

## Компенсация эффектов дискриминации при дозировании проб в капиллярные колонки с делением потока

**\*И.Г. Зенкевич, Е. Лелеев**

*Санкт-Петербургский государственный университет,  
Российская Федерация, 198504, С-Петербург, Университетский просп., 26*

*\*Адрес для переписки: Зенкевич Игорь Георгиевич, E-mail: izenkevich@yandex.ru*

Поступила в редакцию 18 декабря 2018 г.

Дозирование проб в капиллярные газохроматографические колонки с делением потока газа-носителя практически всегда сопровождается искажениями (дискриминацией) их количественного состава, особенно при малых делениях потока. Основной эффект представляет собой зависимость абсолютных площадей пиков различных компонентов проб от температуры испарителя. Это делает невозможным сравнение результатов анализа проб в разных растворителях и при разных температурах дозирования. Подавление таких эффектов возможно только при дозировании проб без сброса в насадочные колонки или с использованием техники "splitless injection". Однако, поскольку искажения абсолютных площадей пиков разных компонентов одних и тех же проб симбатны, то отношения площадей пиков определяемых компонентов к площадям пиков растворителя характеризуются заметным постоянством. Следовательно, использование относительных площадей пиков вместо абсолютных позволяет компенсировать проявления эффектов дискриминации при дозировании проб в капиллярные колонки с делением потока, не устрояя самих этих эффектов. Возможности предлагаемого способа компенсации эффектов дискриминации охарактеризованы на примере растворов модельных компонентов в полярном высококипящем растворителе 1,2-пропандиоле в интервале температур испарителя от 120 до 240 °С. Показано, что погрешности количественных определений способом стандартной добавки при использовании отношений площадей пиков составляют в среднем -1.3 % отн. Более того, этот прием дает возможность варьирования температуры испарителя без снижения точности результатов, что ранее считали невозможным.

**Ключевые слова:** Газовая хроматография, капиллярные колонки, дозирование с делением потока, отношения площадей пиков к площадям пиков растворителя, компенсация эффектов дискриминации.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2019, vol. 23, no. 1, pp. 110–119

DOI: 10.15826/analitika.2019.23.1.012

## Compensation of discrimination effects of split injection into capillary columns

**\*Igor G. Zenkevich, Eugene Leleev**

*St. Petersburg State University, Universitetskii prosp., 26, St. Petersburg, 198504, Russian Federation*

*\*Corresponding author: Igor G. Zenkevich, E-mail: izenkevich@yandex.ru*

Submitted 18 December 2018

Split injection of samples into capillary gas chromatographic columns is almost always accompanied by distortions (discrimination) of their composition, especially at a low split ratio. The principal effect is the dependence of absolute peak areas of various constituents vs. the injector temperature. It makes impossible comparing the analytical results for the samples in different solvents and at various injection temperatures. Suppressing these effects is possible only by using splitless injection technique or packed chromatographic columns. However, since the absolute peak areas distortions of various constituents of the same samples are similar, the ratios of peak areas of target components to the peak areas of the solvent appear to be close to constants. Hence, using these relative peak areas instead of absolute values allows compensating the manifestations of discrimination effects during the split injections into capillary columns, but that does not mean the elimination of these effects. The possibilities of the considered approach were characterized on the example of the solution of model analytes in polar high boiling solvent – 1,2-propanediol – within the injector

temperature range from 120 to 240°C. It is concluded that average quantification errors in this case by the method of standard addition are about -1.3% rel. Moreover, it allowed changing the injector temperature without decreasing the precision of the results that was previously considered impossible.

**Keywords:** Gas chromatography, capillary columns, split injection, ratio of peak areas of target analytes to peak areas of solvent, compensation of discrimination effects

## ВВЕДЕНИЕ

Дискриминация количественного состава проб при их дозировании в капиллярные колонки с делением потока представляет собой один из самых «загадочных» эффектов в газовой хроматографии. Часто его связывают с искажением состава образцов, в частности, с непропорциональным уменьшением относительных площадей пиков высококипящих компонентов по сравнению с их реальным содержанием. Однако такие искажения более соответствуют представлениям о недостаточной инертности хроматографических систем, непосредственно не связаны со способами дозирования проб и могут быть полностью или частично устранены повышением температуры испарителя и/или колонки [1].

Эффекты дискриминации проявляются вне зависимости от химической природы или летучести компонентов образцов [2-4]. Основной из них связан с увеличением абсолютных площадей пиков при повышении температуры испарителя. Предложенное еще в начале 1980-х гг. объяснение этого эффекта основано на предположении о несоответствии реального деления паров пробы заданной величине деления потока газа-носителя за счет различий температур испарителя и колонки в момент дозирования [2]. Особые сложности в работе создает непостоянство этой величины и ее зависимость от температуры кипения используемого растворителя. При этом относительные площади пиков различных компонентов одних и тех же образцов сохраняются достаточно постоянными [3, 4], что означает применимость такого способа количественного анализа как способ внутренней нормализации. Другие же способы количественного анализа (внешнего стандарта, абсолютной градуировки, внутреннего стандарта и стандартной добавки) в условиях проявления эффектов дискриминации применимы только при постоянстве всех условий дозирования проб, включая использование одного и того же растворителя для приготовления характеризующихся и градуировочных образцов.

Однако существуют задачи, которые принципиально не могут быть решены при использовании идентичных условий дозирования различных образцов. Одной из них является определение коэффициентов распределения ( $K_p$ ) аналитов между двумя ограниченно смешивающимися жидкостями – так называемый хромато-распределительный метод [5]. Простейший способ определения  $K_p$  – вычисление отношений площадей пиков одних и тех же компонентов ( $S_i$ ) для двух слоев гетерофазных систем в результате последовательного дозирования соответствующих проб равного объема:

$$K_p = C_1 / C_2 \approx S_1 / S_2, \quad (1)$$

где  $C_1$  и  $C_2$  – равновесные концентрации характеризующего компонента в сосуществующих слоях гетерофазной системы (обычно рассматривают отношение концентраций в неполярном растворителе к концентрациям в полярном).

Однако столь простой способ применим при дозировании проб только в насадочные хроматографические колонки, что в руководстве [5] специально не было отмечено. При использовании капиллярных колонок с делением потока отношения (1) и, следовательно, определяемые значения  $K_p$ , могут быть непредсказуемым образом искажены за счет проявления эффектов дискриминации. Переход к относительным величинам за счет использования стандартов с известными значениями  $K_p$  (станд.) не устраняет их проявления. Именно по этой причине в работах [6-9] для определения  $K_p$  применяли только насадочные колонки, когда отсутствие сброса гарантирует корректность соотношения (1). Предложен прием, предполагающий испарение низкокипящего неполярного растворителя и перерастворение компонентов в одном и том же полярном растворителе, например, соответствующем второму слою гетерофазной системы. Однако такой прием применим только к малолетучим аналитам, например, пестицидам [10]. Известен и иной способ определения  $K_p$ , основанный на дозировании одного и того же слоя до и после добавки второго растворителя [5]. Однако он существенно более сложен экспериментально из-за необходимости точного определения объемов сосуществующих фаз, а точность определения  $K_p$  при этом значительно меньше.

При решении специальных задач варьирование температуры испарителя при использовании капиллярных колонок представляет собой важную стадию выбора условий анализа. Это необходимо, например, для образцов в высококипящих полярных органических растворителях, в том числе при контроле состава синтетических пищевых ароматизаторов, представляющих собой растворы сложных наборов компонентов в пропиленгликоле (1,2-пропандиол), дипропиленгликоле и т.п. [4]. Во всех таких случаях избежать проявлений эффектов дискриминации невозможно.

Таким образом, устранение эффектов дискриминации возможно либо при дозировании проб в насадочные колонки (с потерей эффективности разделения), либо в капиллярные без сброса (splitless injection). Альтернативный подход мог бы представлять компенсацию таких эффектов на стадии обработки данных, однако до настоящего времени

подобные попытки неизвестны. Поиск возможных способов такой компенсации и является целью настоящей работы.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Приготовление растворов модельных соединений.** Для характеристики эффектов дискриминации выбраны одиннадцать компонентов (все квалификации «х.ч.», «для хроматографии») с индексами удерживания на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых фазах в интервале ~600–1050, из которых были приготовлены несколько модельных смесей разного состава. Для исключения возможностей перекрытия пиков разных компонентов между собой и с растворителем (для растворов в пропиленгликоле) сопоставляли справочные значения их индексов удерживания ( $R_I$ ) на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах [11]. В табл. 1 и табл. 2 (см. далее) компоненты перечислены в порядке их элюирования [по возрастанию индексов удерживания  $R_I$ ].

Растворы выбранных компонентов в 2-пропаноле (ХЧ) и 1,2-пропандиоле (ХЧ,  $T_{\text{кип}} = 186\text{--}188^\circ\text{C}$ , использовали без дополнительной очистки) готовили дозированием 100–200 мкл каждого из них в

2 мл растворителя во флаконах емкостью 10 мл. Для вычисления массо-объемных концентраций компонентов использовали справочные значения их относительных плотностей при  $20^\circ\text{C}$ .

Для моделирования количественного анализа методом стандартной добавки растворяли 100 мкл изопропилбутирата, 100 и 200 мкл ацетофенона в 2 мл 1,2-пропандиола. Концентрация ацетофенона в первом из них 46.7 мг/мл, во втором – 89.4 мг/мл, что соответствует ее увеличению за счет стандартной добавки на 42.7 мг/мл.

**Газохроматографический анализ** образцов проводили на хроматографе Кристалл 5000.2 с пламенно-ионизационным детектором с использованием кварцевой капиллярной колонки (типа Megabore) с неподвижной фазой ВРХ-1 длиной 10 м, внутренним диаметром 0.53 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 2.65 мкм. Температурный режим: линейное программирование температуры от  $80^\circ\text{C}$  со скоростью 5 град/мин. Газ-носитель – азот, объемная скорость 4.9 мл/мин (линейная скорость 42.4 см/с),

- 1 Начальная температура колонки выбрана одинаковой для всех образцов для исключения неопределенностей, обусловленных ее варьированием.

**Таблица 1**

Отношения площадей пиков различных аналитов к площадям пиков растворителя (пропиленгликоль),  $S_{\text{отн}} = (S/S_{\text{раств}}) \cdot 10^2$  (дозирование с использованием автосамплера)

**Table 1**

Ratios of peak areas of different analytes to peak areas of the solvent (propylene glycol)  $S_{\text{rel}} = (S/S_{\text{solvent}}) \cdot 10^2$  (injection using autosampler)

Аналит	$R_I$	Температура испарителя, °C				
		120	150	180	210	240
2-Пентанон	667 ± 5	6.11*; 6.15; 6.10; 6.09	6.41; 6.46; 6.42	6.44; 6.47; 6.44	6.43; 6.41; 6.43	6.42; 6.43; 6.45
Изобутанол	614 ± 6	5.86; 6.28; 6.03; 6.02	5.79; 5.82; 5.82	5.80; 5.85; 5.81	5.79; 5.79; 5.78	5.78; 5.79; 5.78
Дибутиловый эфир	858 ± 3	6.58; 6.68; 6.71; 6.90	6.67; 6.68; 6.69	6.68; 6.70; 6.72	6.67; 6.64; 6.68	6.71; 6.67; 6.76
Кумол	919 ± 7	9.83; 10.03; 10.04; 10.08	9.98; 9.99; 9.97	9.98; 10.02; 10.00	9.99; 9.96; 9.99	9.94; 10.05; 10.09

Примечание: \* – курсивом здесь и далее выделены значения, не соответствующие уравнениям линейной регрессии.

**Таблица 2**

Параметры уравнений линейной регрессии  $S(\text{аналит})/S(\text{растворитель}) = aT_{\text{исп}} + b$  для различных аналитов (растворитель 1,2-пропандиол, дозирование с использованием автосамплера)

**Table 2**

Parameters of linear regression  $S(\text{analyte})/S(\text{solvent}) = aT_{\text{inj}} + b$  for different analytes (solvent 1,2-propanediol, injection using autosampler)

Аналит	Среднее значение $S_{\text{отн}} \cdot 10^2$	$a \cdot 10^4$	$b \cdot 10^2$	$R$	$S_0$
2-Пентанон*	(6.43 ± 0.02)	(-0.6 ± 1.7)	(6.44 ± 0.03)	-0.10	0.02
Изобутанол*	(5.80 ± 0.02)	(-3.8 ± 1.5)	(5.87 ± 0.03)	-0.62	0.01
Дибутиловый эфир	(6.69 ± 0.03)	(0.9 ± 2.0)	(6.67 ± 0.04)	0.13	0.03
Кумол	(10.00 ± 0.06) × 10 <sup>-2</sup>	(1.9 ± 3.6)	(9.96 ± 0.07)	0.14	0.06

Примечание: \* – параметры уравнений линейной регрессии для 2-пентанола и изобутанола указаны без данных для температуры  $120^\circ\text{C}$ .

деление потока на сброс и в колонку во всех случаях составляло 3 : 1. Температуру испарителя варьировали от 120 до 240 °С с шагом 30 °С. Для ввода проб в ручном режиме использовали микрошприц МШ-10, в автоматическом – автосамплер ДАЖ-2М (СКБ Хроматек, Йошкар-Ола); объем проб в обоих случаях 0.4 мкл, число параллельных дозирования каждого из образцов в каждом из режимов не менее трех. Дозируемые количества всех аналитов при выбранном делении потока не превышали ранее установленного предела массовой перегрузки используемой колонки ( $17 \pm 4$  мкг) [12]. Количество же растворителя в пробах значительно превышало этот предел, что объясняет существенное уширение его пиков и их асимметрию.

**Обработка результатов.** Статистическую обработку площадей пиков и вычисление их отношений проводили с использованием программного обеспечения Excel (Microsoft Office 2010). Для вычисления параметров регрессионных уравнений и построения графиков дополнительно применяли программное обеспечение Origin (версия 4.1). В качестве источников информации по газохроматографическим индексам удерживания на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах и, соответственно, предсказания порядка элюирования компонентов, использовали базу данных [11] (версия 2017 г.). Интегрирование площадей пиков компонентов проводили в стандартном автоматическом режиме, для пика пропиленгликоля разметку области интегрирования проводили вручную.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Возможность компенсации эффектов дискриминации.** Рассматриваемые в настоящем сообщении проявления эффектов дискриминации для проб в разных растворителях (2-пропанол и 1,2-пропандиол) полностью соответствуют ранее охарактеризованным [3, 4]. По этой причине для некоторого сокращения объема обсуждения результатов представляется целесообразным начать рассмотрение результатов с растворов в малолетучем вязком полярном 1,2-пропандиоле. Анализ таких образцов представляет наибольший интерес, так как он сложнее, чем образцов, содержащих летучие растворители [4].

На рис. 1 приведен график зависимости средних абсолютных площадей хроматографических пиков одного из компонентов модельных растворов в 1,2-пропандиоле – 2-пентанона – от температуры испарителя в диапазоне 120–240 °С. За исключением первой точки для остальных четырех наблюдается монотонное увеличение приблизительно от  $8.3 \cdot 10^4$  до  $8.6 \cdot 10^4$  мВ·мс. Подобная зависимость, выраженная в большей или меньшей степени для разных растворителей, и составляет суть дискриминации состава проб при их дозировании в капиллярные колонки с делением потока. Как отмечено во введении, ее можно игнорировать за счет соблюдения

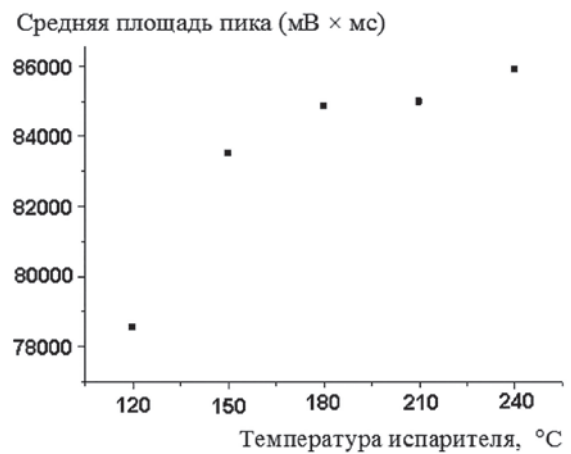


Рис. 1. Зависимость средних площадей пиков 2-пентанона (растворы в 1,2-пропандиоле) от температуры испарителя.

Fig. 1. Dependence of average peak areas of 2-pentanone vs. injector temperature (solutions in 1,2-propanediol).

постоянных условий анализа проб или устранить при использовании насадочных колонок. Способы компенсации такой зависимости на стадии обработки результатов до настоящего времени неизвестны.

Однако если мы рассмотрим зависимость площадей пиков растворителя (пропиленгликоль) в тех же пробах от температуры испарителя в том же интервале температур 120–240 °С, то она также оказывается монотонно возрастающей (рис. 2), причем без выраженной аномалии для первой точки.

Если изменения площадей пиков растворенного компонента и растворителя за счет эффектов дискриминации, по крайней мере, симбатны, то их можно скомпенсировать, перейдя от рассмотрения абсолютных площадей пиков к относительным величинам,  $S(\text{аналит})/S(\text{растворитель})$ . Для иллюстрации эффективности подобного преобразования сначала целесообразно рассмотреть графическое представление данных. Рис. 3, а-г иллюстрируют отсутствие выраженных

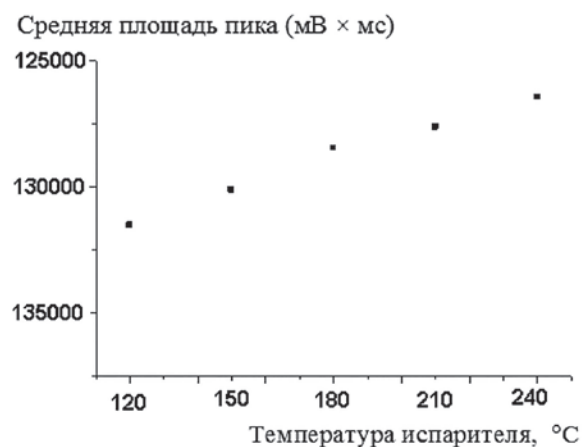


Рис. 2. Зависимость средних площадей пиков растворителя (1,2-пропандиол) от температуры испарителя.

Fig. 2. Dependence of average peak areas of solvent (1,2-propanediol) vs. injector temperature.

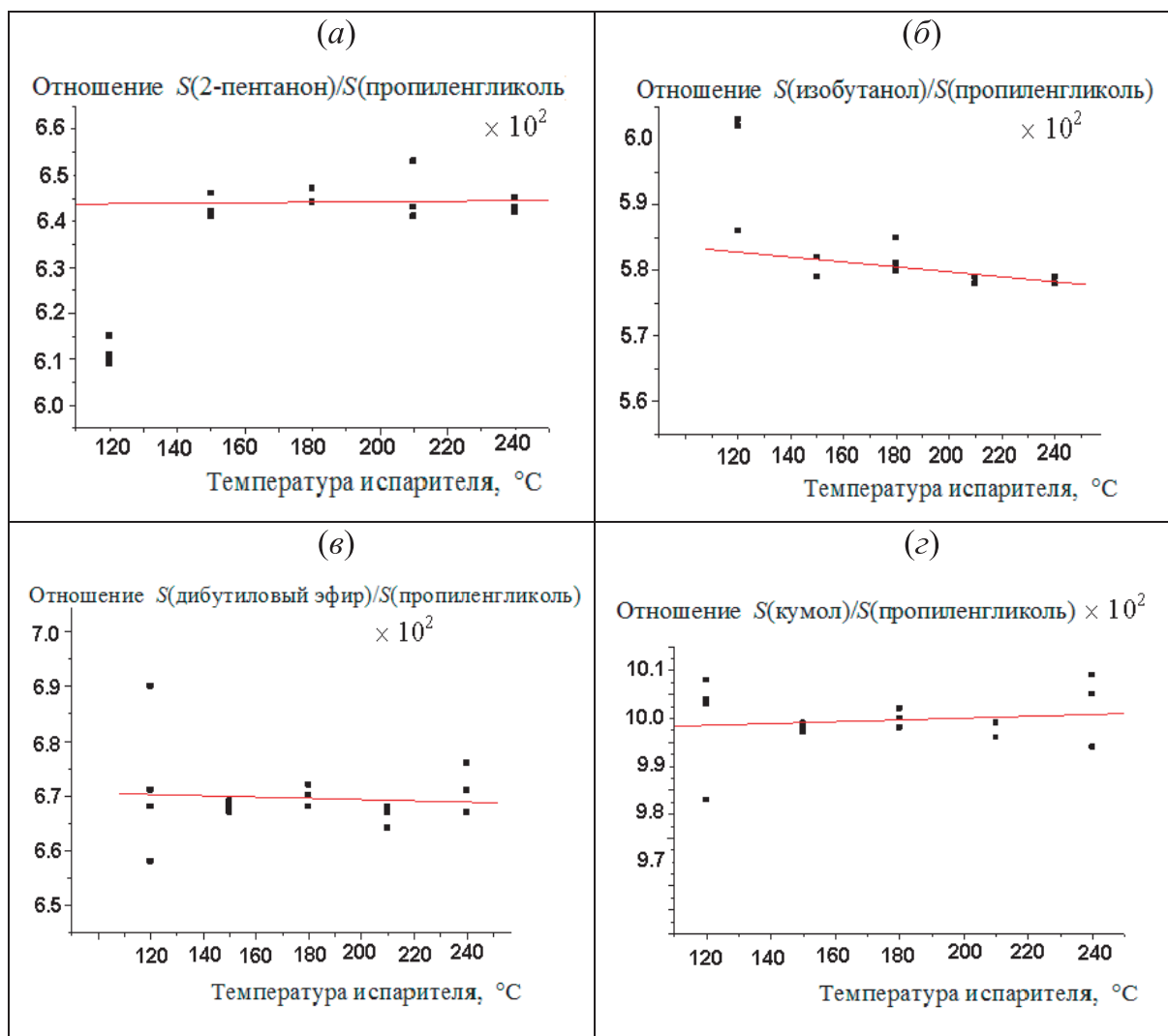


Рис. 3. Графическая иллюстрация отсутствия выраженной зависимости относительных площадей  $S(\text{аналит})/S(\text{растворитель}) \cdot 10^2$  для компонентов модельных смесей от температуры испарителя в интервале 120-240 °С; 2-пентанона (а), изобутилового спирта (б), дибутилового эфира (в) и кумола (г).

Fig. 3. Graphical illustration of the absence of unambiguous dependence of relative peak areas  $S(\text{analyte})/S(\text{solvent}) \cdot 10^2$  for the constituents of model mixtures vs. injector temperature within the range of 120-240 °С; 2-pentanol (а) isobutyl alcohol (б), dibutyl ether (в), and cumene (д).

зависимостей относительных площадей пиков  $S_{\text{отн}} = S(\text{аналит})/S(\text{растворитель}) \cdot 10^2$  от температуры испарителя для четырех компонентов модельных растворов (в одних и тех же образцах): 2-пентанона (а), изобутилового спирта (б), дибутилового эфира (в) и кумола (г). Единственной заметной особенностью представляются аномальные значения  $S_{\text{отн}}$  при температурах испарителя 120 °С в случаях (а) и (б) и заметно больший разброс точек при температурах 120 и 240 °С в случаях (в) и (г). Для объяснения этих эффектов целесообразно сравнить начальные участки хроматограммы модельной смеси при разных температурах испарителя, приведенных на рис. 4, а-б. При малой температуре испарителя хроматографические пики элюируемых до растворителя компонентов оказываются сильно размытыми и асимметричными (а), что обусловлено относительно медленным испарением полярного растворителя и большой шириной его хроматографической зоны. При высокой температуре испарителя симметрия

этих пиков заметно увеличивается (б). Размывание пиков летучих компонентов при низких температурах дозирования может быть объяснено известным в газовой хроматографии эффектом динамической модификации неподвижной фазы колонки мажорными компонентами анализируемых проб [12].

Возможность использования растворителя как внутреннего стандарта при количественном газохроматографическом анализе, насколько известно авторам настоящего сообщения, впервые была реализована С.В. Черепицей (Белорусский государственный университет) при определении примесей в этиловом спирте и спиртосодержащих продуктах [13-15]. В работах [16-18] этот подход был обобщен до уровня использования дополнительных стандартов для количественного анализа, что оказалось наиболее эффективным в методах внешнего стандарта и стандартной добавки. В качестве таких стандартов можно использовать как

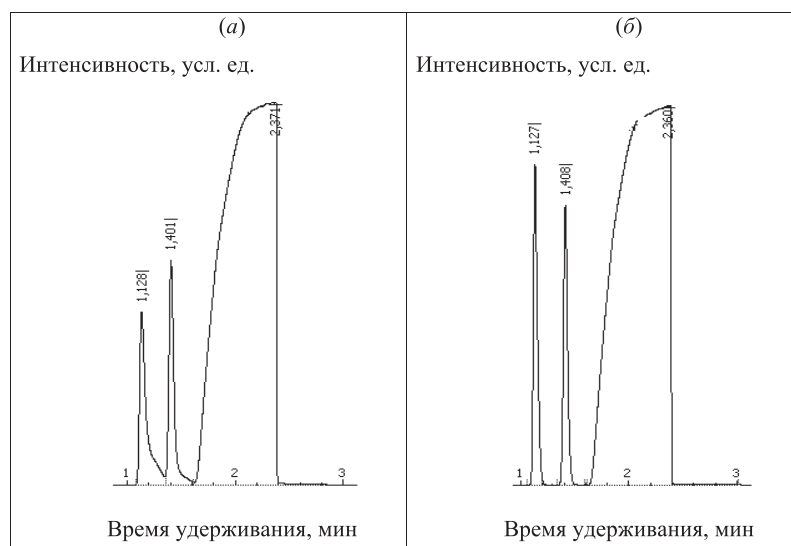


Рис. 4. Начальные участки хроматограмм модельных смесей с пиками 2-пентанона и изобутилового спирта, элюируемых до растворителя (1,2-пропандиол) при температурах испарителя 120 °С (а) и 240 °С (б). Числа над пиками – их времена удерживания.

Fig. 4. Initial parts of chromatograms of model mixtures with peaks of 2-pentanone and isobutyl alcohol being eluted before the solvent (1,2-propanediol) at the injector temperatures of 120°C (a) and 240°C (б). The numbers indicated above the peaks – their retention times.

дополнительно вводимые в образцы компоненты, так и входящие в их состав растворители.

На следующем «уровне» анализа зависимостей  $S(\text{аналит})/S(\text{растворитель}) = f(T_{\text{исп}})$  целесообразен их более детальный математический анализ. В табл. 1 приведены относительные площади пиков различных аналитов (растворы в 1,2-пропандиоле), перечисленных в порядке их элюирования из хроматографической колонки (по увеличению  $Rf$ ), при разных температурах испарителя в диапазоне от 120 до 240 °С. В табл. 2 представлены вычисленные на основе этих данных параметры уравнений линейной регрессии вида  $S_{\text{отн}} = S(\text{аналит})/S(\text{растворитель}) = aT_{\text{исп}} + b$ . Подтверждением отсутствия такой зависимости являются не абсолютные значения коэффициентов корреляции (достаточно малы: от 0.10 до 0.62) и не малые значения коэффициентов «а» (от  $-3.8 \cdot 10^{-4}$  до  $+1.9 \cdot 10^{-4}$ ). Такое отсутствие лучше всего характеризует близость коэффициентов «b» линейной регрессии (варьируют от  $5.87 \cdot 10^{-2}$  до  $9.96 \cdot 10^{-2}$ ) и среднеарифметических значений

$S_{\text{отн}}$  (варьируют от  $5.80 \cdot 10^{-2}$  до  $10.00 \cdot 10^{-2}$ ), среднее значение разностей которых (без учета знака) составляет 0.04, а с учетом знака равно нулю. Еще одним критерием является сравнение абсолютных величин коэффициентов «а» со значениями дисперсий ( $S_0$  – средняя погрешность аппроксимации с использованием полученного уравнения), величины которой варьируют в диапазоне  $(1-6) \cdot 10^{-2}$ , что превышает значения  $|a|$ , которые, следовательно, оказываются статистически незначимыми.

С другой стороны, значения  $S_0$  косвенно иллюстрируют общую воспроизводимость дозирования проб, которая в данном случае (при использовании автосамплера) оказывается достаточно высокой.

Другим примером является возможность аналогичной компенсации дискриминации проб в летучем растворителе – 2-пропанол. Все данные для таких образцов получены не с помощью автосамплера, а в результате дозирования проб вручную. В табл. 3 приведены относительные площади пиков другого набора аналитов (раствор в 2-пропанол), перечис-

**Таблица 3**

Зависимость средних относительных площадей пиков  $S_{\text{отн}} = (S/S_{\text{раств}}) \cdot 10^2$  от температуры испарителя для растворов в 2-пропанол (дозирование вручную)

**Table 3**

Dependence of average relative peak areas  $S_{\text{rel}} = (S/S_{\text{soliv}}) \cdot 10^2$  on the injection temperature for the solution in 2-propanol (manual injection)

Компонент	$Rf$	Температура испарителя, °С				
		120	150	180	210	240
Бутилацетат	$796 \pm 3$	3.6	3.8	3.6	3.4	3.3
Циклогексанон	$871 \pm 7$	4.9	4.8	5.0	5.0	5.0
Анизол	$902 \pm 6$	5.5	5.4	5.2	4.9	4.9
Бутилбутират	$978 \pm 5$	5.3	5.2	5.4	5.5	5.5
Ацетофенон	$1042 \pm 9$	6.0	5.7	6.2	6.5	6.6

Таблица 4

Параметры уравнений линейной регрессии  $S(\text{аналит})/S(\text{растворитель}) = aT_{\text{исп}} + b$  для различных аналитов (растворитель 2-пропанол, дозирование вручную)

Table 4

Parameters of linear regression  $S(\text{analyte})/S(\text{solvent}) = aT_{\text{inj}} + b$  for different analytes (solvent 2-propanol, manual injection)

Компонент	Среднее значение $S_{\text{отн}} \cdot 10^2$	Параметры уравнения $S_{\text{отн}} = aT_{\text{исп}} + b$			
		$a \cdot 10^3$	$b \cdot 10^2$	$R$	$S_0$
Бутилацетат	$3.5 \pm 0.2$	$-(3.3 \pm 1.4)$	$4.1 \pm 0.3$	-0.811	0.13
Циклогексанон	$4.9 \pm 0.1$	$(1.3 \pm 0.8)$	$4.7 \pm 0.1$	0.707	0.07
Анизол	$5.2 \pm 0.3$	$-(5.7 \pm 0.8)$	$6.2 \pm 0.2$	-0.969	0.08
Бутилбутират	$5.4 \pm 0.1$	$(2.3 \pm 0.8)$	$5.0 \pm 0.2$	0.849	0.08
Ацетофенон	$6.2 \pm 0.4$	$(6.7 \pm 2.3)$	$5.0 \pm 0.4$	0.861	0.22

ленных в порядке их элюирования при температурах испарителя в таком же диапазоне от 120 до 240 °С, а в табл. 4 приведены соответствующие параметры уравнений  $S_{\text{отн}} = S(\text{аналит})/S(\text{растворитель}) = aT_{\text{исп}} + b$ . При дозировании проб в низкокипящих растворителях зависимости  $S_{\text{отн}} = f(T_{\text{исп}})$  выражены в гораздо большей степени, что проявляется в увеличении абсолютных значений коэффициентов корреляции до (0.71 – 0.97). Тем не менее, и в этом случае коэффициенты « $b$ » уравнений линейной регрессии (варьируют от  $4.1 \cdot 10^{-2}$  до  $6.2 \cdot 10^{-2}$ ) близки к среднеарифметическим значениям  $S_{\text{отн}}$  (варьируют от  $3.5 \cdot 10^{-2}$  до  $6.2 \cdot 10^{-2}$ ). Среднее значение их разности (без учета знака) составляет 0.7, а с учетом знака, как и в предыдущем случае, равно нулю. Второй критерий – сравнение абсолютных величин коэффициентов « $a$ » (варьируют в диапазоне от  $-5.7 \cdot 10^{-2}$  до  $6.7 \cdot 10^{-2}$ ) и дисперсий  $S_0$ , которые варьируют в диапазоне  $(7-22) \cdot 10^{-2}$  и, следовательно, коэффициента « $a$ » статистически не значимы. Кроме того, сравнение значений  $S_0$  при использовании автосамплера  $[(1-6) \cdot 10^{-2}]$  и без него  $[(7-22) \cdot 10^{-2}]$  показывает, что в первом случае разброс точек приблизительно в 7–8 раз меньше, что обусловлено лучшей воспроизводимостью дозирования.

В целом же, замена абсолютных площадей пиков их отношениями к площадям пиков различных растворителей позволяет устранить зависимость этих величин от температуры испарителя и, тем самым, устранить проявления эффектов дискриминации при дозировании проб в капиллярные колонки с делением потока газа-носителя. Такой прием открывает возможности применения различных методов количественного анализа при разных температурах испарителя.

Параллельно с этим, рассмотрение разброса точек на рис. 3,  $a-g$  позволяет уточнить правило выбора оптимальных температур испарителя при дозировании растворов в высококипящих растворителях. При величине  $T_{\text{кип}}$  1,2-пропандиола 186–188 °С наилучшая воспроизводимостью дозирования достигается при температурах  $T_{\text{исп}} = 150-210$  °С, т.е. в диапазоне приблизительно  $\pm 30$  °С от температуры кипения растворителя. Выход за пределы этого диапазона приводит к увеличению разброса площадей

пиков, а для компонентов, элюируемых до полярного растворителя – к существенному уширению их пиков, увеличению их асимметрии и, следовательно, к уменьшению степени их разделения (см. рис. 4).

Предварительные эксперименты с использованием более разбавленных растворов аналитов (с концентрациями на уровне не десятков, а единиц мг/мл) показали, что для них сохраняются все перечисленные проявления эффектов дискриминации. Это подтверждает, что их причиной является природа основного компонента проб, а именно растворителя. Такие эффекты удастся несколько минимизировать при уменьшении дозируемых количеств проб, или же при увеличении деления потока газа-носителя, то есть при использовании стандартных капиллярных колонок, а не типа Megabore. Однако и в этих случаях неизбежные проявления эффектов дискриминации заслуживают специального контроля.

**Применение метода стандартной добавки при варьировании температуры испарителя при использовании капиллярных колонок с делением потока.** Замена абсолютных площадей пиков определяемых аналитов отношениями их площадей к площадям пиков растворителя существенно расширяет возможности количественного анализа. Прежде всего, это существенно увеличивает воспроизводимостью результатов, полученных в разных температурных условиях дозирования проб, несмотря на проявления эффектов дискриминации. Становится возможным сопоставление разных режимов между собой, в частности, градуировка прибора при одной температуре испарителя, а анализ проб – при другой. Детальная характеристика всех таких возможностей в рамках одной публикации нереальна, поэтому в качестве иллюстрации мы ограничились только моделированием применения метода стандартной добавки.

Для этих целей использовали два модельных раствора изопропилбутаноата (контрольный компонент, 100 мкл), ацетофенона (определяемый компонент, 100 мкл в характеризуемом образце и 200 мкл в условном образце после стандартной добавки) в 2 мл 1,2-пропандиола. Такие количества

компонентов соответствуют концентрациям ацетофенона в характеризуемом образце приблизительно 46.7 мг/мл, а после добавки 89.4 мг/мл. Таким образом, увеличение концентрации за счет добавки составляет 42.7 мг/мл. Объем характеризуемого образца равен  $v_1 = 2.2$  мл, а после добавки –  $v_2 = 2.3$  мл, так что отношение  $v_1/v_2 = 0.957$ .

Одно из известных соотношений для вычисления концентрации аналита ( $C_x$ ) в методе стандартной добавки с учетом фактора разбавления проб имеет следующий вид [19, 20]:

$$C_x = C_{доб} / [(S_{x+доб} / S_x) \cdot (v_1 / v_2) - 1], \quad (2)$$

где  $C_{доб}$  – увеличение концентрации аналита за счет стандартной добавки,  $S_x$  и  $S_{x+доб}$  – площади пиков аналита до и после добавки, соответственно.

Смысл сомножителя  $(v_1 / v_2) < 1$  – компенсация разбавления проб за счет увеличения их объема в результате добавки. Если возможностей измерения или оценки изменения объема проб нет, то в качестве фактора разбавления можно использовать отношения площадей пиков любого компонента после и до стандартной добавки, т.е.  $S(i)_2 / S(i)_1 < 1$  [21] (в нашем случае для этих целей в образцы был добавлен изопропилбутират).

В табл. 5 приведены исходные данные для определения концентрации ацетофенона в модельном образце при разных температурах испарителя. Они включают средние значения  $S_x$  и  $S_{x+доб}$ , а также средние значения отношений этих площадей к площадям пиков растворителя,  $(S_x / S_{раств(исх)})$  и  $(S_{x+доб} / S_{раств(доб)})$ . Для удобства представления такие отношения представлены с коэффициентом  $\times 10^2$ . Концентрации определяемого компонента  $C_x$  вычислены как по абсолютным площадям пиков (формула 2), так и по их отношениям к соответствующим площадям пиков растворителя:

$$C_x = C_{доб} / \{[(S_{x+доб} / S_{раств(доб)}) / (S_x / S_{раств(исх)})] \cdot (v_1 / v_2) - 1\}, \quad (3)$$

Исходные данные и результаты определения концентрации ацетофенона в растворе при разных температурах испарителя по абсолютным площадям пиков (S) и их отношениям к площадям пиков растворителя ( $S/S_{раств}$ ). Заданная концентрация ацетофенона 46.7 мг/мл, увеличение концентрации за счет стандартной добавки 42.7 мг/мл, значение фактора разбавления пробы  $(v_1/v_2) = 0.957$

Table 5

Initial data and results of determination of acetophenone concentration in the solution at different injector temperatures using absolute peak areas (S) and their ratios to solvent peak areas ( $S/S_{solv}$ ). Stock concentration of acetophenone is 46.7 mg/mL, increased concentration after standard addition of 42.7 mg/mL, the value of dilution factor is  $(v_1/v_2) = 0.957$

Температура испарителя, °C	Среднее значение $S_x$ , мВ·мс	Среднее значение $S_{x+доб}$ , мВ·мс	Среднее значение $(S_x / S_{раств}) \cdot 10^2$	Среднее значение $(S_{x+доб} / S_{раств}) \cdot 10^2$	$C_x$ по значениям S, мг/мл	$C_x$ по отношениям $(S / S_{раств})$ , мг/мл
120	141115	242886	8.93	18.09	66.0	45.5
150	141287	244563	8.94	18.10	65.1	45.5
180	144935	269842	9.01	18.13	54.6	46.1
210	151323	264794	9.07	18.16	63.3	46.6
240	158458	272049	9.05	18.10	66.4	46.7
Средняя погрешность определения, %					+35	-1.3

где  $S_{раств(исх)}$  и  $S_{раств(доб)}$  – площади пиков растворителя в исходном образце и после стандартной добавки.

Из данных табл. 5 следует, что концентрации ацетофенона, определенные по абсолютным значениям площадей пиков (соотношение 2), сильно завышены по сравнению с заданной (средняя погрешность составляет +35 % отн.). То, что «классическое» соотношение метода стандартной добавки в рассматриваемом случае не обеспечивает приемлемой точности определений можно считать еще одним проявлением эффектов дискриминации состава проб. В то же время использование относительных площадей пиков (соотношение 3) характеризуется ошибками «задано – определено» на уровне всего от -2.6 до 0 % отн. (в среднем -1.3 % отн.). Таким образом, использование площадей пиков растворителя без каких-либо дополнительных экспериментальных операций позволяет повысить точность определений методом стандартной добавки более чем на порядок. Кроме того, открывается возможность анализа пробы при одной температуре испарителя, а пробы с добавкой – при другой. В общем случае это эквивалентно исключению условия постоянства температуры испарителя. Такая возможность настолько уникальна, что ранее ее никогда не принимали во внимание.

В качестве примера рассмотрим вариант дозирования пробы при  $T_{исп} = 120$  °C, а пробы с добавкой при 240 °C. Тогда получаем:

$$C_x = 42.7 / [(18.10 / 8.93) \cdot 0.957 - 1] \approx 45.4 \text{ мг/мл} \quad (\text{задано } 46.7 \text{ мг/мл}).$$

Если исходную пробу дозировали при 210 °C, а пробу с добавкой при 150 °C, то получаем:

$$C_x = 42.7 / [(18.10 / 9.07) \cdot 0.957 - 1] \approx 46.9 \text{ мг/мл}.$$

Использование абсолютных площадей пиков принципиально не может обеспечить достижение столь высокой точности результатов. Число подобных примеров легко может быть увеличено и ограничено только рамками журнальной публикации.

Таблица 5



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявлен простой и эффективный способ компенсации эффектов дискриминации состава проб, наблюдающихся при их дозировании в капиллярные колонки с делением потока, особенно при малых значениях этого параметра. Основной из них представляет собой зависимость абсолютных площадей пиков от температуры испарителя. Однако, поскольку такие искажения выражены симбатно для разных компонентов проб, в том числе растворителей, то использование отношений площадей пиков целевых компонентов к площадям пиков растворителя вместо абсолютных площадей позволяет их компенсировать. На примере количественного анализа способом стандартной добавки показано, что подобная компенсация приводит к существенному увеличению точности количественных определений.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Хроматографический анализ выполнен с использованием оборудования Ресурсного образовательного центра по направлению «Химия» Института химии Санкт-Петербургского государственного университета. Авторы благодарят сотрудников Центра за содействие.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Gas chromatographic analysis of stock samples was carried out using the equipment of "Chemistry" Resource Educational Centre at the Institute for Chemistry of St. Petersburg State University. The authors are grateful to the staff of this Center for assistance.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Зенкевич И.Г., Морозова Т.Е., Кларк-Карская Ю.Ф. Критерий инертности газохроматографических систем // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69, № 12. С. 1242-1253.
2. Grab K., Neukom H.P. Dependence of the splitting ratio on column temperature in split injection capillary gas chromatography // J. Chromatogr. A. 1982. V. 236. P. 297-306.
3. Зенкевич И.Г., Олисов Д.А. Дискриминация состава проб на капиллярных колонках с делением потока. Неожиданные проявления известного эффекта // Лаборатория и производство. 2018, № 2. С. 92-97.
4. Зенкевич И.Г., Лелеев Е. Особенности дозирования и хроматографического разделения проб в высококипящих растворителях с использованием капиллярных колонок при малом делении потока газа-носителя // Аналитика и контроль. 2018. Т. 22, № 3. С. 220-228.
5. Хромато-распределительный метод / В.Г. Березкин [и др.] // М.: Наука, 1976. 112 с.
6. Зенкевич И.Г., Васильев А.В. Сравнительная оценка информативности дополнительных данных при газохроматографической идентификации. Новые возможности использования коэффициентов распределения в системе гексан-ацетонитрил // Журн. аналит. химии. 1993. Т. 48, № 3. С. 473-486.
7. Зенкевич И.Г., Цибульская И.А. Групповая идентификация органических соединений по газохроматографическим ИУ и коэффициентам распределения в системе гексан/нитрометан // Журн. физич. химии. 1997. Т. 71, № 2. С. 341-346.
8. Зенкевич И.Г., Кушакова А.С. Уникальные вариации коэффициентов распределения гомологов в гетерофазной системе перфтордекалин-ацетонитрил // Журн. общей химии. 2011. Т. 81, № 2. С. 237-244.
9. Кушакова А.С., Зенкевич И.Г. Использование системы гексан-2,2,2-трифторэтанол в хромато-распределительном методе // Журн. аналит. химии. 2013. Т. 68, № 2. С. 113-118.
10. Особенности использования обращенно-фазовой ВЭЖХ при определении коэффициентов распределения пестицидов в системе гексан-ацетонитрил / О.К. Остроухова [и др.] // Журн. прикладн. химии. 2002. Т. 75, Вып. 1. С. 75-79.
11. The NIST 17 Mass Spectral Library (NIST17/2017/EPA/NIH). Software/Data Version (NIST17); NIST Standard Reference Database, Number 69, June 2017. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899: <http://webbook.nist.gov> (дата обращения: ноябрь 2018 г.).
12. Зенкевич И.Г., Павловский А.А. Эффекты динамической модификации неподвижных фаз сорбатами в газовой хроматографии. О возможности разделения энантиомеров в ахиральных системах // Журн. физич. химии. 2016. Т. 90, № 10. С. 1584-1592.
13. Использование основного компонента (растворителя) в качестве внутреннего стандарта при газохроматографическом определении примесей / С.В. Черепица [и др.] // Журн. аналит. химии. 2003. Т. 58, № 4. С. 416-420.
14. Хроматографическое определение примесей с использованием метода внутреннего стандарта / С.В. Черепица [и др.] // Партнеры и конкуренты. Лабораториум. 2004. № 8. С. 35-39.
15. Черепица С.В. Использование этанола в качестве внутреннего стандарта при определении примесей в водке и спирте этиловом // Методы оценки соответствия. 2009. № 3. С. 36-40.
16. Зенкевич И.Г., Прокофьев Д.В. Уменьшение случайных погрешностей количественного хроматографического анализа при использовании растворителя в качестве дополнительного стандарта // Аналитика и контроль. 2016. Т. 20, № 2. С. 147-153.
17. Зенкевич И.Г., Прокофьев Д.В. Основной источник случайной составляющей погрешностей площадей хроматографических пиков и его компенсация // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2016. Т. 82, № 11. С. 5-11.
18. Зенкевич И.Г., Прокофьев Д.В. Использование дополнительных стандартов для повышения точности методов количественного хроматографического анализа // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72, № 5. С. 437-447.
19. Зенкевич И.Г., Морозова Т.Е. Особенности метода стандартной добавки для количественного определения аналитов в сложных смесях, обладающих сорбционными свойствами // Аналитика и контроль. 2010. Т. 14, № 3. С. 164-171.
20. Зенкевич И.Г., Морозова Т.Е. Области применения и особенности количественного хроматографического анализа методом последовательных стандартных добавок // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69, № 4. С. 369-377.
21. Новак Й. Количественный анализ методом газовой хроматографии / Пер. с англ. // М.: Мир, 1978. 180 с.

## REFERENCES

- Zenkevich I.G., Morozova T.E., Klark-Karskaya Yu.F. Inertness criterion for gas-chromatographic systems. *J. Analyt. Chem.*, 2014, vol. 69, no. 12, pp. 1130-1140. doi: 10.1134/S1061934814120156.
- Grab K., Neukom H.P. Dependence of the splitting ratio on column temperature in split injection capillary gas chromatography. *J. Chromatogr. A.*, 1982, vol. 236, pp. 297-306.
- Zenkevich I.G., Olisov D.A. [Discrimination of sample composition on capillary columns with split injection. Unexpected manifestations of known effect]. *Laboratoria i proizvodstvo [Laboratory and Production]*, 2018, no. 2, pp. 92-97 (In Russian).
- Zenkevich I.G., Leleev E. [Features of injection and chromatographic separation of samples in high boiling viscous organic solvents using the capillary columns at a low split ratio]. *Analitika i kontrol' [Analytics and Control]*, 2018, vol. 22, no. 3, pp. 220-228. doi: 10.15826/analitika.2018.22.3.005 (In Russian).
- Berezkin V.G., Loschilova V.D., Pankov A.G., Yagodovskii V.D. *Khromatoraspredelitel'nyi metod [Chromato-partition method]*. Moscow: Nauka Publ., 1976. 112 p. (In Russian).
- Zenkevich I.G., Vasil'ev A.V. [Sravnitel'naia otsenka informativnosti dopolnitel'nykh dannyykh pri gazokhromatograficheskoi identifikatsii. Novye vozmozhnosti ispol'zovaniia koefitsientov raspredeleniia v sisteme geksan - atsetonitril]. *Zh. analiticheskoi khimii [J. Analyt. Chem.]*, 1993, vol. 48, no. 3, pp. 473-486 (In Russian).
- Zenkevich I.G., Tsubul'skaya I.A. Group identification of organic compounds using gas chromatographic retention indices and partition coefficients in the system hexane/nitromethane. *Zh. fizicheskoi khimii [J. Phys. Chem.] A*, 1997, vol. 71, no. 2, pp. 341-346 (In Russian).
- Zenkevich I.G., Kushakova A.S. Unique variations of the distribution coefficients of homologues in the perfluorodecalin-acetonitrile heterophase system. *Rus. J. General Chem.*, 2011, vol. 81, no. 2, pp. 237-244. doi: 10.1134/S1070363211020101.
- Kushakova A.S., Zenkevich I.G. Use of the hexane – 2,2,2-trifluoroethanol system in partition chromatography. *J. Analyt. Chem.*, 2013, vol. 68, no. 2, pp. 113-118. doi: 10.1134/S1061934813020196.
- Ostroukhova O.K., Zenkevich I.G., Yuzikhin O.S., Dolzhenko V.I. Features of using the reversed-phase HPLC for determination of partition coefficients of pesticides in the system hexane-acetonitrile. *Zh. prikladnoi khimii [J. Applied Chem.]*, 2002, vol. 75, no. 1, pp. 75-79 (In Russian).
- The NIST 17 Mass Spectral Library (NIST17/2017/EPA/NIH). Software/Data Version (NIST17); NIST Standard Reference Database, Number 69, June 2017. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899: <http://webbook.nist.gov> (Accessed: November 2018).
- Zenkevich I.G., Pavlovskii A.A. Effects of the dynamic modification of stationary phases by sorbates in gas chromatography: the possibility of separating enantiomers in achiral systems. *J. Phys. Chem. A.*, 2016, vol. 90, no. 10, pp. 1584-1592. doi: 10.1134/S0036024416100320.
- Cherepitsa S.V., Bychkov S.M., Kovalenko A.N., Mazanik A.L., Selezmina N.M., Seredinskaya O.B. [Ispol'zovanie glavnogo komponenta (rastvoritelia) v kachestve vnutrennego standarta v gazovoi khromatografii]. *Zh. analiticheskoi khimii [J. Analyt. Chem.]*, 2003, vol. 58, no. 4, pp. 416-420 (In Russian).
- Cherepitsa S.V., Bychkov S.M., Gatsikha S.V., Kovalenko A.N., Mazanik A.L., Selezmina N.M. [Chromatographic determination of impurities using internal standard method]. *Partnery i konkurenty. Laboratorium [Partners and Competitors. Laboratorium]*, 2004, no. 8, pp. 35-39 (In Russian).
- Cherepitsa S.V. [Using ethanol as internal standard for determination of impurities in vodka and ethyl alcohol]. *Metody otsenki sootvetstviia [Conformity Assessment Methods]*, 2009, no. 3, pp. 36-40 (In Russian).
- Zenkevich I.G., Prokofiev D.V. [Decreasing the uncertainty of chromatographic quantitation by using the solvent as an additional standard]. *Analitika i kontrol' [Analytics and Control]*, 2016, vol. 20, no. 2, pp. 147-153. doi: 10.15826/analitika.2016.20.2.005 (In Russian).
- Zenkevich I.G., Prokofiev D.V. [Principal source of chromatographic peak uncertainty and its compensation]. *Zavodskaya laboratoria. Diagnostika materialov [Factory Laboratory. Diagnostics of Materials]*, 2016, vol. 82, no. 11, pp. 5-11. (In Russian).
- Zenkevich I.G., Prokofiev D.A. Using additional standards for increasing the accuracy of quantitative chromatographic analysis. *J. Analyt. Chem.*, 2017, vol. 72, no. 5, pp. 437-447. doi: 10.1134/S1061934817050136.
- Zenkevich I.G., Morozova T.E. [Features of standard addition method for quantification of analytes in complex mixtures having sorption properties]. *Analitika i kontrol' [Analytics and Control]*, 2010, vol. 14, no. 3, pp. 164-171 (In Russian).
- Zenkevich I.G., Morozova T.E. [Areas of application and characteristics of quantitative chemical analysis by the consecutive standard addition method]. *Zh. analiticheskoi khimii [J. Analyt. Chem.]*, 2014, vol. 69, no. 4, pp. 327-335. doi: 10.1134/S1061934814040157.
- Novak J. *Quantitative analysis by gas chromatography*. New York: Marcel Dekker, Inc. 1975.