

ОБЛАДНАННЯ

ВАКУУМНА УЛЬТРАФІОЛЕТОВА СПЕКТРОСКОПІЯ (GC-VUV) - НОВИЙ ІНСТРУМЕНТ ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АНАЛІТІВ У ГАЗОВІЙ ХРОМАТОГРАФІЇ

Вступ

Вакуумна ультрафіолетова спектроскопія (VUV) – сучасна інноваційна технологія, яка була представлена у 2014 році та реалізована як універсальний детектор для газової хроматографії (Gas Chromatography – Vacuum Ultraviolet, GC-VUV).

Отримання якісних спектрів в діапазоні вакуумного ультрафіолету (120-240 нм) історично обмежувалось використанням громіздких та дорогих синхротронів для подолання шуму, викликаного фоновим поглинанням атмосфери. Детектор VGA-100™ для GC-VUV (рис. 1) є першим спектрометром, який реєструє повний спектр VUV, а модель VGA-101™ має розширений діапазон довжин хвиль до 430 нм. Обидва детектори мають унікальну можливість збору та обробки спектрів для якісної та кількісної оцінки більшості сполук.



Рис. 1. Детектор VGA-100™ для GC-VUV

Спектральні дані GC-VUV за своєю суттю є тривимірними (час, абсорбція, довжина хвилі) та специфічними для хімічної структури. Майже всі сполуки мають поглинання в області VUV електромагнітного спектру, за винятком газів-носіїв: водню, гелію та аргону. Високоенергетичні, короткохвильові VUV-фотони ініціюють електронні переходи $\sigma \rightarrow \sigma^*$ та $\pi \rightarrow \pi^*$ практично в усіх хімічних зв'язках. Результатом є спектральні «відбитки пальців», які є специфічними для окремої структури сполуки та можуть бути легко ідентифіковані бібліотекою VUV-спектрів. Такі спектри є унікальними, і тому дозволяють чітко диференціювати дуже схожі сполуки, такі як структурні ізомери. Детектори VUV забезпечують ідеальне доповнення до мас-спектрометрії, оскільки долають проблему розділення структурних ізомерів і речовин, мас-спектр яких складається з іонів, які мають невелику молекулярну масу. Спектри VUV також можуть бути використані для деконволюції (розділення) спільно елююючих аналітів, що дозволяє проводити визначення кількісного та якісного внеску кожної окремого аналіту.

Значне зменшення часу аналізу на газовому хроматографі здійснюється за допомогою хроматографічного стиснення, тобто проведення аналізу з підвищеною швидкістю потоку газу-носія та температурою термостату колонки. VUV-спектроскопія відповідає простому лінійному співвідношенню між поглинанням і концентрацією, що описується законом Бугера-Ламберта-Бера. Якісні спектральні дані VUV отримуються дуже швидко у порівнянні з ідентифікацією за часом утримання, що робить технологію доступною для вирішення як дослідницьких задач, так і поточного аналізу на виробництві. Додатковою перевагою

детектора VUV є можливість автоматизувати аналіз даних про класи сполук складних зразків. Спектри поглинання VUV мають схожість ознак для різних класів сполук. Швидка характеристика класу сполук в складних зразках може бути досягнута при використанні інформації про спектральну форму та індекс утримання. Програмне забезпечення VUV Analyze™ зменшує час обробки типових даних аналізу класів сполук з 15-30 хвилин до менш ніж однієї хвилини на зразок.

Цей короткий вступ до GC-VUV описує основні переваги цього унікального детектора для вирішення різних аналітичних завдань.

Основні положення

Детектори газової хроматографії VGA

Детектори VGA-100™ і VGA-101™ сумісні з більшістю газових хроматографів різних виробників, що присутні на ринку. Детектор приєднується через термостатовану трансфер-лінію для перенесення зразка безпосередньо від капілярної колонки газового хроматографа. Також до трансфер-лінії підключають додаткове джерело газу-носія (Make-up Gas inlet). Аналіти надходять у проточну кювету (Flow cell) і піддаються впливу випромінювання дейтерієвої лампи. Світловідбиваюча оптика має спеціальне покриття, що в поєднанні з CCD пристроєм (Charge-Coupled Device) надає можливість збирати високоякісні дані поглинання у вакуумному ультрафіолеті.

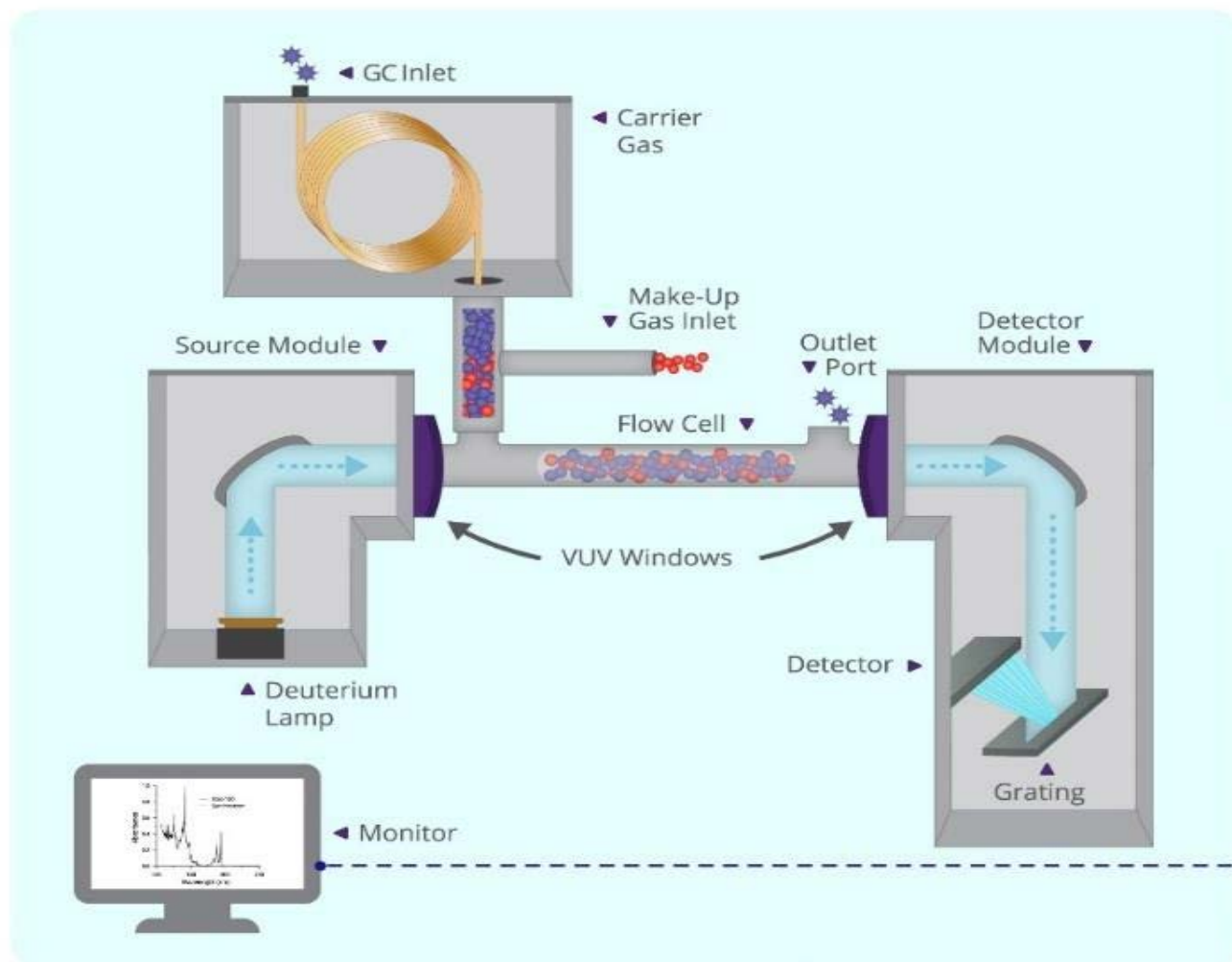


Рис. 2. Схема приєднання газового хроматографа до детектора VUV.

Розміри детектора, м: 0,762 x 0,33 x 0,432. Об'єм проточної кювети становить ~ 40 мм³; довжина – 0,1 м.

VUV Спектральна ідентифікація

Компоненти газової фази поглинають і відображають унікальні спектри в діапазоні довжин хвиль 120-240 нм, в якому можуть збуджуватися і досліджуватися електронні переходи з високою енергією $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$. Спектри VUV відображають поперечний переріз поглинання сполук і є специфічними для їх електронної структури і розташування функціональних груп. Здатність VUV-детекторів обробляти спектри більшості сполук призводить до універсальної та високоселективної ідентифікації аналітів. Дані VUV спектроскопії є дуже характеристичними, і в той же час надають кількісну інформацію. Поширені детектори газової хроматографії, такі як детектор електронного захоплення (Electron Capture Detector, ECD), полуменево-іонізаційний детектор (Flame Ionization Detector, FID), детектор теплопровідності (Thermal Conductivity Detector, TCD) надають кількісну, але не якісну інформацію. Мас-спектрометричні детектори (Mass Spectrometry Detector, MSD) генерують якісні та кількісні дані, але мають труднощі при визначенні нестійких сполук та сполук з малою молекулярною масою, а також при розрізненні структурних ізомерів. Детектор VUV може доповнювати та надавати вторинне підтвердження даних, що були отримані на мас-детекторах, але при цьому значно зменшуючи час аналізу та його вартість. На даний час використання технології вакуумної ультрафіолетової спектроскопії — єдина альтернатива використанню декількох детекторів для якісного та кількісного аналізу.

Нафтоли, ксилоли, цис- і транс-жирні кислоти є сполуками, які неможливо відрізнити за мас-спектрами при електронній іонізації. Ксилоли являють собою додаткову проблему природної коелюції, що робить проблематичним розділення їх ізомерних форм. На рис. 3 показані чіткі спектри VUV орто-, мета- і пара-ксилолу. Ці сполуки можна диференціювати незважаючи на те, що їх єдина відмінність полягає у положенні двох метильних груп у бензольному кільці. Спектральні відмінності цих ізомерів дозволяють розв'язати проблему їх коелюції за допомогою алгоритму спектральної деконволюції.

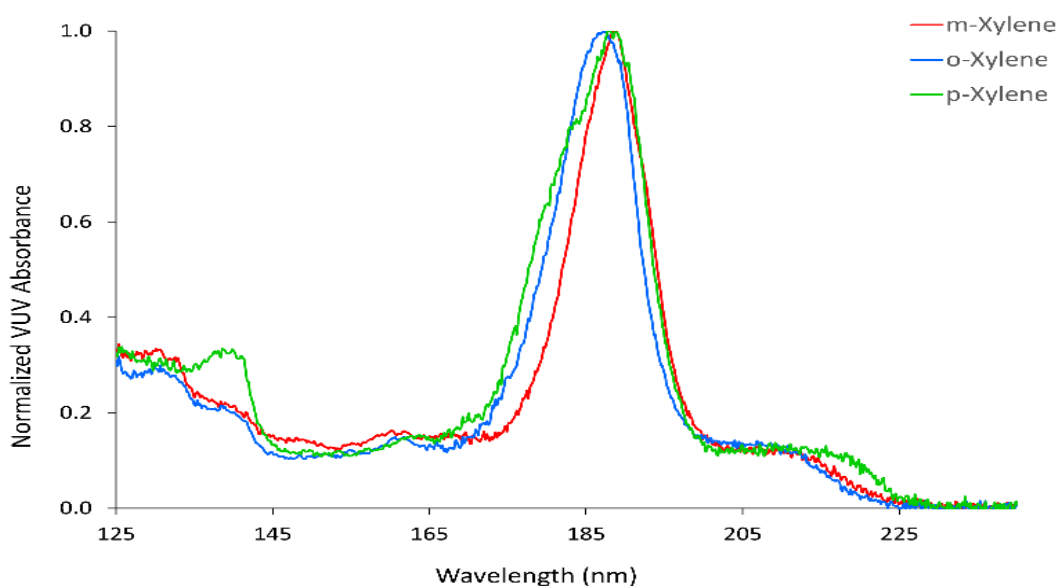


Рис. 3. Відмінності спектрів VUV орто-, мета- і пара-ксилолу.

Сполуки відрізняються лише положеннями двох метильних груп у бензольному кільці, їх практично неможливо відрізнити за допомогою мас-детекторів.

Скринінг і профілювання жирних кислот – це завдання, яке зазвичай вимагає використання декількох детекторів для досягнення кількісних і якісних результатів. Полум'яно-іонізаційний детектор – для рутинного скринінгу та кількісного аналізу на базі індексів утримання. Мас-детектор – для якісного та кількісного визначення, але він не дає коректних результатів при дослідженні зразків, в яких переважають ізобарні аналіти. Також виникають проблеми із визначенням цис- і транс-ізомерів жирних кислот. Окрім цього,

електронна іонізація може викликати міграцію подвійних зв'язків і призводити до неоднозначності структурних даних жирних кислот.

Визначення розподілу цис- і транс-жирних кислот в оліях і жирах має важливе значення для оцінки їх потенційного впливу на здоров'я. VUV-спектри транс-ізомерів метилових ефірів жирних кислот (fatty acid methyl ester, FAME), які зазвичай аналізують в жирах і рослинних оліях, показані на рис. 4. Такі транс-ізмери хроматографічно відокремлюються від цис-ізомерів і мають тенденцію до коелюції один з одним, а в деяких випадках, з виділеними ізомерами C20:1. GC-VUV не тільки здатний диференціювати варіанти C18:3 FAME, але також здатний відрізнити цис-ізомери від транс-ізомерів. Ступінь ненасиченості, наприклад C20:1 проти C18:3, може бути визначений додатково.

Чіткі спектри, які отримуються на VUV-детекторі, значно спрощують проведення аналізів, а саме дозволяють здійснювати пряму деконволюцію і точне кількісне визначення цис- і транс-ізомерів метилових ефірів жирних кислот.

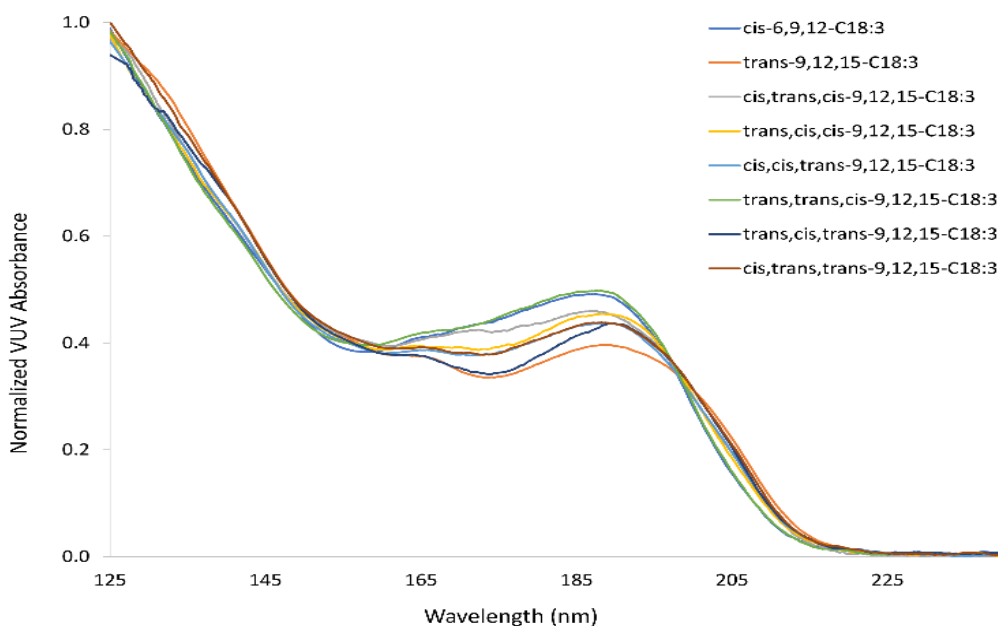


Рис. 4. VUV-спектри метилових ефірів жирних кислот (FAME) цис- і транс-ізомерів, характерних для рослинних олій. GC-VUV може легко розрізнити ізомери C18:3 FAME, класифікувати цис- і транс-ізомери та визначати ступінь ненасиченості.

Швидка деконволюція GC-VUV

Унікальні спектри поглинання VUV дозволяють не тільки однозначно ідентифікувати сполуки, а також значно зменшити час аналізів (хроматографічне стиснення). Детектори VUV працюють за нормального атмосферного тиску, отже швидкість потоку в них не обмежена. Тому і можливе хроматографічне стиснення, яке досягається шляхом підвищення швидкості потоку в капілярних колонках і температури в термостаті колонок, що зменшує час аналізу. Для розв'язання проблеми будь-якої коелюції, яка може виникати внаслідок хроматографічного стиснення, використовується алгоритм спектральної деконволюції. Додаткова особливість – поглинання VUV, при якому піки, що перекриваються, дають спектр, який відповідає сумі абсорбції кожної сполуки. Якщо VUV-спектри для коелюючих сполук є в бібліотеці VUV, то може бути визначений індивідуальний внесок кожного аналіту.

Здатність диференціювати спектри аналітів і використовувати їх для деконволюції сигналів, що перекриваються, демонструє рис. 5. Окремі спектри терпенових вуглеводнів лімонену і пара-цимену наведені на панелі А. Також на панелі А показано спектр їх сумарної

абсорбції у вибраному інтервалі часу утримування (синя область на панелі В), який було співставлено з бібліотечними спектрами VUV.

Коефіцієнт достовірності співставлення $R^2 > 0,999$ підтверджує ідентичність спектрів сумарної абсорбції та дозволяє зробити деконволюцію цих та інших терпенів, що аналізуються за допомогою швидкого аналізу GC-VUV, як показано на панелі В.

Тестування на наявність залишкових розчинників в активних фармацевтичних інгредієнтах (API) є критично важливим для безпеки і зазвичай відповідає Методу 467 інструкцій Фармакопеї США (United States Pharmacopeia, USP), або, більш широко, рекомендаціям Міжнародної Ради з гармонізації (International Council for Harmonization, ICH), Директива Q3C(R6). Час аналізу на газовому хроматографі згідно методу USP 467 становить приблизно 60 хв. При аналізі залишкових розчинників мас-спектрометричним методом час визначення складає приблизно 30 хвилин. Метод поєднання GC-VUV зі статичним парофазним аналізом, розроблений з використанням підходу хроматографічного стиснення, призводить до зменшення часу аналізу до 8 хвилин. Метод GC-VUV використовує швидкість потоку $4 \text{ см}^3/\text{хв}$, а температура термостату колонки складає спочатку $35 \text{ }^\circ\text{C}$ (витримується протягом 1 хв), після чого збільшується до $245 \text{ }^\circ\text{C}$ зі швидкістю $30 \text{ }^\circ\text{C}/\text{хв}$.

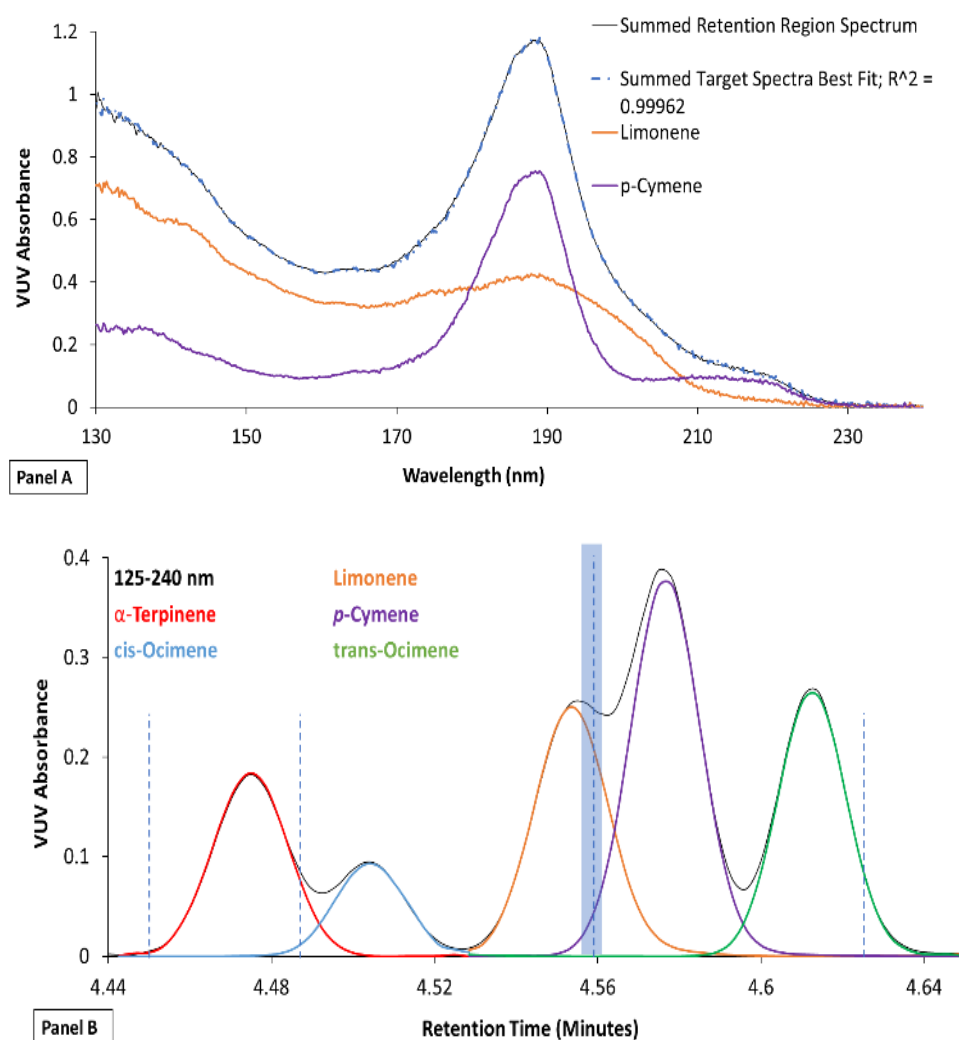


Рис. 5. Панель А показує індивідуальні спектри лімонену і пара-цимену разом зі спектром їх сумарної абсорбції у вибраному інтервалі часу утримування (синя область на панелі В), який було співставлено з бібліотечними спектрами VUV. Деконволюція цих та інших терпенів, проаналізованих за допомогою швидкого GC-VUV, представлена на панелі В.

Рис. 6 порівнює результати аналізу з використанням мас-детектора та детектора VUV для залишкових розчинників 2 класу. У порівнянні з методом GC-MS, при якому час виходу тетраліну становить приблизно тридцять п'ять хвилин, на GC-VUV той же аналіт виходить на сьомій хвилині.

Коелюція мета- і пара-ксилолу відбувалася в обох методах (GC-MS та GC-VUV). Програмне забезпечення VUV Analyze™ порівнює спектри абсорбції обох ізомерів аналіту з бібліотечними спектрами VUV (рис. 3) щоб провести деконволюцію перекритих сигналів, як показано на рис. 7. Достовірність отриманої інформації забезпечується тим, що правильне визначення ізомерів аналіту відбувається під час обробки даних після завершення аналізу.

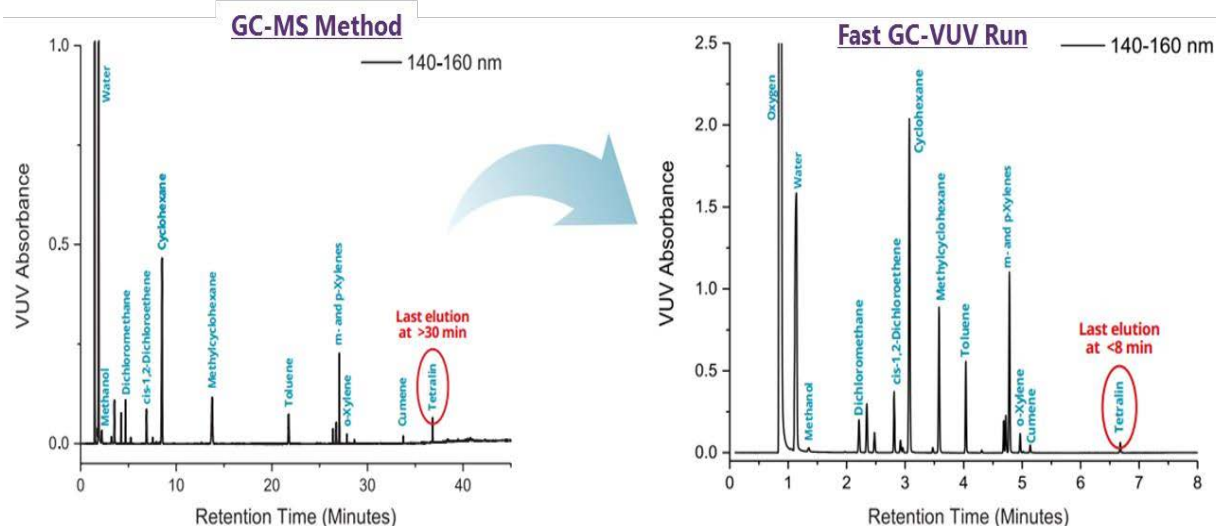


Рис. 6. Порівняння хроматограм, отриманих на GC-MS та GC-VUV, для контролю залишкових розчинників. Час виходу тетраліну складає: на GC-MS > 30 хвилин, на GC-VUV <7 хвилин.

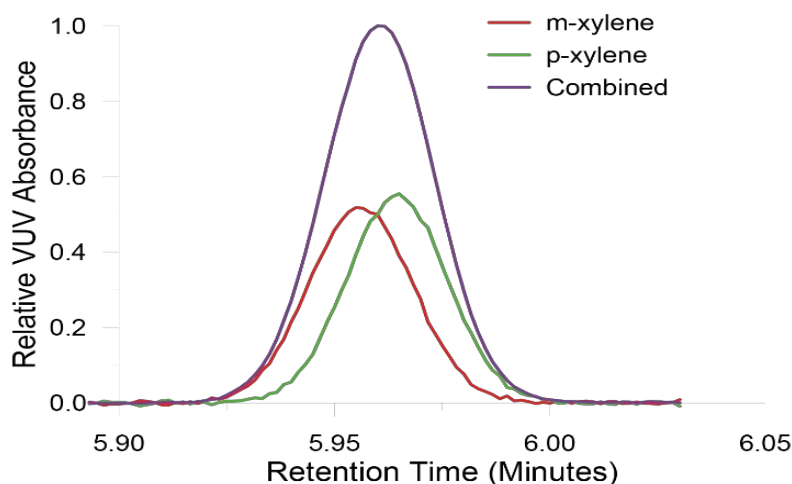


Рис. 7. Деконволюція перекритих сигналів мета- і пара-ксилолів. Внесок кожного аналіту показаний у співвідношенні до загальної абсорбції.

Підхід хроматографічного стиснення з підвищеною швидкістю потоку газу-носія було застосовано при розробці методу GC-VUV для аналізу залишкових кількостей розчинників. Іншим прикладом є зменшення часу аналізу терпену з 30 хвилин до 9 (деконволюція ізомерних монотерпенів, показана на рис. 5, панель В). Окремо можна зупинитись на тривалості аналізу сполук PIONA (парафінів, ізопарафінів, олефінів, нафтенів і ароматичних

вуглеводнів) зразків бензину, яку було скорочено до 14 хвилин. У порівнянні, типовий час проведення аналізу PIONA класичним методом (з використанням полуменево-іонізаційного детектора) займає щонайменш до двох годин. Програмне забезпечення VUV Analyze™ робить можливим більш швидкий підхід завдяки алгоритмам визначення характеристик класів сполук PIONA і деконволюції коелююючих аналітів під час процедури автоматичного аналізу даних.

Характеристики класів сполук

GC-VUV знаходить широке використання у виробничих умовах, де бажано робити аналіз компонентного складу. Оскільки різні класи сполук мають специфічні спектральні характеристики, то в програмному забезпеченні VUV Analyze™ реалізовано процедуру розрахунку для швидкого визначення відносного внеску кожного компонента зразка. Інформація за індексами утримання використовується для обмеження факторів пошуку та співставлення бібліотечних VUV-спектрів для кожного аналіту, що зменшує час аналізу до менш ніж однієї хвилини на зразок.

Для початку аналізу користувачу необхідно лише вказати файл з методом, в якому вже налаштовані всі параметри; обробка даних здійснюється в автоматичному режимі. Класи сполук та концентрації специфічних речовин можуть бути представлені по масам або об'ємним відсоткам.

Вивчення об'ємного складу компонентів зразка із використанням GC-VUV вперше було застосовано для поточних аналізів сполук PIONA у бензині. Цій метод виключає необхідність використання декількох колонок і складних інструментальних налаштувань, при значному зменшенні часу аналізу з 1-2 годин до 34 хвилин. Згідно вимог стандарту ASTM D8071 GC-VUV використовується для аналізу бензину, реформату, легкої та важкої нафти.

Типова хроматограма аналізу VUV Analyze™ зображена на рис. 8. Ми бачимо, як отримані спектри збігаються з бібліотечними VUV-спектрами для вибраного проміжку часу. VUV Analyze™ надає звіт з детальним описом кількості вуглецю в кожному класі сполук PIONA, а також відносну масу або об'ємний відсоток класів речовин у зразку. Таблицю з даними про масову долю у відсотках і кількість вуглецю зразка бензину з використанням ASTM D8071 можна побачити на рис. 9.

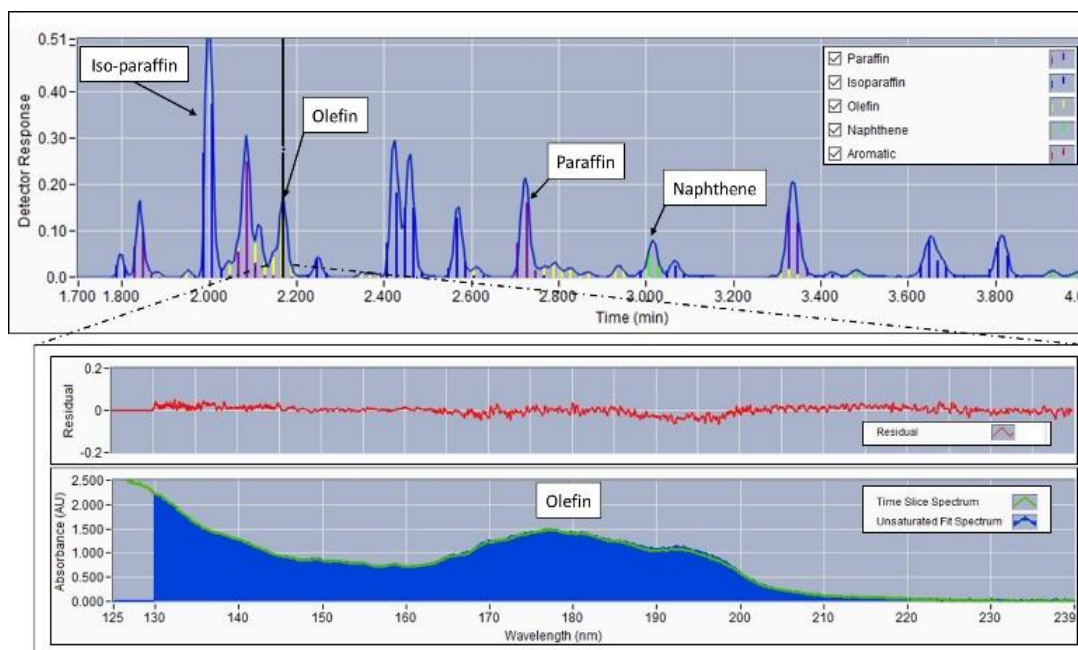


Рис. 8. Хроматограма зразка бензину з піками ключових компонентів PIONA. Також показано спектральні характеристики аналіту, що відповідають спектральним характеристикам класу олефінових сполук діапазону VUV.

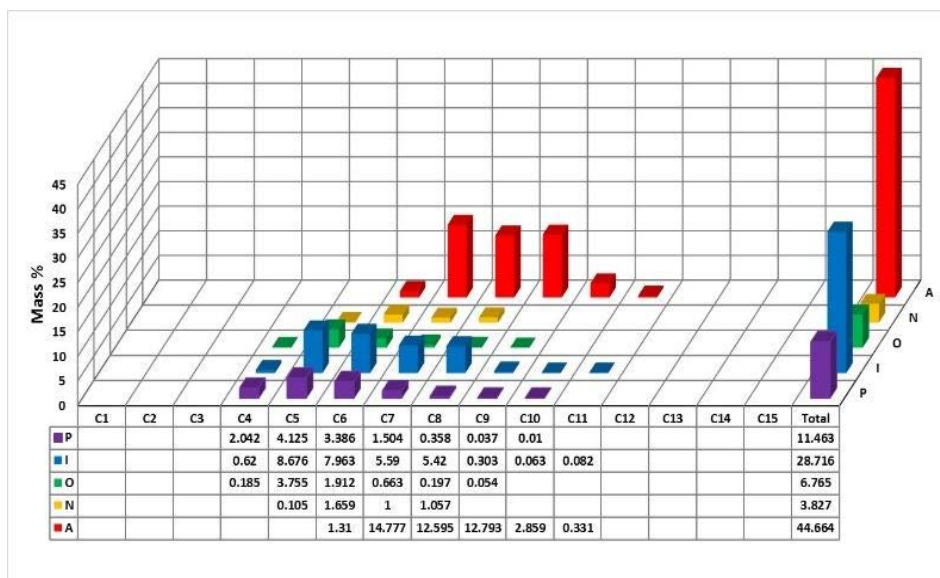


Рис. 9. Компонентний аналіз бензину у відповідності з вимогами стандарту ASTM D8071. Кількість вуглецю, масовий або об'ємний відсоток вмісту PIONA-сполук визначається за допомогою автоматизованого програмного забезпечення VUV Analyze™.

Висновки

Вакуумна ультрафіолетова спектроскопія має унікальні можливості, які дозволяють вирішувати багато проблем, властивих газохроматографічному розділенню та детектуванню. Характеристичні електронні переходи є унікальними для індивідуальних компонентів зразка. Спектральні «відбитки пальців» використовуються для диференціації дуже схожих сполук, включаючи структурні ізомери. Час аналізу може бути значно зменшений за рахунок збільшення швидкості потоку газу-носія та температури колонки (хроматографічне стиснення) та розділення коелюючих речовин завдяки процедурі спектральної деконволюції. Дані GC-VUV є як якісними, так і кількісними, при цьому зменшується навантаження на систему детектування, а в результаті надається повна характеристика зразків, які аналізуються. Простота отримання даних та автоматична обробка результатів значно спрощують роботу оператора, що ідеально підходить для вирішення як дослідницьких задач, так і поточного аналізу на виробництві.

ЛІТЕРАТУРА

1. K.A. Schug, I. Sawicki, D.D. Carlton, H. Fan, H.M. McNair, J.P. Nimmo, P. Kroll, J. Smuts, P. Walsh, D. Harrison. Vacuum ultraviolet detector for gas chromatography. *Anal. Chem.*, 2014. V. 86, P. 8329–8335.
2. H. Fan, J. Smuts, L. Bai, P. Walsh, D.W. Armstrong, K.A. Schug. Gas chromatography–vacuum ultraviolet spectroscopy for analysis of fatty acid methyl esters. *Food Chem.*, 2016. V. 194. P. 265–271.
3. C. Weatherly, Y. Zhang, J. Smuts, H. Fan, C. Xu, K.A. Schug, J.C. Lang, D.W. Armstrong. Analysis of Long-Chain Unsaturated Fatty Acids by Ionic Liquid Gas Chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 2016. V. 64. P. 1422–1432.
4. K.A. Schug, I.C. Santos. Recent advances and applications of gas chromatography vacuum ultraviolet spectroscopy. *J. Sep. Sci.*, 2017. V. 40. P. 138–151.
5. A Generic Method for the Analysis of Residual Solvents in Pharmaceuticals Using Static Headspace-GC-FID/MS. *Application Note 5989-9726EN*, Agilent Technologies, Inc.

ТОВ «СОК ТРЕЙД»

Надійшло до редакції 14 грудня 2018