

МЕТРОЛОГИЯ ВЭЖХ

ХРОМАТОГРАФ: "МИЛИХРОМ А-02"
КОЛОНКА: 2x75 мм, ProntoSIL 120-5-C18 AQ.
ЭЛЮЕНТ А: Вода
ЭЛЮЕНТ Б: Ацетонитрил
РАСТВОР "ТЕСТ": Антрацен, Бифенил, Нафталин, Пирен (по 0.10 мг/мл в метаноле)

* * *

Задание 1. Выполнить следующие процедуры:

- заполнить шприцы насосов;
- проверить герметичность;
- промыть иглу инжектора;
- промыть инжектор;
- установить температуры колонки 40°C
- подготовить колонку к работе (режим "Регенерация колонки" объём - 1000 мкл; %Б – 100; поток – 200 мкл/мин; $t=0.34$ с; длина волны – 210 нм) и оценить уровень дрейфа сигнала детектора и уровень его шумов.

Задание 2. Записать 4 хроматограммы в следующих условиях:

Регенерация: 600 мкл элюента
Скорость потока: 200 мкл/мин
Температура колонки: 40°C
Детектор: 210 нм, $t=0.34$ с, однолучевой режим
Объём пробы: 2 мкл

Хроматограмма 1 - Элюент: Вода:Ацетонитрил (40:60) – 2400 мкл

Хроматограмма 2 - Элюент: Вода:Ацетонитрил (30:70) – 1500 мкл

Хроматограмма 3 - Элюент: Вода:Ацетонитрил (20:80) – 800 мкл

Хроматограмма 4 - Элюент: Вода:Ацетонитрил (10:90) – 600 мкл

Для каждого пика с помощью программы "МультиХром" вычислить:

- объём удерживания (V_R)
- эффективность колонки (N)
- ширину пика на половине его высоты (w)
- площадь пика (S_{210})
- коэффициент асимметрии пика ($A_{10\%}$).

Используя уравнение $V_R=V_0(1+k')$, вычислить значение фактора удерживания k' для каждого вещества при всех концентрациях. Построить графики в координатах:

$$\{\%ACN - \log k'\}$$

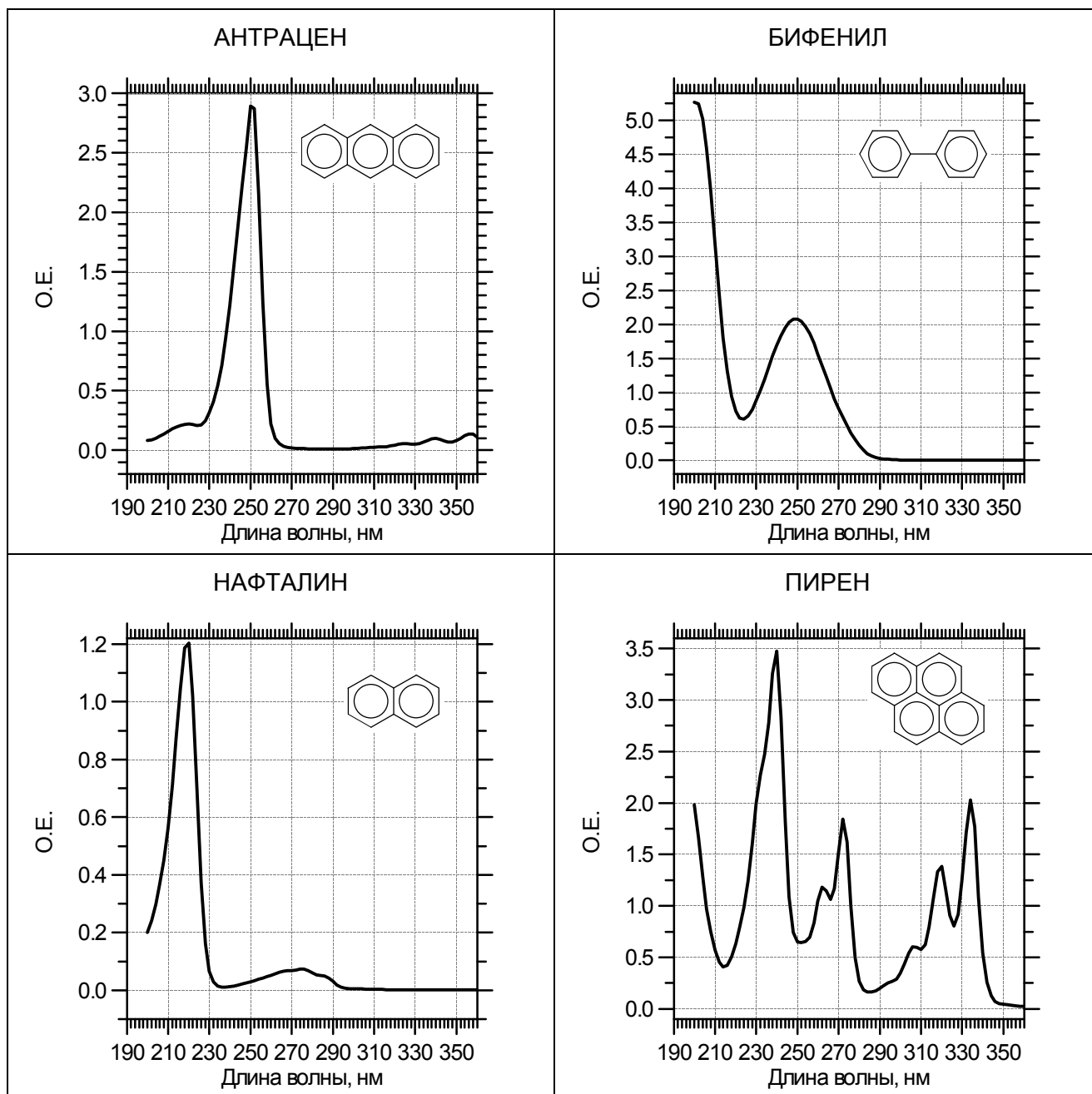
Задание 3. Повторно записать **хроматограмму 2**, останавливая поток вблизи вершины каждого пика и записывая УФ спектр элюата в диапазоне длин волн 200-360 нм ($t=0.10$ с). Спектр нулевой линии записать после остановки потока на 3-ей минуте. Сравнить записанные спектры растворов веществ с приведенными ниже спектрами и идентифицировать пики веществ на хроматограмме 2.

Задание 4. Записать хроматограмму в следующих условиях:

Элюент: Вода:Ацетонитрил (30:70) – 1500 мкл
Регенерация: 600 мкл элюента
Скорость потока: 100 мкл/мин
Детектор: $\lambda_1-\lambda_8=230, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 340$ нм; $t=0.10$ с
Температура колонки: 40°C
Объём пробы: 2 мкл

Для всех пиков вычислить значения спектральных отношений S_λ/S_{260} и, используя эти значения, идентифицировать пики на хроматограмме с помощью данных из таблице 1. По величине S_{260} оценить концентрацию вещества в анализируемом растворе.

УФ-СПЕКТРЫ КОМПОНЕНТОВ РАСТВОРА "ТЕСТ"
В 60% ВОДНОМ АЦЕТОНИТРИЛЕ



Задание 5. По хроматограмме 2 (задание 2) с помощью программы "МультиХром" составить *Таблицу компонентов* и построить *графики концентрационных зависимостей*. Повторить запись хроматограммы 2 и с помощью программы "МультиХром" идентифицировать пики веществ на хроматограмме и определить концентрации веществ. Сравнить результаты анализа с полученными ранее и оценить погрешности измерения объёмов удерживания веществ и погрешности определения их концентрации.

Таблица 1. База данных "ВЭЖХ-УФ ПАУ"

Спектральные данные получены в растворителе H_2O -MeOH-MeCN (5:45:50)

№ №	Название вещества	S ₂₆₀ (1 мкг), о.е.-мкл	Спектральные отношения S _i /S ₂₆₀						
			S ₂₃₀	S ₂₅₀	S ₂₇₀	S ₂₈₀	S ₂₉₀	S ₃₀₀	S ₃₄₀
1	Бензол	0.48	0.16	1.13	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00
2	Карбазол	40.79	2.90	1.32	0.29	0.62	1.07	0.29	0.13
3	Толуол	1.23	0.11	0.61	0.59	0.01	0.01	0.00	0.00
4	9,10-Дигидроантрацен	77.09	0.41	1.54	0.54	0.32	0.06	0.08	0.15
5	Инден	23.99	0.77	1.54	0.19	0.07	0.03	0.00	0.00
6	Азулен	97.74	0.65	0.48	2.06	1.85	0.29	0.08	0.17
7	Нафталин	14.45	1.19	0.58	1.31	1.14	0.59	0.09	0.01
8	<i>орто</i> -Ксилол	1.29	0.18	0.57	0.84	0.03	0.00	0.00	0.01
9	<i>пара</i> -Ксилол	1.29	0.93	0.42	1.27	0.23	0.01	0.00	0.01
10	Аценафтилен	9.06	18.72	0.84	0.89	0.68	1.12	2.08	1.53
11	1-Метилнафталин	10.69	8.09	0.49	1.64	1.97	1.50	0.45	0.01
12	Бифенил	48.40	0.51	1.33	0.48	0.14	0.02	0.00	0.00
13	Аценафтен	6.30	26.26	0.47	1.91	2.92	3.26	2.13	0.04
14	Флуорен	52.60	0.16	0.70	0.76	0.32	0.30	0.36	0.00
15	Дибензотиофен	38.26	4.32	1.35	0.45	0.58	0.32	0.12	0.01
16	Фенантрен	82.75	0.57	2.49	0.51	0.42	0.33	0.06	0.01
17	1,4-Диметилнафталин	9.40	24.01	0.50	1.88	2.85	3.23	2.29	0.03
18	1,5-Диметилнафталин	9.00	20.34	0.53	1.82	2.56	2.63	1.79	0.03
19	2,3-Диметилнафталин	11.35	15.05	0.52	1.37	1.39	0.98	0.20	0.05
20	1,3-Диметилнафталин	8.77	20.80	0.50	1.60	1.97	1.67	0.71	0.02
21	1,6-Диметилнафталин	17.87	18.13	0.48	1.59	1.94	1.59	0.63	0.01
22	Дибензил	3.00	0.46	0.75	0.47	0.01	0.01	0.01	0.01
23	Антрацен	27.07	1.52	15.6	0.07	0.03	0.04	0.06	0.52
24	3,6-Диметилнафталин	9.19	15.25	0.67	1.23	1.08	0.61	0.15	0.02
25	4H-Циклопентафенантрен	65.47	0.62	2.17	0.44	0.34	0.40	0.47	0.01
26	Флуорантен	30.60	2.83	1.28	0.95	1.52	1.13	0.19	0.65
27	Пирен	49.90	1.89	0.56	1.49	0.22	0.18	0.31	0.55
28	Трифенилен	249.38	0.16	0.86	0.21	0.17	0.11	0.03	0.00
29	Бензо[а]флуорен	240.87	0.35	0.61	0.20	0.18	0.24	0.25	0.02
30	9-Бензилантрацен	144.32	0.19	1.19	0.05	0.01	0.01	0.01	0.04
31	Бенз[а]антрацен	51.14	0.91	0.96	1.22	1.79	1.79	0.22	0.20
32	Хризен	88.04	0.25	0.48	1.18	0.17	0.14	0.14	0.01
33	Бензо[е]пирен	59.60	1.06	0.84	1.01	1.34	1.67	0.50	0.08
34	Перилен	21.77	1.09	2.68	0.39	0.13	0.09	0.06	0.10
35	Бензо[б]флуорантен	77.89	0.94	0.98	0.63	0.63	0.68	0.74	0.28
36	5-Метилхризен	201.41	0.37	0.44	1.50	0.22	0.15	0.15	0.01
37	Бенз[а]хризен	89.06	0.24	0.75	1.07	1.15	0.77	0.22	0.11
38	Бензо[к]флуорантен	30.29	2.10	2.35	0.93	0.98	1.48	1.98	0.25
39	Бензо[б]антрацен	28.73	0.23	0.36	3.44	1.88	0.40	0.17	0.03
40	Бенз[а]пирен	86.38	0.40	0.81	0.78	0.76	0.76	0.64	0.16
41	Дибензо[а,h]антрацен	24.15	1.88	0.58	2.08	3.55	5.85	5.30	0.58
42	Бензо[g,h,i]перилен	39.80	1.01	0.84	1.27	1.38	2.03	2.41	0.34
43	Коронен	5.42	1.08	0.87	1.59	3.83	11.79	26.91	5.43
44	Рубрен	7.11	1.96	1.05	1.19	1.99	4.55	6.64	0.21