

УДК 543.3

ШИРИНА ПИКА ПРОБЫ В ГРАДИЕНТНОЙ ИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

© 2008 г. А. Г. Прудковский

Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук
117975 Москва, ул. Косыгина, 19

Поступила в редакцию 13.09.2006 г., после доработки 22.11.2006 г.

Построена математическая теория расчета ширины и положения пиков в градиентной ионной хроматографии. Показано, что в высокоэффективной хроматографии ширина пика полностью определяется свойствами элюента в момент выхода пика из колонки. Проведены тестовые модельные расчеты.

В настоящее время появилось много работ, использующих градиентное элюирование в ионной хроматографии (ГЭИХ), в котором сила элюента меняется прямо в процессе анализа [1–3]. Построение математической теории, моделирующей процессы ГЭИХ, сводится к выводу формулы для ширины хроматографического пика, так как вторая основная величина – время выхода пика – рассчитывается интегрированием скорости пика вдоль колонки. В настоящей работе в соответствии с предложенной теорией модифицирована программа для ЭВМ IonChrom® [4] и проведены тестовые расчеты.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Асимптотическая теория ионной хроматографии, развитая нами в работах [5] и [6], напрямую для ГЭИХ не применима в силу существенных изменений скоростей пиков пробы в процессе разделения. Для вывода поправок к формулам работы [6] представим градиентный режим как серию ступенчатых изменений силы элюента и, как следствие, соответствующих изменений скоростей пиков пробы. Исследуем влияние на ширину пика одной такой ступеньки, движущейся по колонке (по оси $0 \leq l \leq L$) со скоростью V_F . Пусть скорость V_F много больше скоростей пиков пробы и близка к скорости элюента V_0 в колонке.

В начальном сечении колонки зададим первоначальную форму пика в виде:

$$f(0, t_0) = e^{-\frac{t_0^2}{\sigma}}, \quad (1)$$

где σ – дисперсия пика, связанная с полушириной τ формулой $\tau = \sqrt{\sigma \ln 2}$, высота пика обратно про-

порциональна τ , t_0 – время в точке $l = 0$ (точка l соответствует рассматриваемому нами сечению).

Пусть до скачка пик движется по оси l со скоростью V_1 , а после скачка – со скоростью V_2 . Таким образом, скорость пика удовлетворяет уравнению:

$$V(l, t) = \begin{cases} V_1 & \text{при } t < t_r + \frac{l}{V_F} \\ V_2 & \text{при } t > t_r + \frac{l}{V_F} \end{cases}, \quad (2)$$

где t_r – момент времени скачка концентрации элюента в рассматриваемом сечении ($l = 0$).

Каждая точка пика, определяемая в начальном сечении параметром t_0 , после прохождения скачка скоростей движется по закону (рис. 1):

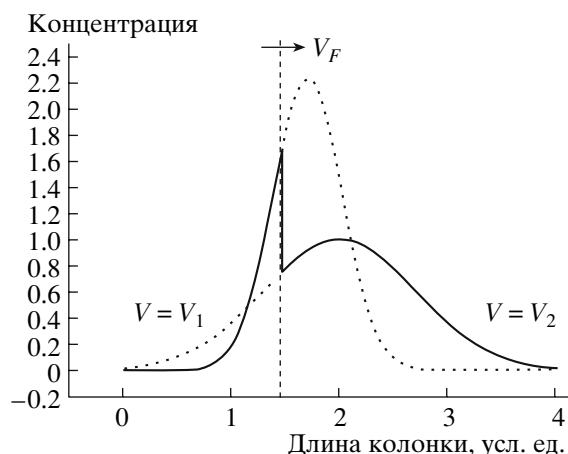


Рис. 1. Влияние скачка скоростей на форму пика при $V_2 > V_1$.

$$\begin{aligned}
 l(t_0, t) &= V_1 \left(t_r + \frac{V_1(t_r - t_0)}{V_F - V_1} - t_0 \right) + \\
 &+ V_2 \left(t - t_r - \frac{V_1(t_r - t_0)}{V_F - V_1} \right) = \\
 &= V_2 t - t_r \frac{V_F(V_2 - V_1)}{V_F - V_1} - t_0 \frac{V_1(V_F - V_2)}{V_F - V_1}.
 \end{aligned} \quad (3)$$

Вертикальная штриховая линия (рис. 1) движется со скоростью V_F . Она отделяет правую область, где скорость точек пика V_1 , от левой, где скорость точек пика V_2 . Жирной линией показана результирующая форма пика в текущий момент. Пунктирными линиями дорисованы гауссианы, из отрезков которых построен результирующий пик, одна из этих гауссиан соответствует форме пика до скачка, вторая – после.

Решая уравнение (3) относительно t_0 , получим:

$$t_0(l, t) = \frac{V_2(V_F - V_1)}{V_1(V_F - V_2)} \left(t - \frac{l}{V_2} \right) - t_r \frac{V_F(V_2 - V_1)}{V_1(V_F - V_2)}. \quad (4)$$

Учитывая, что вершина пика соответствует значению $t_0 = 0$, получим закон движения максимума пика:

$$t_{\max}(l) = \frac{l}{V_2} + t_r \frac{V_F(V_2 - V_1)}{V_2(V_F - V_1)}. \quad (5)$$

что позволяет переписать уравнение (4) в следующем виде:

$$t_0(l, t) = \frac{V_2(V_F - V_1)}{V_1(V_F - V_2)} [t - t_{\max}(l)].$$

И окончательно, подставляя функцию $t_0(x, t)$ в формулу (1), получим, что в сечении l в момент времени t пик будет описываться формулой:

$$f(l, t) = e^{-\frac{\{t - t_{\max}\}^2}{\sigma_1}}, \quad \sigma_1 = \left[\frac{V_1(V_F - V_2)}{V_2(V_F - V_1)} \right]^2 \sigma. \quad (6)$$

В соответствии с формулой (3) работы [6] дисперсия хроматографического пика рассчитывается с помощью интеграла $\sigma(t) = \int_0^t d\sigma$, вычисляемого с помощью интегральной суммы:

$$\sigma(t_n) = \sum_{i=1}^n \Delta\sigma_i. \quad (7)$$

Таким образом, фактически колонка делится на n частей и в каждой из этих частей дисперсия пика рассчитывается по формулам изократического режима, выведенным в работе [5]. Для учета влияния градиентного режима на формулу расчета дисперсии осталось применить формулу (6) к произвольному k -му шагу в сумме (7):

$$\sigma(t_k) = \left[\frac{V_{k-1}(V_F - V_k)}{V_k(V_F - V_{k-1})} \right]^2 \sigma(t_{k-1}) + \Delta\sigma_k, \quad (8)$$

откуда следует, что формула (7) может быть преобразована к виду:

$$\sigma(t_n) = \left[\frac{V_F - V_n}{V_n} \right]^2 \sum_{i=1}^n \left[\frac{V_i}{V_F - V_i} \right]^2 \Delta\sigma_i, \quad (9)$$

и, возвращаясь обратно к интегральному представлению, получим окончательную интегральную формулу:

$$\sigma(t) = \left[\frac{V_F - V(t)}{V(t)} \right]^2 \int_0^t \left[\frac{V(\xi)}{V_F - V(\xi)} \right]^2 \frac{d\sigma}{d\xi} d\xi, \quad (10)$$

где ξ – текущее время, а $V(\xi)$ – скорость вершины пика в момент времени ξ . Учитывая, что изменение скорости пика зависит (в данной работе) только от состава элюента, определяющего в начале колонки коэффициент распределения $\Gamma(t)$, и то, что изменения движутся вдоль колонки со скоростью V_F , имеем:

$$V(\xi) = \frac{V_0}{1 + \Gamma\left(\xi - \frac{l}{V_F}\right)}, \quad (11)$$

где $l \equiv l(\xi)$ – положение пика пробы в момент времени ξ . Таким образом, движение пика пробы $l(t)$ подчиняется уравнению:

$$\frac{dl}{dt} = V(l, t); \quad V(l, t) = \frac{V_0}{1 + \Gamma\left(t - \frac{l}{V_F}\right)}, \quad (12)$$

где V_0 – скорость элюента внутри колонки. Уравнение (12) эквивалентно интегральному уравнению Вольтерра [7] относительно функции $l = l(t)$, его решение устойчиво и может быть построено численно на компьютере.

Таблица 1. Параметры пиков расчетной хроматограммы рис. 2 (ГЭИХ, x – сила элюента в момент выхода соответствующего пика)

| Пик | t_R , мин | Ширина пика, мин | $\Delta t = t_{i+1} - t_i$ | $R_{i, i+1}$ | x |
|--------------------------------|-------------|------------------|----------------------------|--------------|--------|
| HBr | 18.78 | 0.21 | 0.80 | 1.89 | -0.020 |
| HNO ₃ | 19.58 | 0.22 | 5.16 | 14.29 | 0.025 |
| H ₂ SO ₄ | 24.74 | 0.15 | 1.18 | 3.79 | 0.24 |
| (COOH) ₂ | 25.92 | 0.17 | | | 0.27 |

Используя теорию хроматографии, развитую в работе [6], и полученные выше поправки (10), можно выписать формулы для амплитуды $C(l, t)$ и дисперсии $\sigma(l, t)$ пика пробы в ГЭИХ:

$$C(l, t) = \frac{M}{W\sqrt{\pi\sigma(t(t))}} \exp\left[-\frac{(t(l)-t)^2}{\sigma(t(l))}\right], \quad (13)$$

где M – количество компонента пробы; W – расход элюента; $t(l)$ – функция, обратная к $l(t)$; σ – дисперсия пика пробы, $\sigma = \sigma_s + \sigma_l$; σ_s – дисперсия взаимодействия компонента пробы с сорбентом,

$$\sigma_s = \Psi^2 \int_0^t \frac{4\theta\Gamma}{(1+\Gamma)\Psi^2} d\xi; \quad \sigma_l - \text{продольная дисперсия пика, } \sigma_l = \Psi^2 \int_0^t \frac{4D_l(1+\Gamma)}{V_0^2\Psi^2} dt; \quad \Psi = \frac{V_F}{V_0}(1+\Gamma) - 1; \quad \theta -$$

характерное время взаимодействия пробы с сорбентом; D_l – коэффициент продольной диффузии ионов пробы; подинтегральные функции Ψ , Γ , θ , D_l вычисляются в точке $\xi = \frac{x(\xi)}{V_F}$, функция Ψ вне

интеграла вычисляется в точке $t = \frac{L}{V_F}$; L – длина

колонки. В концентрированных элюентах скорость движения фронта вариаций концентрации элюента V_F близка к V_0 , при этом $\Psi = \Gamma$.

Теоретически возможен еще один предельный случай, когда свойства элюента изменяются одновременно вдоль всей колонки (например, с помощью нагрева), тогда скорость V_F равна бесконечности, а $\Psi = \Gamma + 1$.

Учитывая, что в высокоэффективной хроматографии $\Gamma \gg 1$, а функция $e \stackrel{\text{def}}{=} \frac{\theta}{\Gamma}$ слабо меняется при изменении Γ , получи:

$$\begin{aligned} \sigma_s &= \Psi^2 \int_0^t \frac{4\theta\Gamma}{(1+\Gamma)\Psi^2} d\xi = \\ &= \Gamma_i^2 \int_0^L \frac{4e\Gamma^2}{(1+\Gamma)\Gamma^2} \frac{1+\Gamma}{V_0} dl = 4 \frac{\Gamma^2 L}{V_0} \int_0^L e dl, \\ \sigma_l &= \Psi^2 \int_0^t \frac{4D_l(1+\Gamma)}{V_0^2\Psi^2} dt = \\ &= \Gamma^2 \int_0^L \frac{4D_l(1+\Gamma)}{V_0^2\Gamma^2} \frac{1+\Gamma}{V_0} dl \approx \frac{4\Gamma^2 L}{V_0^3} \int_0^L D_l dl. \end{aligned} \quad (14)$$

Формулы (14) позволяют существенно повысить точность численного расчета ширины хроматографических пиков за счет выноса быстроменяющегося множителя Γ за знак интеграла, а при $e \approx \text{const}$, $D_l \approx \text{const}$ и вовсе отказаться от интегрирования и использовать простые аналитические формулы:

$$\sigma_s \approx 4\theta\Gamma \frac{L}{V_0}, \quad \sigma_l \approx 4D_l\Gamma^2 \frac{L}{V_0^3}, \quad (15)$$

где величина Γ соответствует параметрам элюента в момент выхода пика из колонки.

Отметим совпадение формул (15) с аналогичными формулами (5) работы [5], выведенными для обычного изократического режима ионной хроматографии, величина $\Gamma \frac{L}{V_0}$ при этом заменяется на

$t_{\text{изократ}}$ – время прохождения того же пика через колонку с “фиксированным” элюентом. Реальное время выхода хроматографических пиков в ГЭИХ, конечно, не совпадает с временем $t_{\text{изократ}}$. И именно это несовпадение времен позволяет использовать метод ГЭИХ для разделения хроматографических пиков, плохо разделенных в изократическом режиме.

Критерий разделения R_{ij} двух близких пиков i, j определяется формулой [8]:

$$R_{ij} = \frac{|t_i - t_j|}{\tau_i + \tau_j}, \quad (16)$$

где t_i, t_j – времена выхода пиков i, j , а τ_i, τ_j – соответствующие полуширины пиков. При большой разнице высот пиков h_i, h_j формула (16) несколько усложняется, но суть ее остается прежней:

$$R_{ji} \neq R_{ij} = \frac{|t_i - t_j|}{\tau_i + k_{ij}\tau_j}, \quad k_{ij} = \sqrt{1 - \frac{\ln(h_i/h_j)}{\ln 2}}. \quad (17)$$

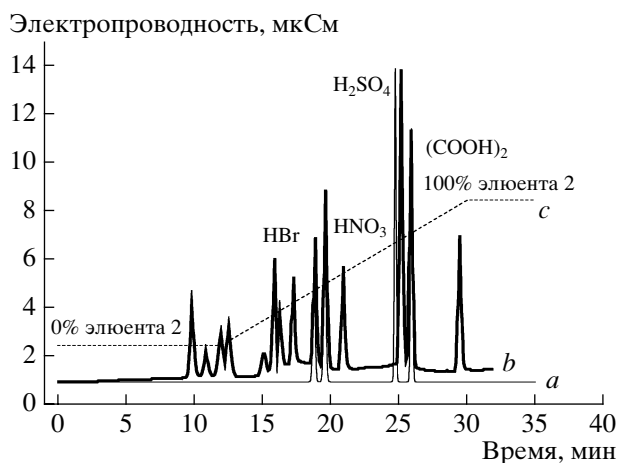


Рис. 2. Сравнение расчетной (а) и экспериментальной (b) хроматограмм для случая градиентного элюирования (с – линия, отображающая режим изменения силы элюента).

К сожалению, повысить критерий разделения методом ГЭИХ удастся только для разнозаряженных ионов. Для одинаково заряженных ионов нетрудно доказать, что величина $|t_i - t_j|$ также выражается через $t_{\text{изократ}}$ и, следовательно, критерий разделения R_{ij} будет тем же.

МОДЕЛЬНЫЕ РАСЧЕТЫ

В качестве экспериментальной возьмем хроматограмму из каталога фирмы “Dionex” [9], полученную методом ГЭИХ, и сравним ее с расчетной хроматограммой, полученной с помощью программы IonChrom, модифицированной нами для режима ГЭИХ. Подробно процесс моделирования этой хроматограммы описан нами в работе [7]. В данной работе будем рассчитывать только четыре пика: два однозарядных иона (бромид, нитрат) и два двухзарядных (сульфат, оксалат). Результаты представлены на рис. 2 и в табл. 1. Критерий разделения $R_{i,i+1}$ здесь и во всех последующих таблицах вычисляется по упрощенной формуле (16), поскольку в данной работе мы исследуем общие закономерности хроматографирования, а не конкретное разделение пиков, сильно отличающихся по высоте.

Градиентный режим в данном опыте реализуется путем смешения двух элюентов. Пропорции смешения меняются во времени, как показано на рис. 2. У первого элюента $\text{pH} = 11.7$, у второго 12.9, сила x суммарного элюента при этом изменяется от -0.75 до $+0.4$. Из рис. 2 видно, что программа IonChrom адекватно моделирует реальную хроматограмму.

Для подтверждения выводов данной работы о зависимости критерия R_{ij} от режима ГЭИХ произведем еще два модельных расчета на той же хро-

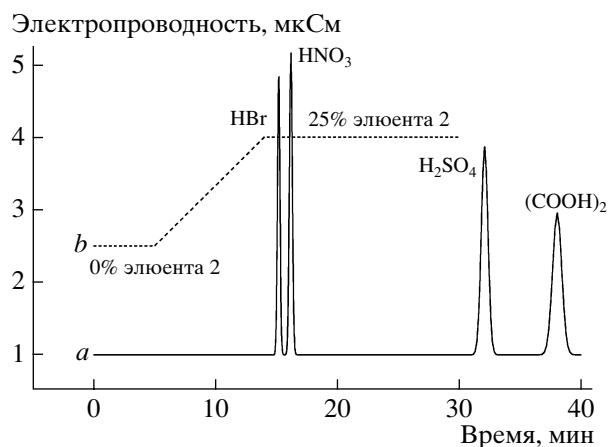


Рис. 3. Модельная хроматограмма (а) для случая градиентного элюирования (b – линия, отображающая режим изменения силы элюента).

матографической системе, изменяя только параметры градиентного режима. Для удобства сравнения результатов градиентный режим организуем так, чтобы пики в обоих расчетах выходили из колонки при одинаковых условиях: $x = -0.097$, $\text{pH} = 12.38$ (рис. 3, 4). В первом расчете сила элюента x изменяется от -0.75 до -0.097 , во втором – постоянна, $x = -0.097$.

Результаты расчетов, представленные на рис. 3, 4 и в табл. 2, 3, позволяют корректно сравнить возможности градиентного и изократического режимов хроматографирования в области высокоэффективной хроматографии ($\Gamma_i \gg 1$, $x < 0$). Сравнение результатов табл. 2 и 3 показывает, что ширина пиков при высокоэффективном хроматографировании не зависит ни от метода хроматографирования (изократический, градиент-

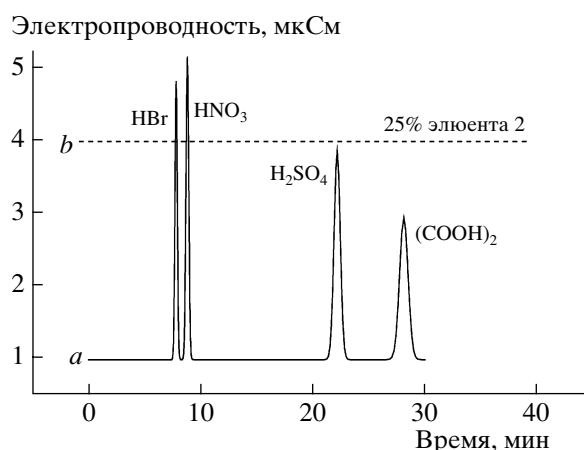


Рис. 4. Модельная хроматограмма (а) для изократического режима элюирования (b – линия, отображающая постоянный уровень силы элюента).

Таблица 2. Параметры пиков расчетной хроматограммы рис. 3 (ГЭИХ, все пики выходят из колонки при $x = -0.097$)

| Пик | t_R , мин | Ширина пика, мин | $\Delta t = t_{i+1} - t_i$ | $R_{i,i+1}$ |
|--------------------------------|-------------|------------------|----------------------------|-------------|
| HBr | 15.18 | 0.24 | 1.00 | 1.89 |
| HNO ₃ | 16.18 | 0.28 | 15.89 | 16.94 |
| H ₂ SO ₄ | 32.07 | 0.65 | 5.95 | 3.84 |
| (COOH) ₂ | 38.02 | 0.89 | | |

Таблица 3. Параметры пиков расчетной хроматограммы на рис. 4 (изократическое элюирование при $x = -0.097$)

| Пик | t_R , мин | Ширина пика, мин | $\Delta t = t_{i+1} - t_i$ | $R_{i,i+1}$ |
|--------------------------------|-------------|------------------|----------------------------|-------------|
| HBr | 7.83 | 0.24 | 1.00 | 1.89 |
| HNO ₃ | 8.83 | 0.28 | 13.36 | 14.23 |
| H ₂ SO ₄ | 22.19 | 0.65 | 5.95 | 3.84 |
| (COOH) ₂ | 28.14 | 0.89 | | |

ный), ни от способа задания градиента, а определяется только силой элюента в момент выхода пиков. Методом градиентного элюирования не удается добиться лучшего разрешения для пиков

ионов, имеющих одинаковый заряд, но при должном выборе режима можно улучшить разделение разнозарядных пиков.

Работа проводилась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта 05-03-32476).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Madden J.E., Avdalovic N., Haddad P.R. et al. // J. Chromatogr. A. 2001. V. 910 (1). P. 173.
2. Houtun F., Yaoping L., Minjie X. // J. Chromatogr. A. 2002. V. 945. P. 97.
3. Bolanca T., Cerjan-Stefanovic S., Regelja M., Regelja H., Loncaric S. // J. Separat. Sci. 2005. V. 28. P. 1427.
4. Прудковский А.Г., Долгоносов А.М. Программа для моделирования ионной хроматографии ION-CHROM. Роспатент, Свид. № 2000610520 (РФ), 19.06.2000.
5. Прудковский А.Г., Долгоносов А.М. // Журн. аналит. химии. 1999. Т. 54. № 2. С. 118.
6. Прудковский А.Г. // Журн. аналит. химии. 2000. Т. 55. № 5. С. 494.
7. Долгоносов А.М., Прудковский А.Г., Колотилина Н.К. // Журн. аналит. химии. 2007. Т. 62. № 11. С. 1162.
8. Долгоносов А.М., Сенявин М.М., Волощук И.Н. Ионный обмен и ионная хроматография. М.: Наука, 1993.
9. Dionex Catalog, www.dionex.com

Sample Peak Width in Gradient Ion Chromatography

A. G. Prudkovskii

*Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Kosygina 19, Moscow, 117975 Russia*

Abstract—A mathematical model is constructed for calculating peak widths and positions in gradient ion chromatography. It is shown that in high performance chromatography, the width of the chromatographic peak is completely determined by the eluant properties at the moment of peak elution from the column. Model test calculations are presented.