. V. 34, № 12. P. 83-84.
17. Skrbic B.D. // J. Chromatogr. A. 1997. V. 764. P. 257-264.
18. Zenkevich I.G., Babushok V.I., Linstrom P.J., White E., Stein S.E. // J. Chromatogr. A. 2009. V. 1216. P. 6651-6661.
19. Zenkevich I.G. // Вестн. СПбГУ. Сер. физ.-хим. 1998. Вып. 2. С. 84-90.
20. Линник Ю.В. Метод наименьших квадратов и основы теории обработки наблюдений. М.: Гос. изд. физ.-мат. литературы. 1959. 334 с.
21. Zenkevich I.G., Кушакова А.С., Мамедова Ф.Т. // Аналитика и контроль. 2009. Т. 13, № 2. С. 106-113.
22. Sojak L., Rijks J.A. // J. Chromatogr. 1976. V. 119. P. 505-521.
23. Heberger K. // Anal. Chim. Acta. 1989. V. 223. P. 161-174.

PRINCIPAL FACTORS INFLUENCING INTERLABORATORY REPRODUCIBILITY OF GAS CHROMATOGRAPHIC RETENTION INDICES

I.G. Zenkevich, E.S. Ukolova

The concept of retention indices is used in chromatography for rather long time (since 1958). Despite that, one of the principal factors influencing interlaboratory reproducibility of these parameters – the ratio of amounts of target analytes and reference compounds – remains to be out of valuable consideration up to present. However, just this factor determines the effectiveness of chromatographic identification using retention indices.

Keywords: chromatographic retention indices, interlaboratory reproducibility, ratio of amounts of target analytes and reference compounds.