

Модификация способа и алгоритма контроля инертности газохроматографических систем

***И.Г. Зенкевич, А.И. Десятова**

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии,
Российская Федерация, 198504 Санкт-Петербург, Университетский просп., 26

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

Поступила в редакцию 19 апреля 2020 г.

Ранее предложенный способ контроля инертности газохроматографических систем, основанный на определении отношений площадей пиков полярных и неполярных компонентов тест-растворов ($S_{\text{отн}} = S_{\text{полярн}}/S_{\text{неполярн}}$) для серий их последовательных разбавлений (при разбавлениях в 10 раз их число равно пяти), модифицирован с целями получения более надежных оценок минимальных количеств полярных аналитов ($m_{\text{пред}}$), для которых можно пренебречь недостаточной инертностью систем. Кроме того, достигнуто упрощение экспериментальных операций, сокращение числа параллельных определений, а также реализован более рациональный алгоритм вычислений на стадии обработки данных. Суть модифицированного алгоритма состоит в аппроксимации наборов экспериментальных значений $S_{\text{отн}} = f(pm)$ полиномами третьей степени и сравнении значений $S_{\text{отн}}$ со средними величинами для наиболее воспроизводимых значений $S_{\text{отн}}$ трех растворов с наибольшими концентрациями тест-компонентов. Показано, что границы инертности WCOT-колонки (со стандартной неполярной полидиметилсилоксановой неподвижной фазой) по разным соединениям составляют от долей нанограмма до нескольких нанограммов полярных аналитов в хроматографической зоне. Результаты анализа тест-образцов, содержащих некоторые полярные компоненты (например, бензиловый спирт), позволяют предположить, что интегральные проявления недостаточной инертности могут быть обусловлены не только влиянием хроматографических систем, но и сорбцией полярных аналитов на поверхности емкостей, используемых для приготовления разбавленных тест-растворов. Выявлены различия в значениях $m_{\text{пред}}$ для одних и тех же полярных компонентов при одинаковых условиях анализа, если разбавления тест-образцов проводят в стеклянных или полипропиленовых емкостях.

Ключевые слова: газовая хроматография, контроль инертности хроматографических систем, смеси полярных и неполярных аналитов, последовательные разбавления тест-растворов, недостаточная инертность стадии подготовки проб.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2020, vol. 24, no. 2, pp. 133-141

DOI: 10.15826/analitika.2020.24.2.004

Modification of inertness test for gas chromatographic systems

***Igor G. Zenkevich, Alena I. Desyatova**

St. Petersburg State University, Institute for Chemistry
Universitetskii prosp., 26, St. Petersburg 198504, Russian Federation

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

Submitted 19 April 2020

The previously proposed approach for controlling the inertness of gas chromatographic (GC) systems was based on the determination of peak area ratios for polar and non-polar constituents of test-solutions ($S_{\text{rel}} = S_{\text{polar}}/S_{\text{non-polar}}$) for the series of samples obtained by the consequent dilutions (for the 10-times dilutions the number of samples was five). This approach was modified with the purpose of increasing the reliability of evaluating the minimal quantities of analytes (m_{lim}), for which one can neglect the insufficient inertness of

GC systems. In addition to that, the simplification of experimental operations and minimizing the number of parallel determinations as well as more rational algorithm of data processing was achieved. The essence of the modified approach was the approximation of $S_{rel} = f(pm)$ data sets with the 3rd degree polynomials, following by comparing these data with the averaged S_{rel} (with standard deviations) values for the most reproducible S_{rel} values of three test-solutions with the highest concentrations of test-compounds. It was shown that the limits of the inertness for the WCOT-column (with the standard non-polar polydimethylsiloxane stationary phase) were from the fractions of nanogram to several nanograms of polar analytes in the chromatographic zone. The results for the test-samples contained some polar constituents (e.g., benzyl alcohol) which lead to suggesting that the integral manifestations of the insufficient inertness could be caused not only by the influence of chromatographic systems, but also by the sorption of polar analytes on the surfaces of vials used for the dilution of test-samples. The differences in m_{lim} values for the same polar components at the same analytical conditions, when the dilutions were carried out in the glass or polypropylene vials, were revealed.

Keywords: Gas chromatography, inertness control for chromatographic systems, mixtures of polar and non-polar analytes, consequent dilutions of test-solutions, insufficient inertness of sample preparation

ВВЕДЕНИЕ

Основные требования, предъявляемые к хроматографическому оборудованию, хорошо известны и определяются, прежде всего, характеристиками хроматографических колонок, детекторов и хроматографических систем в целом (узлы приборов, в контакте с которыми находятся компоненты анализируемых проб) (табл. 1).

В перечне этих требований особое место занимает такая важная характеристика как инертность, хотя, как было отмечено в публикации [1], этот термин до последнего времени не имеет однозначного определения и воспринимается скорее интуитивно [2]. В общем случае под инертностью понимают отсутствие влияния узлов хроматографических систем на результаты определений. Мерой инертности можно считать воспроизводимость отношений площадей хроматографических пиков летучих полярных соединений, содержащих, например, одну или несколько функциональных групп с активными атомами водорода и, вследствие этого, склонных к сорбции, и площадей пиков неполярных соединений, проявляющих способности к сорбции в меньшей степени. Однако такое определение не «идеально» и нуждается в ряде усложняющих его формулировок уточнений. Например, газохроматографический вариант разделения может быть полностью или частично неприменим к термически нестабильным анализам (см. [3]). Кроме того, существуют ограниченно летучие органические соединения, газохроматографический анализ которых принципиально невозможен (диалкиловые эфиры фосфорной кислоты [4], дикарбоновые

кислоты [5, 6] и другие), но из этого не следует никаких ограничений инертности хроматографических систем. Таким образом, проявления недостаточной инертности охватывают именно летучие соединения, газохроматографический анализ которых возможен, но сопровождается искажениями результатов.

Еще одним эффектом, который может быть ошибочно приписан недостаточной инертности хроматографических систем, является нестабильность аналитов в разбавленных растворах до их дозирования в хроматографические колонки. Это может быть обусловлено как гидролизом реакционноспособных соединений следами воды в используемых растворителях или в атмосферном воздухе [7], так и их окислением растворенным кислородом воздуха [8, 9]. Однако обусловленные таким эффектом искажения могут быть устранены соответствующей подготовкой проб.

Число соединений различной химической природы, рекомендуемых для использования в тест-смесях для характеристик инертности хроматографических систем (помимо реперных неполярных *n*-алканов), достигает сотни (сравнительная таблица приведена в публикации [1]). Наибольшей «популярностью» до настоящего времени пользуются тест-смеси Гробов, представляющие собой растворы в инертных растворителях нескольких (до 12) компонентов, чаще всего содержащие 2,3-бутандиол, 1-октанол, нонаналь, 2,6-диметилфенол, 2-этилгексановую кислоту, 2,6-диметиланилин, метилдеcanoат, дициклогексилламин, метилундеcanoат и метилдодеcanoат с концентрациями в диапазоне 0.28–0.53 мг/мл [10, 11]. Однако, несмотря на использование многокомпонентных смесей, алгоритмы

Таблица 1

Положение инертности среди других основных требований к хроматографическому оборудованию

Table 1

Location of the descriptor "Inertness" within other principal requirements to the chromatographic hardware

Фрагмент системы	Основные требования
Колонка	Эффективность разделения, максимальный диапазон рабочих температур (термическая стабильность фазы)
Детектор	Минимальный предел детектирования, большой диапазон линейности, требуемые характеристики селективности
Система в целом	Стабильность показаний во времени, минимальный уровень фона, легкость управления параметрами процесса, инертность

интерпретации результатов остаются неопределенными и, в значительной степени, основаны на визуальной характеристике дискриминации пиков отдельных соединений и искажения их формы (асимметрии) [1].

Первая попытка формализовать критерий характеристики инертности хроматографических систем была предпринята в работе [12]. Более подробное изложение метода и алгоритма обработки данных представлено в публикации [1]. Суть подхода состоит в том, что для этой цели не нужно использовать сложные смеси, а вполне достаточно двухкомпонентных растворов, один из компонентов которых полярный, а второй – неполярный (проще всего – один из n -алканов). Выбор компонентов можно варьировать в зависимости от их доступности и характера решаемых задач. Далее смеси таких компонентов 5–6 раз последовательно разбавляют любым подходящим растворителем (этанол, 2-пропанол, хлороформ) в 10 раз и анализируют приготовленные таким способом образцы. Компоненты каждого из таких разбавлений характеризуют средними значениями относительных площадей пиков $S_{i,отн}$ от их общей суммы в сочетании с соответствующими стандартными отклонениями s_i :

$$S_{i,отн} = S_i / \sum S_i \quad (1)$$

Для каждого из разбавлений (кроме исходного раствора, поскольку анализ наиболее концентрированного образца может привести к перегрузке хроматографической колонки) вычисляют разности величин $S_{i,отн}$ относительно первого разбавления:

$$D_i = S_{i,отн} - S_{i,отн} \quad (2)$$

Каждое из значений D_i сопоставляют с соответствующей суммой стандартных отклонений относительных площадей пиков $\sum s_i = s_1 + s_2$. При этом принимают, что отсутствие инертности хроматографической системы, обусловленное эффектами сорбции, в наименьшей степени проявляется для растворов с наибольшими концентрациями полярных компонентов. Попадающие в хроматографическую колонку количества компонентов (m_i) с учетом их концентраций в дозируемых растворах, величин доз и деления потока при вводе проб в капиллярные колонки в больших диапазонах удобнее всего характеризовать в логарифмической шкале, т.е. значениями $pm_i = -\lg m_i$. Тогда зависимость $\sum s_i = f(pm_i)$ (возрастающая функция), несмотря на ее некоторую нелинейность, в первом приближении можно аппроксимировать уравнением линейной регрессии:

$$\sum s_i = a \cdot pm_i + b \quad (3)$$

Другая нелинейная зависимость $D_i = f(pm_i)$ (также возрастающая функция), характеризующая искажения результатов определения аналитов за счет увеличения влияния недостаточной инертности хроматографических систем, выражена в значительно большей степени:

$$D_i = c \cdot pm_i + d \quad (4)$$

Для достаточно концентрированных растворов тест-компонентов (чаще всего, первых трех разбавлений) типично соотношение $D_i < \sum s_i$, но при переходе к более разбавленным образцам оно заменяется неравенством $D_i > \sum s_i$. Точку пересечения двух прямых, соответствующих двум уравнениям линейной регрессии (3) и (4) и предложено считать оценкой предельного количества аналита $pm_{пред}$, для которого влиянием недостаточной инертности хроматографической системы на результаты анализа тест-смесей еще можно пренебречь (искажения результатов статистически незначимы). Алгебраическое решение системы уравнений (3) и (4) относительно величины $pm_{пред}$ имеет вид:

$$pm_{пред} \approx \sum (b - d) / (a - c) \quad (5)$$

Рисунки, иллюстрирующие графическую интерпретацию этого способа оценки инертности, приведены в публикации [1].

Однако такой подход, рассмотренный в работах [1, 12], как показало его дальнейшее тестирование, оказался не лишенным некоторых недостатков. Прежде всего, не очевидна необходимость вычисления относительных площадей пиков полярных компонентов именно от суммы площадей пиков полярных и неполярных компонентов с использованием соотношения (1), потому, что относительные площади пиков неполярных компонентов и их стандартные отклонения при этом в неявном виде фигурируют в дальнейших вычислениях по уравнениям (2)–(4). Далее, линейная аппроксимация нелинейных зависимостей $\sum s_i = f(pm_i)$ и $D_i = f(pm_i)$ уравнениями линейной регрессии (3) и (4) представляется слишком «грубым» приближением, заметно влияющим на достоверность получаемых оценок инертности. В отдельных случаях прямые, соответствующие уравнениям линейной регрессии (3) и (4), могут не пересекаться, что соответствует отсутствию решения уравнения (5). Один такой пример упомянут в публикации [12]. Менее очевидно, что за счет излишней сложности вычислений подобный алгоритм может приводить к трудно компенсируемому завышению получаемых значений pm_i . В результате возникает необходимость некоторой модификации подхода и упрощению алгоритма оценки значений pm_i , что и является целью настоящей работы.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Выбор тест-соединений. В простейшем варианте рассматриваемого способа характеристики инертности хроматографических систем использованы тест-образцы, содержащие всего два компонента: один неполярный и один – полярный. Для приготовления тест-растворов в качестве неполярных компонентов целесообразно использовать доступные n -алканы, в качестве которых были выбраны n -октан (CAS № 111-65-9, «ч.», «Вектон», Санкт-Петербург) и n -тетрадекан (CAS № 629-59-4). В качестве полярных компонентов использовали 1-гексанол (CAS № 111-27-3,

«х.ч.», «Реахим», Москва), бензиловый спирт (CAS № 100-51-6 «ч.», «Реахим») и 2,4-ди-*трет*-бутилфенол (CAS № 96-76-4, «Acros Organics», Бельгия). В качестве растворителей применяли гексан («х.ч.», «Вектон») и изопропиловый спирт («х.ч.», «Вектон»). Применение изопропилового спирта в качестве растворителя представляется предпочтительным, так как его удельная теплота испарения (670 кДж/кг) вдвое больше удельной теплоты испарения гексана (334 кДж/кг). По этой причине при всех операциях с тест-растворами потери спирта на испарение меньше, чем у гексана, что повышает воспроизводимость результатов параллельных определений. Некоторые физико-химические свойства выбранных соединений, в том числе необходимые для оценки их относительной полярности, приведены в табл. 2.

Приготовление тест-растворов. Серия **1А, Б.** Отобранную на аналитических весах навеску (около 10 мг) 2,4-ди-*трет*-бутилфенола (температура плавления 55 ± 3 °С) и отобранные дозатором 100 мкл тетрадекана, растворяли в 1 мл изопропилового спирта (раствор № 1.1, суммарный объем около 1.1 мл). Для приготовления раствора № 1.2 к раствору 1.1 добавляли на 9 мл растворителя (с использованием дозатора или мерного цилиндра). Все следующие растворы (№№ 1.3, 1.4 и 1.5) готовили аналогичным образом: к 1 мл предыдущего разбавления прибавляли 9 мл растворителя. Серию разбавлений **1А** готовили в стеклянных пенициллиновых флаконах емкостью 10 мл, серию растворов **1Б** – в мерных емкостях из полипропилена объемом 20 мл.

Для приготовления тест-растворов серии **2А,Б** по 100 мкл бензилового спирта и октана растворяли в 1 мл изопропилового спирта (раствор № 2.1, суммарный объем составляет около 1.2 мл). Разбавления полученного раствора для приготовления образца № 2.2 и всех последующих проводили способом, аналогичным описанному выше. Серию разбавлений **1А** готовили в стеклянных пенициллиновых флаконах, серию растворов **1Б** – в мерных емкостях из полипропилена.

Серию тест-растворов **3А,Б** готовили аналогичным образом из 100 мкл 1-гексанола и 100 мкл октана.

Газохроматографический анализ тест-растворов. Анализ тест-растворов проводили на газовом хроматографе Хроматэк-Кристалл 5000.2 с пламенно-ионизационным детектором и WCOL колонкой из плавленного кварца с неполярной полидиметилсилоксановой фазой ВРХ-1 длиной 10 м, внутренним диаметром 0.53 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 2.65 мкм. Используются изотермические режимы анализа ($T = 80, 90, 150$ и 170 °С), газ-носитель азот, объемная скорость 1.83 мл/мин (линейная скорость 30 см/с), объем дозируемых проб 1.0 мкл (микрошприц МШ-1), деление потока при вводе проб 1 : 10. Температура испарителя 230 °С, температура детектора 250 °С. Число параллельных дозирования одних и тех же образцов (кратность определений) – 3–4.

Обработка результатов газохроматографического анализа тест-растворов. Для обеспечения газохроматографического разделения компонентов тест-растворов на стандартных неполярных неподвижных фазах сравнивали справочные значения их индексов удерживания [13]. Интегрирование площадей хроматографических пиков проводили в автоматическом режиме. В качестве первичного критерия проверки правильности приготовления тест-растворов использовали абсолютные площади пиков неполярных компонентов, которые при переходе от каждого образца к следующему должны уменьшаться приблизительно в 10 раз.

Дозируемые в хроматографическую колонку полярные компоненты характеризовали средними значениями отношений площадей их пиков к площадям пиков неполярных компонентов $S_{\text{полярн}}/S_{\text{неполярн}}$ и, как и ранее [1, 12], значениями индексов массы, $pm_i = -\lg m_i$, где m_i (г) – количество компонента в хроматографической зоне:

$$pm_i = (i + 3) - \lg\{v_{\text{пробы}} [V_{\text{полярн}} d_{\text{полярн}} / (V_{\text{полярн}} + \sum V_j)] (R + 1)\}, \quad (6)$$

где $V_{\text{полярн}} = 0.1$ мл – объем полярного компонента для приготовления первого тест-раствора, $d_{\text{полярн}}$ – плотность (г/мл) полярного компонента (для твердых полярных компонентов вместо произведений $V_{\text{полярн}} d_{\text{полярн}}$ используют непосредственно массы

Таблица 2

Некоторые физико-химические характеристики компонентов тест-растворов

Table 2

Several physicochemical properties of test-solutions constituents

Полярность компонента	Компонент	Мол. масса	d_4^{20}	$T_{\text{кип}},$ °С	μ, D	ε	RI [13]	ΔRI^*
Неполярные	<i>n</i> -Октан	114	-	125.7	0	2.0	800	0
	<i>n</i> -Тетрадекан	198	-	253.6	0	2.0	1400	0
Полярные	1-Гексанол	102	0.819**	157.5	1.6	13.0	854 _г	501
	Бензиловый спирт	108	1.045**	204.6	1.7	13.3	1012 _а	858
	2,4-Ди- <i>трет</i> -бутилфенол**	206	-	264	1.5	4.8	1511 ₁₃	807

Примечания: * – вычислено по данным базы [13]; ** – относительные плотности указаны только для жидких полярных компонентов; ** – температура плавления ($T_{\text{плавл}}$) 55 ± 3 °С, прочерк соответствует отсутствию необходимости использования этих данных (*n*-алканы), либо непосредственному измерению массы твердого соединения (2,4-ди-*трет*-бутилфенол).

взятых навесок, $M_{\text{полярн}}$, V_j – объемы всех остальных компонентов раствора (неполярного соединения и растворителя), i – порядковый номер разбавления исходного раствора, R – деление потока при дозировании проб в капиллярные колонки, $V_{\text{пробы}}$ – объем дозируемой в хроматографическую колонку пробы, мкл.

Статистическую обработку данных и вычисление параметров регрессионных уравнений проводили с использованием ПО Excel (Microsoft Office, 2016) и Origin (версия 4.1), построение графиков зависимостей – с использованием ПО Origin.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Модифицированный алгоритм характеристики инертности хроматографических систем. Основой подхода, предложенного в работах [1, 12], является оценка предельных значений масс полярных аналитов в хроматографических зонах ($pm_{\text{пред}}$) по результатам анализа серий последовательно разбавляемых тест-смесей полярных и неполярных компонентов. Необходимо оценить значения $pm_{\text{пред}}$, при которых относительные площади пиков полярных компонентов (соотношение 1) начинают статистически значимо отличаться от их относительных площадей в более концентрированных растворах. Однако такой способ требует дальнейшей оптимизации и, в том числе, упрощения алгоритма вычислений.

Прежде всего, необходимо отметить тот факт, что относительные площади пиков полярных компонентов, выраженные от суммы площадей пиков полярных и неполярных компонентов (1) представляют собой не самый «чувствительный» критерий выявления их вариаций. «Обычное» отношение $S_{\text{полярн}}/S_{\text{неполярн}}$ по этому критерию предпочтительнее. Действительно, при переходе от тест-образца, содержащего 90 % полярного + 10 % неполярного компонента, к образцу состава (10 % полярного и 90 % неполярного компонента) значение отношения (1) уменьшается в 9 раз, тогда как отношение $S_{\text{полярн}}/S_{\text{неполярн}}$ – в 90. Следовательно, именно последнее отношение следует предпочесть для выявления незначительных вариаций относительных площадей пиков полярных компонентов в смесях с неполярными.

Последующие экспериментальные операции соответствуют рекомендациям ранее предложенного варианта [1, 12] и включают газохроматографический анализ серии растворов, полученных последовательными разбавлениями исходных концентрированных образцов. Однако при этом представляется целесообразным сократить (но не исключить полностью) многократное дозирование каждого из них для оценки стандартных отклонений относительных площадей пиков, что упрощает экспериментальные операции и сокращает затраты времени. В результате получаем зависимость относительных площадей пиков $S_{\text{полярн}}/S_{\text{неполярн}}$ от значений $pm_{\text{полярн}}$, типичный вид которой приведен

на рис. 1 на примере серии тест-растворов (1А). Дальнейшие стадии обработки данных целесообразно проиллюстрировать на примере этого же рисунка.

Практически для всех выбранных тест-смесей, диапазоны вариаций значений $pm_{\text{полярн}}$ включают не более пяти точек для пяти растворов, получаемых из первого образца серий последовательных десятикратных разбавлений. Для первых трех из них значения $S_{\text{отн}} = S_{\text{полярн}}/S_{\text{неполярн}}$ изменяются в незначительных пределах, но в области $pm > 8$, как правило, наблюдается резкое уменьшение $S_{\text{отн}}$, обусловленное недостаточной инертностью хроматографических систем за счет сорбции полярных компонентов. Весь набор значений $S_{\text{отн}} = f(pm_{\text{полярн}})$ с достаточно высокой точностью может быть аппроксимирован полиномом третьей степени, что соответствует выделенной цветом кривой (I) на рис. 1 (параметры уравнения приведены в подписи к рисунку). Диапазон значений $S_{\text{отн}}$, соответствующий наиболее концен-

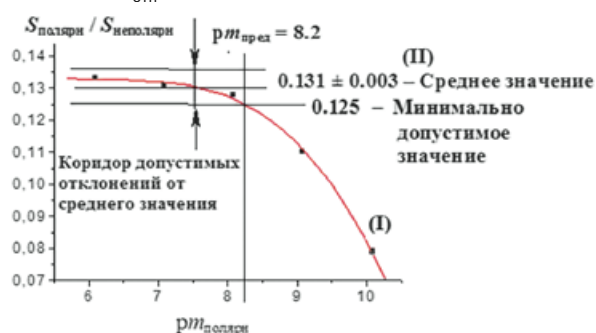


Рис. 1. Графическая иллюстрация алгоритма оценки инертности хроматографической системы на примере серии тест-растворов 1А: (I) – кривая аппроксимации пяти значений $S_{\text{полярн}}/S_{\text{неполярн}}$ полиномом третьей степени, (II) – прямая, характеризующая среднее значение (0.131 ± 0.003) наиболее воспроизводимых отношений $S_{\text{полярн}}/S_{\text{неполярн}}$ для трех тест-растворов с наибольшими концентрациями аналитов и предельно допустимое значение ($0.131 - 2 \cdot 0.003 = 0.125$), что позволяет оценить $pm_{\text{пред}} \approx 8.2$ и $m_{\text{пред}} \approx 6$ нг. Параметры регрессионного уравнения $S_{\text{отн}} = a_3(pm)^3 + a_2(pm)^2 + a_1(pm) + b$: $a_3 = 0.0010 \pm 0.0005$, $a_2 = 0.001 \pm 0.003$, $a_1 = -0.0008 \pm 0.0053$, $b = 0.133 \pm 0.002$, $R = 0.998$, $S_0 = 0.002$. Стрелками обозначен коридор допустимых отклонений величин $S_{\text{полярн}}/S_{\text{неполярн}}$ от среднего значения.

Fig. 1. Graphical illustration of the algorithm for inertness of chromatographic system evaluation using the example of the series of test-solutions 1A: (I) – the curve of the approximation of five $S_{\text{polar}}/S_{\text{non-polar}}$ values with the 3rd degree polynomial, (II) – the line characterizing the average value (0.131 ± 0.003) of the most reproducible $S_{\text{polar}}/S_{\text{non-polar}}$ ratios for three test-solutions with the highest concentrations of analytes, and the limiting value ($0.131 - 2 \cdot 0.003 = 0.125$) that permits the evaluation of $pm_{\text{lim}} \approx 8.2$ and $m_{\text{lim}} \approx 6$ ng. Parameters of regression equation $S_{\text{rel}} = a_3(pm)^3 + a_2(pm)^2 + a_1(pm) + b$: $a_3 = 0.0010 \pm 0.0005$, $a_2 = 0.001 \pm 0.003$, $a_1 = -0.0008 \pm 0.0053$, $b = 0.133 \pm 0.002$, $R = 0.998$, $S_0 = 0.002$. The arrows restrict the corridor of the permitted deviations of $S_{\text{polar}}/S_{\text{non-polar}}$ ratios from the average value.

трированным растворам (первые три точки), можно охарактеризовать средним значением $S_{отн}$ и его стандартным отклонением. «Коридор» допустимых отклонений величин $S_{отн} = S_{полярн} / S_{неполярн}$ отмечен на рис. 1 вертикальными стрелками.

Далее необходимо оценить, при какой величине $S_{отн}$ значения функции $S_{отн} = f(pm_{полярн})$, аппроксимируемые полиномом третьей степени, начинают статистически значимо отличаться от средней величины $S_{отн}$. Такая математическая задача, как оценка значимости отклонений величины, нелинейно зависящей от каких-либо экспериментальных параметров, от ее постоянного значения, достаточно часто встречается в химии. В подтверждение этого можно привести такой пример как оценка энергий ионизации органических соединений и энергий появления осколочных ионов в масс-спектрометрии с ионизацией электронами с переменной энергией (E) [14], когда по нелинейным зависимостям интенсивностей сигналов $I(E)$ необходимо оценить конкретные граничные значения энергий для разных ионов. Другим примером являются результаты различных термогравиметрических измерений, в которых по монотонным зависимостям убыли массы образцов от температуры $M(T)$ требуется получить точечные оценки характеристических температур, например, температур кипения соединений [15]. Из нескольких известных способов решения подобных задач мы остановились на следующем: аппроксимированные значения $S_{отн} = f(pm_{полярн})$ можно считать статистически значимо отличающимися от среднего значения $S_{отн}$, если они отличаются от него более, чем на два стандартных отклонения этого среднего, т.е. выполняется следующее неравенство:

$$f(pm_{полярн}) \leq S_{отн} - 2s(S_{отн}) \quad (7)$$

Таким образом, предельное значение $pm_{пред}$ соответствует решению уравнения $f(pm_{полярн}) = S_{отн} - 2s(S_{отн})$. В примере, иллюстрируемом рис. 1, получаем $pm_{пред} \approx 8.2$. Следовательно, максимально допустимое дозируемое количество 2,4-ди-*трет*-бутилфенола в хроматографическую колонку, при котором недостаточная инертность системы статистически значимо не влияет на результаты определения этого соединения в выбранных условиях, составляет $m_{пред} \approx 6$ нг.

Первым примером применения подхода к оценке инертности, основанного не на относительных площадях пиков (1), а на более простых отношениях $S_{отн} = S_{полярн} / S_{неполярн}$, стала оценка инертности хроматографической системы по отношению к алкиловым эфирам неорганических кислот при анализе производных фосфорной кислоты [16]. Из-за недоступности триалкилфосфатов, в качестве полярного компонента было выбрано родственное соединение с близкой реакционной способностью – диметилловый эфир серной кислоты $(CH_3O)_2SO_2$ (диметилсульфат). Однако, поскольку характер решаемых задач не требовал анализа очень разбавленных растворов, инертность (постоянство отношений $S_{отн}$) была проверена только в диапазоне 256-кратных разбавлений.

Примеры и некоторые результаты тестирования инертности хроматографической системы. В табл. 3 приведены исходные данные для характеристики инертности газохроматографической системы, представляющей собой хроматограф с WCOT-колонкой со стандартной неполярной полидиметилсилоксановой неподвижной фазой ВРХ-1, и некоторые полученные результаты. Для каждой из серий измерений **1(А, Б)–3(А, Б)** указаны выбранные тест-компоненты, материал емкостей, в которых проводили разбавления (стекло или полипропилен), и варьируемые условия анализа

Таблица 3

Исходные данные и некоторые результаты характеристики инертности хроматографической системы по различным тест-компонентам

Table 3

Initial data and some results of evaluating the inertness of chromatographic system with the use of different test-compounds

№ Серии, тест-компоненты, материал емкостей для растворов, условия анализа	Значения $S_{отн}(pm)$; $S_{отн} \pm s(S_{отн})$	$pm_{пред}$; оценка $m_{пред}$	№ рисунка
1А: 2,4-ди-трет-бутилфенол, н-тетрадекан, стекло, $T_{исп}$ 230 °С, $T_{коп}$ 170 °С	0.133(6.08), 0.131(7.08), 0.128(8.08), 0.110(9.08), 0.079(10.08); 0.131 ± 0.003	8.2; 6 нг	№ 1
1Б: 2,4-ди-трет-бутилфенол, н-тетрадекан, полипропилен, $T_{исп}$ 230 °С, $T_{коп}$ 170 °С	0.166(5.93), 0.163(6.93), 0.164(7.93), 0.149(8.93), 0.102(9.93); 0.164 ± 0.002	8.3; 5 нг	№ 2(а)
2А: Бензиловый спирт, н-октан, стекло, $T_{исп}$ 230 °С, $T_{коп}$ 150 °С	1.32(5.10), 1.31(6.10), 1.27(7.10), 1.21(8.10), 1.11(9.10); 1.30 ± 0.03	7.7; 20 нг	№ 2(б)
2Б: Бензиловый спирт, н-октан, полипропилен, $T_{исп}$ 230 °С, $T_{коп}$ 150 °С	1.20(5.10), 1.14(6.10), 1.15(7.10), 1.15(8.10), 0.96(9.10); 1.16 ± 0.04	8.6; 2.5 нг	№ 2(в)
3А: 1-Гексанол, н-октан, стекло, $T_{исп}$ 180 °С, $T_{коп}$ 80 °С	0.70(7.17), 0.71(8.17), 0.69(9.17), 0.54(10.17), 0.14(11.17); 0.699 ± 0.014	9.4; 0.4 нг	-
3Б: 1-Гексанол, н-октан, стекло, $T_{исп}$ 130 °С, $T_{коп}$ 90 °С	0.70(7.17), 0.74(8.17), 0.72(9.17), 0.59(10.17), 0.19(11.17); 0.722 ± 0.018	9.5; 0.3 нг	-

(температуры испарителя и хроматографической колонки). Дозированные количества образцов (1 мкл) и деление потока при вводе проб (1 : 10) во всех случаях были одинаковыми. Для каждой из серий приведен набор значений $S_{отн}(pm)$ (во всех случаях для пяти разбавлений), средние величины $S_{отн} \pm s(S_{отн})$, соответствующие трем образцам с наибольшими концентрациями полярных компонентов, и вычисленные по этим данным предельные значения $pm_{пред}$ и $m_{пред}$, являющиеся итоговыми характеристиками инертности. Чем меньше получаемое значение $m_{пред}$, тем предпочтительнее выбранный режим для хроматографического разделения следов тех или иных соединений. Для серий **1(Б)**, **2(А)** и **2(Б)** на рис. 2(а), 2(б) и 2(в) соответственно для иллюстрации приведены графики зависимостей $S_{отн}(pm)$.

Полученные значения $m_{пред}$ преимущественно варьируют в пределах от долей нанограмма до нескольких нанограммов в хроматографической зоне. В целом, эти оценки ниже, чем при использовании предыдущей версии алгоритма характеристики инертности [12]. Конечно же, требуется существенное расширение количества примеров контроля инертности с использованием различных тест-соединений и в разных режимах газохроматографического анализа, однако даже предварительные данные позволяют прийти к достаточно интересным выводам. Так, две серии определений **3А** и **3Б** для одних и тех же тест-компонентов (1-гексанол и *n*-октан), отличающиеся температурой испарителя хроматографа (на 50 °С) и, в меньшей степени, колонки, демонстрируют практически одинаковые результаты оценок $m_{пред}$. Серии определений **1(А)** и **1(Б)**, так же как и **2(А)** и **2(Б)**, проведены для одинаковых тест-компонентов, но различаются материалом флаконов, в которых проводили разбавления образцов (**А** – стекло, **Б** – полипропилен). Для образцов, содержащих такой полярный компонент как 2,4-ди-*трет*-бутилфенол, зафиксировано только незначительное уменьшение величины $m_{пред}$ при переходе от стеклянных к полипропиленовым емкостям (6 и 5 нг соответственно). Однако для образцов, содержащих бензиловый спирт, наблюдали существенные различия (почти на порядок) в оценках инертности (20 и 2.5 нг соответственно).

По сравнению с 2,4-ди-*трет*-бутилфенолом бензиловый спирт представляет собой гораздо более летучее соединение: его температура кипения на 60 °С меньше, чем у фенола (см. табл. 2). По таким критериям полярности как разности индексов удерживания на стандартных полярных и неполярных фазах (ΔRI) и дипольные моменты (μ) эти аналиты практически одинаковы, но по значениям диэлектрической проницаемости (ϵ) бензиловый спирт существенно полярнее фенола (13.3 против 4.8). Это же заключение подтверждается такими недавно предложенными характеристиками полярности как гомологические инкременты газохроматографических индексов удерживания органических

соединений на стандартных неполярных фазах [17], равные 312 для бензинового спирта и 111 для 2,4-ди-*трет*-бутилфенола.

Таким образом, если по некоторым характеристикам бензиловый спирт полярнее 2,4-ди-*трет*-бутилфенола, то это может объяснить его сорбцию не в хроматографической системе (условия разделения одинаковы), а в емкостях, используемых для приготовления разбавленных растворов. Стекло как химически менее инертный материал по сравнению с полипропиленом, может в большей степени сорбировать бензиловый спирт в таких растворах

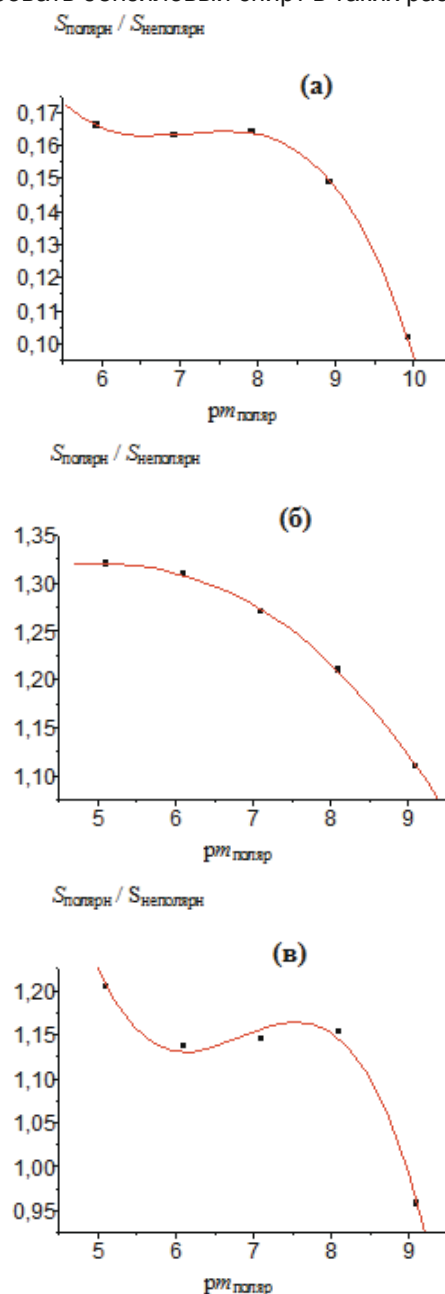


Рис. 2. Графические представления зависимостей $S_{отн} = f(pm_{полярн})$ для серий **2Б** (а), **3А** (б) и **3Б** (в) разбавлений тест-растворов.

Fig. 2. Graphical presentations of the $S_{rel} = f(pm_{polar})$ dependencies for **2B** (a), **3A** (б), and **3B** (в) series of test-solution dilutions.

по сравнению с *n*-октаном еще до их дозирования в хроматографическую колонку, что уменьшает интегральную характеристику инертности хроматографической системы. Кроме того, нельзя исключить влияние преимущественной адсорбции неполярного *n*-октана по сравнению с бензиловым спиртом на менее полярной (по сравнению со стеклом) поверхности сосудов из полипропилена.

Учитывая важность вывода о возможном проявлении эффектов недостаточной инертности не только в хроматографических системах, но и на предшествующих стадиях подготовки образцов, можно заметить, что независимая характеристика таких эффектов требует существенного расширения количества модельных соединений и разнообразия условий их анализа, что планируется на последующих этапах работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, модификация способа контроля инертности газохроматографических систем, основанная на измерении отношений площадей пиков различных полярных и неполярных тест-компонентов для растворов с убывающими концентрациями аналитов, приготавливаемых в результате последовательных разбавлений, приводит к упрощению экспериментальных операций и более простым вычислениям, а также позволяет получить более надежные оценки минимальных количеств полярных аналитов ($m_{пред}$), для которых недостаточной инертностью систем можно пренебречь. Результаты анализа тест-образцов, содержащих некоторые полярные компоненты (бензиловый спирт), позволяют предположить, что проявления недостаточной инертности обусловлены не только влиянием хроматографических систем, но и сорбцией полярных аналитов на поверхности емкостей, используемых для разбавления тест-растворов.

БЛАГОДАРНОСТИ

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

ACKNOWLEDGEMENTS

The current work was carried out using the equipment of the "Chemistry" Resource Educational Centre at the Chemistry Institute of St. Petersburg State University. The authors are grateful to the staff of the Center for assistance.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зенкевич И.Г., Морозова Т.И., Кларк-Карская Ю.Ф. Критерий инертности газохроматографических систем // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69, № 12. С. 1242-1253.
2. Gas Chromatography. A Practical Approach / Ed. J.P. Baugh. Oxford – New York: Oxford Univ. Press. 1993. 456 p.
3. Kornilova T.A., Ukolov A.I., Kostikov R.R., Zenkevich I.G. A simple criterion for gas chromatography/mass spectrometric analysis of thermally unstable compounds, and reassessment of the by-products of alkyl diazoacetate synthesis // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2013. V. 27, № 3. P. 461-466.
4. Зенкевич И.Г., Носова В.Э. Ограничения газохроматографического анализа соединений с активными атомами водорода. Диалкилфосфаты // Аналитика и контроль. 2016. Т. 20, № 4. С. 307-313.
5. Зенкевич И.Г., Фахретдинова Л.Н. Особенности газохроматографического анализа алифатических дикарбоновых кислот // Аналитика и контроль. 2015. Т. 19, № 1. С. 52-58.
6. Зенкевич И.Г., Фахретдинова Л.Н. Возможности газохроматографического определения труднолетучих дикарбоновых кислот // Журн. аналит. химии. 2016. Т. 71, № 2. С. 420-427.
7. Иванова Н.Т., Франгулян Л.А. Газохроматографический анализ нестабильных и реакционноспособных соединений. М.: Химия, 1979. 232 с.
8. Зенкевич И.Г., Ищенко Е.В., Макаров А.А., Сончик О.Е. Окисление органических соединений кислородом воздуха в водных растворах. Экохимические и экологические аспекты // Экологич. химия. 2010. Т. 19, № 1. С. 1-13.
9. Zenkevich I.G., Pushkareva T.I. Oxidation of 4-isopropylphenol in aqueous solutions as a model for oxidation of flavonoids to form dimers // Chem. Nat. Comp. 2018. V. 54, № 2. P. 370-372.
10. Grob K., Grob G., Grob K. Comprehensive, standardized quality test for glass capillary columns // J. Chromatogr. A. 1978. V. 156. P. 1-20.
11. Grob K., Grob G., Grob K. Testing capillary gas chromatographic columns // J. Chromatogr. A. 1981. V. 219. P. 13-20.
12. Зенкевич И.Г., Макаров Е.Д., Макаров А.А., Климова И.О. Способ и критерий контроля инертности хроматографических систем // Аналитика и контроль. 2006. Т. 10, № 2. С. 175-183.
13. 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: апрель 2020 г.).
14. Бейнон Дж. Масс-спектрометрия и ее применение в органической химии. М.: Мир, 1964. 702 с.
15. Measurements of normal boiling points of fatty acid ethyl esters and triacylglycerols by thermogravimetric analysis / C.M.G. Santander [et al.] // Fuel. 2012. V. 92. P. 158-161.
16. Зенкевич И.Г., Носова В.Э. Газохроматографические индексы удерживания в хроматомасс-спектрометрической идентификации алкилдиалкилфосфатов, диалкилхлор-

фосфатов и их тиоаналогов // Масс-спектрометрия. 2019. Т. 16, № 1. С. 58-72.

17. Зенкевич И.Г. Гомологические инкременты газохроматографических индексов удерживания как характеристика полярности органических соединений // Журн. общей химии. 2019. Т. 89, № 3. С. 331-341.

REFERENCES

- Zenkevich I.G., Morozova T.I., Klark-Karskaya Yu.F. Inertness criterion for gas-chromatographic systems. *J. Analyt. Chem. (Russ.)*, 2014, vol. 69, no. 12, pp. 1130-1140. doi: 10.1134/S1061934814120156.
- Gas Chromatography. A Practical Approach* / Ed. J.P. Baugh. Oxford – New York: Oxford Univ. Press. 1993. 456 p.
- Kornilova T.A., Ukolov A.I., Kostikov R.R., Zenkevich I.G. A simple criterion for gas chromatography/mass spectrometric analysis of thermally unstable compounds, and reassessment of the by-products of alkyl diazoacetate synthesis. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2013, vol. 27, no. 3, pp. 461-466. doi: 10.1002/rcm.6457.
- Zenkevich I.G., Nosova V.E. [The restrictions on the gas chromatographic separation of the compounds with active hydrogen atoms. Dialkyl phosphates]. *Analitika i kontrol' [Analyt. Chem. (Russ.)]*, 2016, vol. 20, no. 4, pp. 307-313 (In Russian). doi: 10.15826/analitika.2016.20.4.007.
- Zenkevich I.G., Fakhretdinova L.N. [Thermal instability of monoalkyl esters of phthalic acid during their gas chromatographic separation]. *Analitika i kontrol' [Analyt. Chem. (Russ.)]*, 2015, vol. 19, no. 1, pp. 52-58 (In Russian). doi: 10.15826/analitika.2015.19.1.001.
- Zenkevich I.G., Fakhretdinova L.N. [Potentials of gas chromatography in the determination of low-volatile dicarboxylic acids]. *J. Analyt. Chem.*, 2016, vol. 71, no. 4, pp. 402-409. doi: 10.1134/S1061934816020167.
- Ivanova N.T., Frangulyan L.A. *Gazokhromatograficheskii analiz nestabil'nykh i reaktivnykh soedinenii. [Gas chromatographic analysis of unstable and reactive compounds]*. Moscow, Khimia Press, 1979. 232 p. (In Russian).
- Zenkevich I.G., Ischenko E.V., Makarov A.A., Sonchik O.E. Air oxidation of organic compounds in aqueous solutions. Ecochemical and analytical aspects. *Rus. J. General Chem.*, 2004, vol. 80, no. 13, pp. 2671-2681. doi: 10.1134/S1070363210130013.
- Zenkevich I.G., Pushkareva T.I. Oxidation of 4-isopropylphenol in aqueous solutions as a model for oxidation of flavonoids to form dimmers. *Chem. Nat. Comp.*, 2018, vol. 54, no. 2, pp. 370-372. doi: 10.1007/s10600-018-2350-y.
- Grob K., Grob G., Grob K. Comprehensive, standardized quality test for glass capillary columns. *J. Chromatogr. A*, 1978, vol. 156, pp. 1-20. doi: 10.1016/S0021-9673(00)83120-9.
- Grob K., Grob G., Grob K. Testing capillary gas chromatographic columns. *J. Chromatogr. A*, 1981, vol. 219, pp. 13-20. doi: 10.1016/S0021-9673(00)80568-3.
- Zenkevich I.G., Makarov E.D., Makarov A.A., Klimova I.O. [Method and criterion for inertness control of chromatographic systems]. *Analitika i kontrol' [Analyt. Chem. (Russ.)]*, 2006, vol. 10, no. 2, pp. 175-183 (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: April 2020).
- Beynon J.H. *Mass spectrometry and its applications to organic chemistry*. Amsterdam: Elsevier, 1960. 640 p.
- Santander C.M.G., Rueda S.M.G., da Silva N.L., de Camargo C.L., Kieckbusch T.G., Maciel M.R.W. Measurements of normal boiling points of fatty acid ethyl esters and triacylglycerols by thermogravimetric analysis. *Fuel*, 2012, vol. 92, pp. 158-161. doi: 10.1016/j.fuel.2011.08.011.
- Zenkevich I.G., Nosova V.E. Gas chromatographic retention indices in GC/MS identification of alkyl dichlorophosphates, dialkyl chlorophosphates, and their thio analogues. *J. Analyt. Chem.*, 2019, vol. 74, no. 14, pp. 1421-1436. doi: 10.1134/S1061934819140120.
- Zenkevich I.G. Homologous increments of gas chromatographic retention indices as characteristic of organic substances polarity. *Rus. J. General Chem.*, 2019, vol. 89, no. 3, pp. 369-377.