

## Kombinácia plynovej chromatografie a hmotnostnej spektrometrie

E. LAZAR

Ak by sme mali vymenovať moderné fyzikálno-chemické metódy, niekde na začiatku by sme iste, a nie neoprávnené, spomenuli plynovú chromatografiu a hmotnostnú spektrometriu, pretože dnes prakticky nejestvuje oblasť chemického výskumu, v ktorej by tieto metódy nenašli svoje uplatnenie.

Plynová chromatografia (PČH) a hmotnostná spektrometria (HS) ako samostatné metódy prešli osobitým vývojom. Základy hmotnostnej spektrometrie položil J. J. Thomson, ktorý r. 1913 analyzoval anódové lúče neónu. Prvý hmotnostný spektrograf skonštruoval r. 1919 F. W. Aston. V organickej chémii sa HS prvýkrát použila pri kvalitatívnej analýze ropných produktov r. 1950. Širšie použitie HS možno však pozorovať až od r. 1960. Pre vývoj plynovej chromatografie bola významná práca Martina a Syngea [1], ktorí upozornili, že v chromatografickom systéme kvapalina—kvapalina možno nahradiť pretekajúcu kvapalinu plynom. Prakticky sa táto myšlienka potvrdila až r. 1952, keď Martin a James [2] opísali svoje úspešné pokusy v tejto oblasti. Práca mala veľký ohlas a krátko po jej publikovaní došlo k prudkému rozvoju plynovej chromatografie.

Prvé spojenie plynového chromatografu a hmotnostného spektrometra uskutočnili r. 1957 Holmes a Morell [3], ktorí študovali plyné zmesi s použitím deliaceho systému, umožňujúceho napúšťanie menej ako 1% zmesi vystupujúcej z kolóny plynového chromatografu do iónového zdroja hmotnostného spektrometra. Ďalší krok v tejto oblasti urobil r. 1959 Gohlke [4], ktorý študoval zlúčeniny nízkej molekulovej hmotnosti, pričom používal priame spojenie kapilárnej kolóny s hmotnostným spektrometrom. Roku 1964 skonštruoval Ryhage tryskový separátor s použitím kombinovanej metódy PCHHS študoval zmesi masných kyselín a uhľovodíkov nízkej molekulovej hmotnosti [5].

Prvý prístroj na trhu, využívajúci obidve metódy, bol GC-MS systém s tryskovým separátorom, skonštruovaný r. 1965 výrobcom LKB AB, Štokholm, prvou aplikáciou kombinovanej metódy bola na tomto prístroji analýza metylesterov masných kyselín, izolovaných z masla. Zo získaných spektier sa identifikovalo 27 zložiek [6].

Aj keď od uvedenia obidvoch metód do praxe uplynul pomerne krátky čas, v odbornej literatúre možno nájsť veľa titulov z oblasti plynovej chromatografie [7—11], hmotnostnej spektrometrie [12—14] i kombinovanej PCH-HS

metódy [15], nehovoriac o mnohých článkoch, publikovaných v rozličných odborných časopisoch.

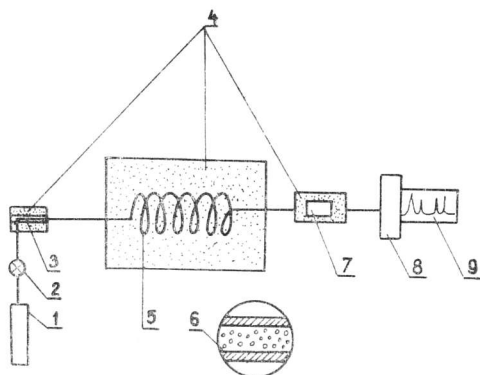
Tento príspevok má byť preto stručnou charakteristikou jednotlivých metód s poukázaním na problémy, ktoré vznikajú pri spojení plynového chromatografu a hmotnostného spektrometra, ako aj na možnosti aplikácie kombinovanej PCH-HS metódy v chemickom výskume. Na podrobnejšie štúdium teoretických problémov PCH a HS odporúčame uvedenú literatúru.

## 1. Plynová chromatografia

Plynová chromatografia je mimoriadne citlivá metóda delenia prchavých látok, založená na rozdelení látky na dve fázy: nepohyblivú s veľkým povrchom (stacionárna fáza) a pohyblivú, ktorou je nosný plyn. Možno povedať, že plynová chromatografia je akousi obdobou destilácie. V priaznivom prípade možno ňou rozdeliť zmes zlúčenín s dostatočným tlakom nasýtených pár (1—1000 Torr) pri teplotách od  $-70$  do  $+400$  °C na jednotlivé zložky, vyhodnotiť kvalitatívne i kvantitatívne údaje o danej zmesi. Jej citlivosť závisí v neposlednom rade od použitého detektora; použitím vysokoselektívnych detektorov možno analyzovať hmotnostné množstvá v oblasti  $10^{-12}$  g. Z dvoch typov PCH — adsorpčnej a rozdeľovacej — budeme sa ďalej venovať rozdeľovacej plynovej chromatografii.

### 1.2 Princíp činnosti a funkčné časti plynového chromatografu

Obrázok 1 schematicky znázorňuje plynový chromatograf. Celkovú činnosť plynového chromatografu možno opísať krátko takto: vzorka sa injektuje do injekčného bloku, v ktorom sa odparí a nosný plyn ju unáša do chromato-



Obr. 1. Schéma plynového chromatografu. 1 — zásobník nosného plynu; 2 — ventil; 3 — injekčný blok; 4 — termostaty; 5 — kolóna; 6 — rez kolónou; 7 — detektor; 8 — zapisovač; 9 — chromatogram.

grafickej kolóny. Vplyvom rozličnej rozpustnosti jednotlivých zložiek v stacionárnej fáze dochádza počas prechodu zmesi kolónou k jej rozdeleniu na jednotlivé zložky. Takto oddelené zložky vstupujú postupne do detektora, v ktorom sa detegujú. Signál vznikajúci v detektore sa zosilní a privádza na zapisovač, ktorý zapíše priebeh celej analýzy vo forme tzv. chromatogramu. V ideálnom prípade, ak kolóna rozdelí zmes, pozostávajúcu z  $x$  zložiek, môžeme na chromatograme pozorovať  $x$  pík, pričom každý z nich prislúcha jednotlivej zložke (vzdialenosť od začiatku). Na identifikáciu zložky, teda kvalitatívnu analýzu, nám okrem iného slúžia tzv. elučné charakteristiky (elučný čas, elučný objem). Kvantitatívne zastúpenie zložiek sa vyhodnocuje podľa plochy jednotlivých pík, pretože plocha je v prvom priblížení úmerná množstvu danej zložky.

*Nosný plyn* je pre činnosť plynového chromatografu nevyhnutne potrebný. Na jeho čistotu a inertnosť sa kladú vysoké požiadavky. Musí vyhovovať aj použitému detektoru. V PCH sa obyčajne používa He, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>.

*Injekčný blok* je vyhrievaný priestor, do ktorého ústi začiatok chromatografickej kolóny. V priestore injekčného bloku dochádza k vypareniu vzorky, preto teplota injekčného bloku musí byť dostatočne vysoká, aby vyparenie vzorky prebehlo v krátkom čase (v opačnom prípade dochádza k rozmývaniu pík); na druhej strane však nesmie byť príliš vysoká, aby nedošlo k termickej deštrukcii zložiek zmesi.

*Kolóna* je základnou súčasťou plynového chromatografu. Od jej kvality, druhu i spôsobu naplnenia závisí úspech celej analýzy. Chromatografické kolóny pozostávajú najčastejšie z ocelevej alebo sklenenej rúrky, vo vnútri ktorej je obyčajne na nosiči umiestnená stacionárna fáza. Kolóny delíme na náplňové a kapilárne. Odlišujú sa vnútorným priemerom, dĺžkou, spôsobom naplnenia; s tým súvisí predovšetkým ich efektívnosť. Stručné charakteristiky chromatografických kolón prehľadne uvádza tabuľka 1 [11].

Tabuľka 1. Charakteristiky kolón

Druh kolóny		Vnútorný priemer (mm)	Dĺžka (m)	VETP (mm)	Objem vzorky	
					plynná	kvapalná
náplňové	analytické	2—6	0,5—6	1	0,1—50 ml	0,04—20 $\mu$ l
	preparatívne	6—500	2—6	1—5	0,05—5 l	0,02—2 ml
kapilárne	bez náplne	0,1—0,5	10—100	0,5	0,1—10 $\mu$ l	0,004—5 $\mu$ l
	náplňové	0,3	0,5—50	0,5		

*Nosič* zabezpečuje veľký, rovnomerný a inertný povrch pre stacionárnu fázu. Dnes je na trhu veľa druhov nosičov. Spomeňme z nich napr. Chromosorb P, W, G, A, T, Porapak Q, P, R, S, Varaport. Rozmery častíc nosiča sa udáva-

jú v hodnotách mesh. Pre bežné analytické účely sa používajú nosiče s rozmerom častíc 100—120 mesh (0,149—0,124 mm) (ASTM).

*Stacionárna fáza* by v ideálnom prípade mala byť dobrým rozpúšťadlom pre komponenty zmesi, pri pracovnej teplote musí byť stabilná, inertná a málo prehavá (0,01—0,1 Torr). Podľa polarítymôžeme stacionárne fázy rozdeliť na polárne, nepolárne, špecifické a schopné vytvárať vodíkové väzby so zložkami zmesi. Podobne možno klasifikovať aj analyzované látky. Podľa známej skutočnosti, že podobné sa rozpúšťa v podobnom, je preto pre každý druh analýzy potrebné zvážiť požiadavky pri výbere stacionárnej fázy. Každý výrobca stacionárnych fáz (i hotových kolón) uvádza pre kvapalnú fázu základné údaje: polaritu, max. pracovnú teplotu a rozpúšťadlo, napr. SE-30, silikónová živica: nepolárna, max. pracovná teplota 300 °C, rozpúšťadlo chloroform. Tieto údaje sú veľmi dôležité:

1. Max. pracovná teplota sa nesmie prekročiť; v opačnom prípade dochádza k nadbytočnému úniku stacionárnej fázy („bleeding“).

2. Vzorka nesmie byť rozpustená v rozpúšťadle uvedenom pre stacionárnu fázu.

Dôsledkom nedodržania týchto podmienok je znehodnotenie kolóny a znečistenie detekčného systému.

*Detektor* slúži na detekciu zložiek vystupujúcich z chromatografickej kolóny. Kvalitný detektor musí byť predovšetkým necitlivý k zmenám teploty a rýchlosti nosného plynu, musí mať nízku hladinu šumu a lineárnu odozvu v širokom koncentračnom rozsahu. Zmieňme sa stručne o niektorých typoch detektorov.

Podstatou tepelne vodivostného detektora (TVD) (katarometer) je zohrievané vlákno s vysokým tepelným koeficientom ( $W, W + Re$ ), ktoré sa ochladzuje podľa toho, aká látka prúdi okolo neho. V ideálnom prípade je signál TVD ( $R, mV$ ) funkciou koncentrácie  $c$ :

$$R = k_1 \cdot c, \quad (1.1)$$

kde  $k_1$  je konštanta. Ak označíme plochu píku  $A$ , potom platí:

$$A = \frac{k_1 \cdot M}{F}, \quad (1.2)$$

kde  $M$  je hmotnosť zložky a  $F$  objemová rýchlosť nosného plynu. Keďže plocha je priamoúmerná hmotnosti zložky, možno určiť zastúpenie zložky v hmotnostných %, ak poznáme pomer plôch pík. Na druhej strane je plocha píku nepriamoúmerná  $F$ , preto pri kvantitatívnych analýzach treba udržiavať konštantnú rýchlosť nosného plynu.

Veľmi často používaný detektor je plameňovo-ionizačný detektor (FID). Plyn vychádzajúci z kolóny sa mieša s  $H_2$  a spaľuje v atmosfére  $O_2$ . Tvorí sa ióny a elektróny vstupujú do elektródového priestoru, znižujú jeho odpor, dôsledkom čoho je vznik prúdu vo vonkajšom okruhu. Mechanizmus vzniku nabitých častíc nie je ešte celkom známy a predpokladá sa, že termická ionizácia má malý podiel na celkovom počte ionizovaných častíc. FID je citlivý takmer na všetky organické látky, s výnimkou  $HCOOH$  [8, s. 144]. Je jednoduchý, lacný, s lineárnou odozvou v širokom rozsahu koncentračných zmien ( $10^7$ ). Plocha pík nezavisi od rýchlosti nosného plynu, keďže pre FID platí:

$$A = k_2 \cdot M, \quad (1.3)$$

kde  $k_2$  je konštanta,  $M$  — hmotnosť zložky.

Ionizačné detektory sa zakladajú na skutočnosti, že elektrická vodivosť plynu je úmerná koncentrácii nabitých častíc vznikajúcich ionizáciou nárazom elektrónov. Prúd nabitých častíc vytvára v elektródovom priestore elektrický prúd. Výsledné napätie na vonkajšom odpore  $R$  sa zosilňuje a vznikajúci signál sa vedie na zapisovač.

Zo špecifických detektorov spomeňme detektor elektrónového záchytu, ktorý sa používa pri analýzach pesticídov.

## 1.2 Teória metódy

Z mnohých teórií PCH venujme aspoň krátko pozornosť rýchlostnej teórii, ktorú vypracovali van Deemter a spol. [16] a Glueckauf [17]. Dôležitým údajom, vhodným na porovnávanie efektívnosti rozličných kolón je počet teoretických etáží ( $N$ ) a výškový ekvivalent teoretickej etáže (VETE), medzi ktorými je jednoduchý vzťah:

$$\text{VETE} = \frac{L}{N}, \quad (1.4)$$

kde  $L$  je dĺžka kolóny. VETE vlastne predstavuje dĺžku kolóny, nevyhnutnú na ustanovenie rovnováhy medzi stacionárnou a mobilnou fázou. Podľa známej van Deemterovej rovnice pre VETE platí:

$$\text{VETE} = 2\lambda d_p + \frac{2\gamma D_g}{\bar{u}} + \frac{2kd_f^2 \bar{u}}{3(1+k)^2 D_1}, \quad (1.5)$$

kde  $\lambda$  — konšt., ktorá je mierou naplnenia kolóny,  $\gamma$  — labyrintový faktor,  $d_p$  — stredný priemer častíc nosiča,  $D_g$  — difúzny koeficient látky v mobilnej fáze,  $\bar{u}$  — priemerná lineárna rýchlosť nosného plynu,  $k$  — priestorový faktor,  $d_f$  — efektívna hrúbka stacionárnej fázy,  $D_1$  — difúzny koeficient látky v stacionárnej fáze.

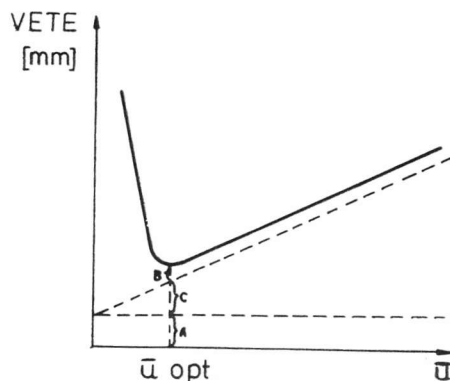
Niekedy sa (1.5) píše v skrátrenom tvare:

$$\text{VETE} = A + \frac{B}{\bar{u}} + C\bar{u}. \quad (1.6)$$

Zmenšovaním hodnoty VETE sa zvyšuje efektívnosť kolóny. Je teda účelné pracovať za takých podmienok, aby VETE bola minimálna. Keďže podľa (1.5) je VETE zložitou funkciou rozličných koeficientov, zisťuje sa minimálna hodnota VETE experimentálne. Podľa (1.6) je VETE funkciou  $\bar{u}$ . Tvar tejto závislosti je na obr. 2. Pri  $\bar{u}_{\text{opt}}$  pracuje kolóna najefektívnejšie. Treba pripomenúť, že v dôsledku stlačiteľnosti plynu nepracuje tak celá kolóna, ale iba jej časť.

### 1.3 Kvalitatívna analýza

Spomenuli sme, že elučné charakteristiky (elučný objem, elučný čas) sú dôležitými a charakteristickými údajmi tej-ktorej látky. Namerané hodnoty sa porovnávajú s hodnotami štandardu. Často však dochádza k tomu, že látky s blízkymi elučnými charakteristikami splývajú do jedného píku. Tento fakt sťažuje identifikovať látku, preto treba nájsť inú, vhodnejšiu kolónu, na ktorej



Obr. 2. Závislosť VETE od rýchlosti nosného plynu. Veličiny  $A, B, C$  — pozri rovnicu (1.6)

je rozdelenie látok úplné. Okrem toho nie vždy máme na porovnanie elučných charakteristík štandard. Existujú aj ďalšie možnosti identifikácie píkov. Experimentálne sa získali rozličné logaritmické a semilogaritmické závislosti pre rozličné typy homologických radov zlúčenín. Veľmi cenný údaj je Kováčsov elučný index. O spomenutých možnostiach kvalitatívnej analýzy sa možno bližšie dočítať v [7—11].

### 1.4 Kvantitatívna analýza

V kapitole 1.1 sme spomenuli, že plocha píku je v prvom priblížení úmerná hmotnosti zložky. Pre hmotnostné % zložky  $x$  platí:

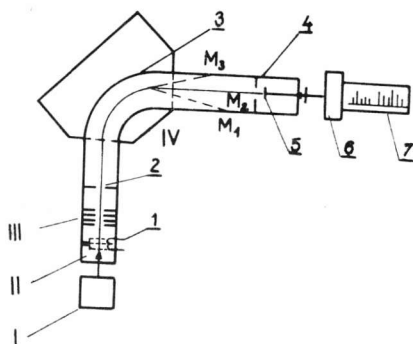
$$(\text{hmotn. \%})_x = \frac{A_x}{\sum A_i} \cdot 100, \quad (1.7)$$

kde  $A$  je plocha píku. Pre kvantitatívnu analýzu treba preto zmerať plochy píkov a keďže ozva detektora je rozličná pre rozličné zlúčeniny, zistiť aj korekčné faktory. Existujú rozličné spôsoby merania plochy píkov — od planimetrovania, cez vyrezávanie a váženie píkov, po matematické výpočty (napr. výpočet podľa plochy trojuholníka). Najnovšie prístroje majú elektronické integrátory, ktoré poskytujú omnoho presnejšie výsledky prakticky hneď po skončení analýzy. O metódach absolútnej kalibrácie, vnútorného štandardu, používaných v kvantitatívnej analýze, možno nájsť podrobnejšie informácie v odbornej literatúre.

## 2. Hmotnostná spektrometria

Základom metódy je štiepenie molekúl organickej látky, spôsobené nárazom elektrónov na molekulu skúmanej látky v plynnom stave a nasledujúce delenie generovaných kladných iónov podľa ich hmotnosti. Prístroj, umožňujúci separáciu iónov v plynnej fáze a zaznamenávajúci hmotnosť a množstvo prítomných iónov sa nazýva hmotnostný spektrometer. Obrázok 3 schematicky znázorňuje hmotnostný spektrometer s  $90^\circ$  sektorovým magnetickým polom.

Ako zdroj látky (I) pre hmotnostný spektrometer sa môže použiť:



Obr. 3. Schéma hmotnostného spektrometra. 1 — katóda; 2 — štrbina analyzátoru; 3 — trubica analyzátoru; 4 — kolektorová štrbina; 5 — kolektor; 6 — zapisovač; 7 — hmotnostné spektrum. Oblasti I, II, III, IV — pozri opis v texte.

1. napúšťací zásobník (plynné vzorky),
2. priamy systém (kvapalnú a pevnú vzorky),
3. plynový chromatograf (plynné a kvapalnú látky).

Zo zdroja látky (I) vstupujú molekuly plynu do oblasti ionizácie (II) — iónového zdroja, pričom množstvo plynnej látky sa reguluje tak, aby tlak v oblasti II bol  $10^{-7}$ — $10^{-5}$  Torr. Ionizáciu a disociáciu v oblasti II spôsobuje zväzok elektrónov s kinetickou energiou 20—70 eV. Niektoré molekuly sa pri prechode oblasťou II zrážkou s elektrónmi ionizujú. Kladne nabitú iónu sa z oblasti II vyfahujú elektródou s vysokým negatívnym potenciálom (—4000 V). Takto urýchlené kladné ióny vstupujú do tzv. elektrooptického systému (III), v ktorom sa prúd iónov fokusuje. Fokusácia sa uskutočňuje prídavnými elektródami, umiestnenými za oblasťou II. Pred vstupom do magnetického poľa nadobúdajú ióny kinetickú energiu (napr. 4000 eV), no vzhľadom na svoju hmotnosť majú rozdielnú rýchlosť ( $E = 1/2 mv^2$ ). Keď sa nabitá častica pohybuje v magnetickom poli (IV) kolmo na jeho siločiaru, pôsobí na ňu sila, ktorá dráhu častice zakriví. Polomer zakrivenia je úmerný hodnote  $M/e$ , kde  $M$  je hmotnosť častice,  $e$  jej náboj. Preto možno vytvoriť také podmienky (parametre elektrického a magnetického poľa), aby do vstupnej štrbiny kolektora (4) prichádzal prúd iónov s určitou hodnotou  $M/e$  ( $M_2$ ). Na kolek-

tore (5) odovzdajú ióny  $M_2$  svoj náboj, vytvorený a zosilnený signál sa registruje zapisovačom [6]. Ióny s inou hodnotou  $M/e$  ( $M_1$ ,  $M_3$ ) a teda aj s iným polomerom zakrivenia dráhy narážajú na steny trubice analyzátora, kde rekombinujú. Pravda, ióny  $M_1$ ,  $M_3$  možno tiež sústrediť do štrbiny kolektora, ak vhodne zmeníme parametre magnetického poľa alebo urýchľujúceho potenciálu. Vzťah medzi polomerom zakrivenia  $r$ , hodnotou  $M/e$  a parametrami elektrického a magnetického poľa možno vyjadriť rovnicou:

$$r = \sqrt{\frac{M}{e} \cdot \frac{2U}{B^2}}, \quad (2.1)$$

kde  $U$  je urýchľujúci potenciál (V),  $B$  — indukcia magnetického poľa (G) ( $G = 10^{-4} T$ ).

Aby sa polomer dráhy častice o určitom mernom náboji  $\left(\frac{e}{M}\right)_x$  pri danej hodnote  $B$  použitého magnetického poľa práve rovnal polomeru dráhy trubice analyzátora (3)  $r_d$ , vymedzenej clonami (2, 4), t. j. aby práve častice s hodnotou  $\left(\frac{e}{M}\right)_x$  dopadali na kolektor, musí byť urýchľujúce napätie nastavené na hodnotu  $U_x$ , ktorá spĺňa rovnicu:

$$r_d = \sqrt{\frac{2U_x}{B^2} \left(\frac{M}{e}\right)_x}, \quad (2.2)$$

resp. pri danej hodnote  $U$  musí hodnota  $B_x$  spĺňať podmienku:

$$r_d = \sqrt{\frac{2U}{B_x^2} \left(\frac{M}{e}\right)_x}. \quad (2.3)$$

Ak teda meníme hodnotu  $B$  od začiatočnej hodnoty  $B_o$  po  $B_x$ , budú na kolektor postupne dopadať častice s hodnotami  $\left(\frac{M}{e}\right)_o$  až  $\left(\frac{M}{e}\right)_x$ .

Na výstupe hmotnostného spektrometra sa obyčajne registruje závislosť iónového prúdu od času, pričom čas je spojený s rýchlosťou zmeny parametrov magnetického poľa (rýchlosť rozvoja spektra) a môže sa vyjadriť v hodnotách  $M/e$ . Z hmotnostného spektra potom môžeme jednotlivým píkom prisúdiť hmotnosť  $M_x$ .

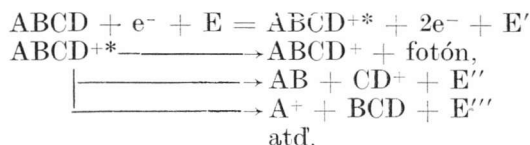
Keby sa v iónovom zdroji tvorili iba molekulárne ióny ( $M^+$ ), bol by prístroj — hmotnostný spektrometer — ideálnym prístrojom na určenie molekulovej hmotnosti, no neposkytoval by informácie o štruktúre sledovanej látky. Účinkom pomerne vysokej ionizačnej energie (obyčajne 70 eV) dochádza okrem primárnej ionizácie (vznik  $M^+$ ) aj k disociácii molekuly (roztrhnutie väzieb). Podľa hmotnosti týchto fragmentov, určenej zo spektra, môžeme usúdiť, aké skupiny atómov sa vyskytujú v molekule neznámej látky, pretože každej hmotnosti fragmentu zodpovedá určitý počet možných a reálnych kombinácií atómov. Napr. fragmentu s  $M/e = 31$  zodpovedá  $CH_3O$ ,  $CH_5N$ , fragmentu s  $M/e = 55$  zasa kombinácie  $CHN_3$ ,  $C_2HNO$ ,  $C_2H_3N_2$ ,  $C_3H_3O$ ,  $C_3H_5N$ ,  $C_4H_7$ .



Tieto informácie zo spektra môžeme využiť na to, aby sme z jednotlivých fragmentov „zložili“ molekulu nami sledovanej látky.

## 2.1 Ionizácia molekúl

Spomenuli sme, že v dôsledku vysokej kinetickej energie bombardujúcich elektrónov dochádza k vzniku molekulárneho iónu  $M^+$  a sekundárne fragmentov s rozličnou hmotnosťou. Ionizáciu molekuly ABCD môžeme schematicky znázorniť takto:



(Hviezdičkou označený ión  $\text{ABCD}^{+*}$  predstavuje excitovanú molekulu.)

Kinetická energia  $E$ , ktorú získa molekula, dostáva sa do vnútorných energetických stupňov (vibračné, rotačné), ktoré vedú k disociácii. Náboj na  $M^+$  nie je lokalizovaný a rozdelenie energie je štatisticky náhodné. Energia sa prenáša z jedného stupňa do druhého. Ak sa v niektorom stupni nahromadí štatisticky určité množstvo energie, dochádza k disociácii molekuly daným reakčným kanálom. Pri polyatómových molekulách existuje veľa reakčných kanálov, preto rozpad molekuly môže prebiehať niekoľkými smermi. Touto postupnou disociáciou sa tvoria generácie iónov 2, 3, ...,  $n$ -tého stupňa. Potom závisí od rýchlostných konštánt jednotlivých disociačných procesov, či sa v spektre pozorujú ióny vyšších generačných stupňov.

Pri fragmentácii molekúl zlúčeniny možno pozorovať všeobecne vznik viacerých typov iónov:

1. molekulárne ióny ( $M^+$ ),
2. ióny fragmentov,
3. ióny vznikajúce prešmykom,
4. metastabilné ióny,
5. ióny, vznikajúce pri medzimolekulárnych procesoch,
6. ióny s väčším počtom nábojov,
7. záporné ióny,
8. ióny s prebytkom kinetickej energie, tvoriace sa pri Franck—Condonových prechodoch.

Charakterizácia jednotlivých typov iónov by si vyžadovala samostatnú kapitolu. Žiaľ, pre obmedzený rozsah článku môžeme záujemcov o podrobnejšie štúdium upozorniť iba na odbornú literatúru [12—14, 18, 19]. Poznamenajme len, že pri práci na hmotnostných spektrometroch strednej rozlišovacej schopnosti (500—2500) majú praktický význam ióny 1—3.

## 2.2 Interpretácia hmotnostných spektier

Pod týmto pojmom rozumieme prisúdenie štruktúry neznámej látky na základe jej hmotnostného spektra. Všeobecný návod neexistuje a samotná

interpretácia spektier si vyžaduje značné odborné vedomosti i skúsenosti a je časovo najnáročnejšou operáciou. Hmotnostné spektrá sú normalizované tak, že intenzita píku s maximálnou amplitúdou sa považuje za 100% a intenzity ostatných píkov sa vzťahujú k tejto hodnote.

Medzi molekulovou štruktúrou a hmotnostnými spektrami existujú určité vzťahy, najmä empirického charakteru. Pre úspešnú interpretáciu ich treba poznať. Ide najmä o intenzity píkov  $M^+$ , spôsoby fragmentácie a prešmykov určitých typov zlúčenín.

Situácia je jednoduchšia, ak o látke máme informácie, získané UV, IČ spektrometriou, NMR spektrometriou alebo elementárnou analýzou. Často sú tieto informácie pre úspešnú interpretáciu nevyhnutné.

Ďalšiu možnosť poskytujú do určitej miery rozličné tabuľky, v ktorých sa uvádzajú hmotnostné spektrá zlúčenín namerané na iných prístrojoch [20—22].

Moderná technika zasahuje čoraz väčšími aj do tejto oblasti. Samočinné počítače, v ktorých pamäti sú uložené základné údaje o hmotnostných spektrách, tzv. dokumentačné fondy spektier, stávajú sa pomaly neodmysliteľnou súčasťou hmotnostného spektrometra. O uplatnení počítačov pri identifikácii hmotnostných spektier možno nájsť podrobnejšie informácie v práci Koh-novej [23].

### 3. Spojenie plynového chromatografu a hmotnostného spektrometra

Spojenie plynového chromatografu a hmotnostného spektrometra je výhodné z týchto hľadísk:

a) pri obidvoch metódach sa na štúdium používajú látky v plynnom stave,  
b) obidvoma metódami možno skúmať množstvá látok menšie ako 1  $\mu$ g.  
c) rýchlosť obidvoch metód je vo vzájomnej zhode, t. j. doba záznamu píku na plynovom chromatografe je postačujúca na zaznamenanie hmotnostného spektra zlúčeniny, vystupujúcej z kolóny. Z jedného píku chromatogramu možno získať aj viac hmotnostných spektier a určiť, či skutočne ide o jednu látku,

d) zmes organických látok môže byť separovaná; môže byť určený elučný čas a hmotnostné spektrum každej zložky.

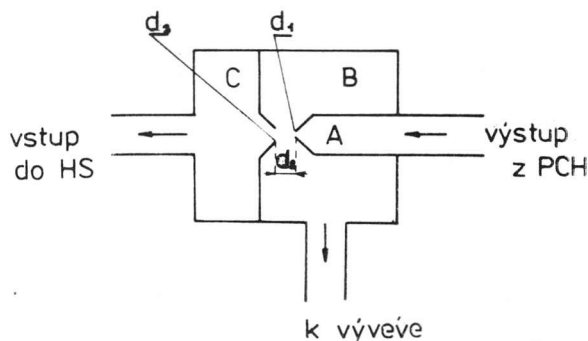
Inými slovami: plynový chromatograf je vhodný zdroj látok pre hmotnostný spektrometer a naopak, hmotnostný spektrometer je výborný detektor pre plynový chromatograf.

#### 3.1 Separátory

V kapitole 2 sme spomenuli, že pracovný tlak v iónovom zdroji hmotnostného spektrometra je  $10^{-7}$ — $10^{-5}$  Torr. Pre plynový chromatograf je zasa najvýhodnejšie, ak je na výstupe z kolóny atmosférický tlak. Tlak v iónovom zdroji je určený predovšetkým rýchlosťou napúšťania sledovanej zlúčeniny a vakuovým systémom. Pre väčšinu hmotnostných spektrometrov sú prípustné rýchlosti napúšťania 0,3 ml/min. Prietoková rýchlosť nosného plynu cez

kolónu chromatografu býva 1—60 ml/min (závisí od typu kolóny). Aby sa dodržali podmienky pre prácu hmotnostného spektrometra, treba redukovať objemové množstvo plynnej zmesi, vystupujúcej z kolóny, na hodnotu prípustnú pre hmotnostný spektrometer. Ak použijeme jednoduchý delič, pomocou ktorého do hmotnostného spektrometra privádzame iba časť toku z kolóny, pozorujeme straty vzorky a zníženie citlivosti (treba mať na pamäti, že vzorka je veľmi zriedená nosným plynom). Aby sme zamedzili stratám vzorky, pripája sa medzi plynový chromatograf a hmotnostný spektrometer separátor, v ktorom sa plyná zmes, vystupujúca z kolóny, rozdelí tak, aby sa po prechode separátorom obohatila vzorkou. Mierou zvýšenia koncentrácie vzorky v plynnej zmesi po jej prechode separátorom je koeficient obohatenia, určený pomerom koncentrácie vzorky pri vstupe do hmotnostného spektrometra ku koncentrácii vzorky na výstupe z plynového chromatografu. Ďalšou dôležitou charakteristikou separátora je efektívnosť, ktorú určuje podiel vzorky, vstupujúcej do hmotnostného spektrometra po procese obohatenia. Princíp činnosti separátorov je v podstate rovnaký: oddeliť z plynnej zmesi nosného plynu a vzorky predovšetkým molekulu nosného plynu, a tak obohatiť zmes vzorkou. Krátko sa venujme aspoň niektorým typom separátorov:

a) *Tryskový separátor* (obr. 4) využíva najrozšírenejší spôsob oddelovania He (nosného plynu) zo zmesi: zmes organickej zlúčeniny a He vstupuje do ústia  $A$ , z ktorého vyteká otvorom  $d_1$  (0,1 mm) v tvare rozširujúceho sa prúdu.

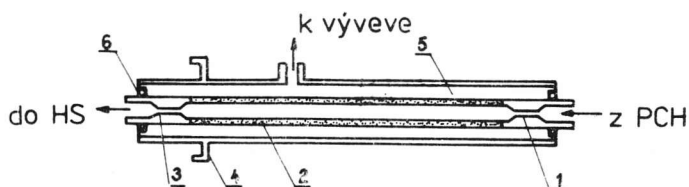


Obr. 4. Tryskový separátor podľa Beckera [25].  $A$  — ústie výstupu z plynového chromatografu;  $B$ ,  $C$  — komory separátora;  $d_1$ ,  $d_2$ ,  $d_3$  — vysvetlenie v texte.

V stene oddelujúcej komory  $A$  a  $B$  je ďalší otvor  $d_3$  (0,24 mm), umiestnený od  $d_2$  vo vzdialenosti  $d_2$  (0,3 mm). Najľahšie komponenty plynnej zmesi (predovšetkým nosný plyn), charakterizované menšou hodnotou zrýchlenia v smere toku i väčším koeficientom difúzie ako ťažšie komponenty (organické zlúčeniny), prednostne opúšťajú tok a vstupujú do priestoru  $B$  opatreného vákuovým odťahom. Takto sa plyná zmes obohacuje ťažšími zložkami. Komora  $C$  je vlastne kanálom, cez ktorý obohatená zmes vstupuje do hmotnostného spektrometra. Separátor ktorý skonštruoval Ryhage [24], pozostáva z dvoch tryskových separátorov, umiestnených za sebou. Koeficient obohatenia tohto separátora sa blíži k hodnote 100, jeho efektívnosť je až 60% [5]. Tryskové separátory sa zhotovujú z nehrdzavejúcej ocele; možno ich zohrievať

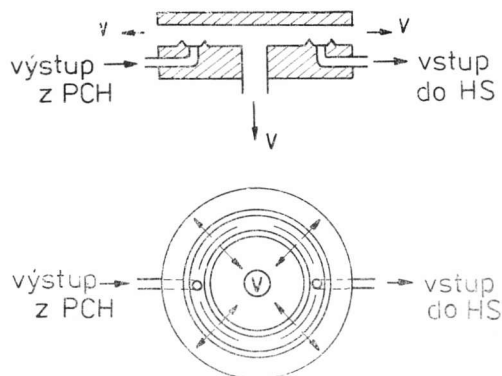
do 300 °C, aby sa zabránilo kondenzácii a adsorpcii chromatograficky oddeľných látok v separátore.

b) *Pórovité separátory* sú založené na princípe efúzie. Efúzia (molekulárne prúdenie) cez otvor prebieha iba vtedy, ak priemer otvoru ( $d$ ) neprevyšuje  $1/10$  strednej voľnej dráhy molekúl ( $L$ ) v oblasti vysokého tlaku, t. j. pred vstupom do otvoru. Ak v zmesi dvoch plynov sú splnené podmienky efúzie, potom každý plyn prúdi nezávisle od druhého, pretože v blízkosti otvoru nedochádza k zrážkam molekúl a treniu. Rýchlosť prúdenia plynu v zmesi určuje pokles parciálnych tlakov na otvore, cez ktorý tečie plyn. V prvom priblížení závisí nepriamo od molekulovej hmotnosti plynu, takže pri jednoduchých podmienkach je väčšia pre ľahšie plyny (nosný plyn). Molekuly nosného plynu pretekajú otvormi (poréznym materiálom) rýchlejšie a zmes sa obohacuje o ťažšie komponenty. Medzi separátory tohto typu patria: separátor s pórovitou sklenenou trubicou (obr. 5), pórovitý separátor z nehrdzavejúcej ocele, teflónový separátor, separátor s pórovitou striebornou membránou a štrbinový separátor, predstavujúci separátor nového typu. Podrobnejší opis separátorov možno nájsť vo Watsonovej práci [25].



Obr. 5. Separátor s pórovitou sklenenou trubicou podľa Watsona a Biemanna [25]. 1 — vstupná štrbina; 2 — pórovitá sklenená trubica; 3 — výstupná štrbina; 4 — príchytka k iónovému zdroju hmotnostného spektrometra; 5 — odsávaný priestor; 6 — tesnenie.

*Štrbinový separátor* je na obr. 6. Plyná zmes, vychádzajúca z plynového chromatografu, prúdi v kruhovom kanáli, ohraničenom dvoma ostrými hranami a platňou, ktorej odstup od hrán sa dá nastaviť. Štrbinou medzi hranami a platňou prúdi prebytok nosného plynu a čiastočne aj látky, do priestoru,



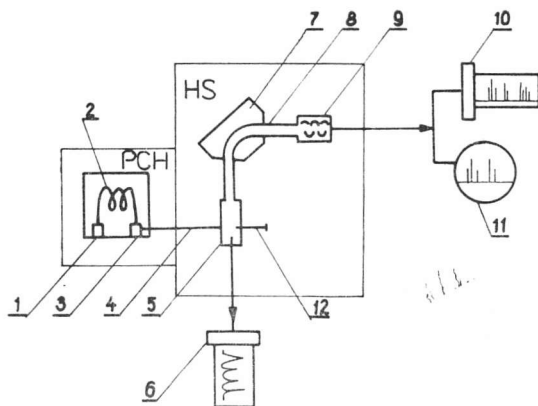
Obr. 6. Štrbinový separátor Varian MAT. V — k výveve.

z ktorého sa odsáva pumpou. Menením odstupú hrán sa mení šírka štrbiny ( $0,1\text{--}50\text{ }\mu\text{m}$ ) a efúzna plocha separátora. Tým sa mení aj výstupný tok, ktorý sa (pri vstupnom toku  $1\text{--}100\text{ ml/min}$ ) môže nastaviť na maximálne prístupnú hodnotu pre hmotnostný spektrometer, t. j.  $0,3\text{ ml/min}$ . Keďže rýchlosť prúdenia plynu cez štrbinu je nepriamo úmerná molekulovej váhe plynu, s rastúcou molekulovou hmotnosťou látky stúpa hodnota koeficientu obohatenia a efektívnosti, čo sa nepriaznivo odzrkadľuje pri kvantitatívnych analýzach.

#### 4. Varian MAT 111

Prístroj Varian MAT 111, s ktorým pracujeme na našom ústave, je vhodným modelom na demonštráciu toho, čo sa povedalo v predchádzajúcich kapitolách.

Varian MAT 111 je kombináciou plynového chromatografu a hmotnostného spektrometra s  $90^\circ$  sektorovým magnetickým poľom. Optimálne spojenie je dosiahnuté pomocou štrbinového separátora. Obrázok 7 znázorňuje tento prístroj schematicky.



Obr. 7. Schéma GC/MS systému Varian MAT 111. PCH — plynový chromatograf; HS — hmotnostný spektrometer; 1 — injekčný blok; 2 — kolóna; 3 — štrbinový separátor; 4 — vstupné vedenie; 5 — EID a iónový zdroj HS; 6 — kompenzačný zapisovač; 7 — elektromagnet; 8 — trubica analyzátoru; 9 — násobič elektrónov; 10 — galvanometrický zapisovač; 11 — osciloskop; 12 — priamy napúšťač systém.

Na detekciu chromatograficky oddelených zložiek sa používa elektrónový nárazový ionizačný detektor (EID), umiestnený v blízkosti iónového zdroja hmotnostného spektrometra (IZ). Tým je umožnený vzájomný vzťah medzi chromatografickými píkmi a hmotnostnými spektrami príslušných zložiek analyzovanej zmesi.

Energia elektrónov EID je  $20\text{ eV}$ , teda nižšia ako ionizačná energia použitého nosného plynu ( $\text{He}$ ,  $24,58\text{ eV}$ ). EID poskytuje preto signál iba v prítomnosti tej-ktorej zložky zmesi. Plynový chromatograf môže pracovať s náplňovými

alebo kapilárnymi kolónami v teplotnej oblasti 20—300 °C. Stabilita teploty pri izotermických analýzach je  $\pm 0,2$  deg, pri programovaní teploty (10 rýchlostí od 0,5—20 deg/min) je  $\pm 0,5$  deg. K základnému vybaveniu plynového chromatografu patrí štandardná analytická súprava kolón ( $5 \times 1/8''$ ) s týmito stacionárnymi fázami: FFAP, Halcomid, SE-30, DEGS, OV-1, Carbowax 20 M.

Energia elektrónov iónového zdroja hmotnostného spektrometra je 80 eV, s prídavným zariadením sa môže meniť v rozsahu 5—80 eV. Emisný prúd je pri 80 eV 278  $\mu$ A. Urýchľovací potenciál —820 V. Iónový zdroj pracuje pri teplote 200 °C, s vyhrievaním pri 300 °C. Hmotnostný rozsah je 1... 1000 u (a. h. j.), rozlišovacia schopnosť 600.

Na detekciu iónov sa používa 16-stupňový násobič elektrónov so zosilnením  $10^6$ .

Prístroj je vybavený účinným vákuovým systémom, pozostávajúcim z dvoch rotačných púmp (50 l/min) a dvoch olejových difúzných púmp (10 l/s, resp. 150 l/s).

Pre záznam chromatogramov sa používa kompenzačný zapisovač so 100% spätnou väzbou, s odporom  $10^{10}\Omega$ . Hmotnostné spektrá zaznamenáva galvanometrický zapisovač.

## 5. Aplikácia PCH-HS metódy

Oblasť použitia kombinovanej PCH-HS metódy je veľmi široká. Metóda sa dá použiť prakticky všade tam, kde sa používa PCH. Vždy však treba mať na pamäti určité obmedzenia použitia metódy PCH-HS v porovnaní so samou PCH. Na druhej strane je použitie hmotnostného spektrometra ako detektora výhodné najmä pri kvalitatívnej analýze zmesí.

Kombinovaná plynová chromatografia a hmotnostná spektrometria sa používa v biologickej oblasti pri analýzach mastných kyselín, alkaloidov, steroidov, aminokyselín, aromatických látok, hormónov, antibiotík, drog a ich metabolitov, v organickej chémii pri analýzach ropných a uhľovodíkových plynov, produktov organických syntéz, v medicíne, v biochémii, pri najrozličnejších štúdiách produktov, ktoré vznikajú pri spracovaní a úprave potravinárskych produktov. Uvedme iba krátky prehľad využitia kombinovanej PCH-HS analýzy v potravinárstve: PCH-HS metódou sa analyzovali aromatické látky v banánoch [26], pomarančovom džúse [27], káve [28], mliečnom tuku [29], jahodách [30], víne [31], rume a whisky [32], fenolové a dechtové látky v údenom mäse [33]. O analytickej aplikácii PCH-HS metódy prehľadne referujú Burlingame a Johanson [34], Issenberg a spol. [35] a ďalší [36]. Analyzovali sa aj zmesi prírodných uhľovodíkov [37], kyseliny Krebssoho cyklu [38], študovali sa aminokyseliny a peptidy [39, 40], lipidy [41], určoval sa obsah pesticídov v potravinách [42], rastlinách [43, 46], i dechtových látok v tabakovom dyme [44, 45] atď.

Z uvedeného krátkeho prehľadu vidieť, že použitie kombinovanej PCH-HS metódy je rozmanité. To dáva sľubné perspektívy pre ešte väčšie uplatnenie PCH-HS metódy nielen v potravinárskom výskume, ale aj v rozličných oblastiach chemického výskumu.

## Súhrn

Článok je rozdelený na 5 častí, v ktorých autor postupne vysvetľuje princípy plynovej chromatografie a hmotnostnej spektrometrie, ako aj kombinovanej PCH-HS metódy, venuje sa problémom, ktoré vznikajú pri kombinácii plynového chromatografu s hmotnostným spektrometrom. Tieto poznatky ďalej demonštruje na príklade prístroja GC/MS Varian MAT 111. Záverečnú časť venuje aplikácii kombinovanej PCH-HS metódy v potravinárskom a chemickom výskume.

## Literatúra

1. MARTIN, A. J. P. — SYNGE, R. L. M.: *Biochem. J.*, **35**, 1941, s. 1358.
2. JAMES, A. T. — MARTIN, A. J. P.: *Biochem. J.*, **50**, 1952, s. 679.
3. HOLMES, J. C. — MORELL, F. A.: *Appl. Spectrosc.*, **II**, 1957, s. 86.
4. GOHLKE, R. S.: *Anal. Chem.*, **3**, 1959, s. 535.
5. RYHAGE, R.: *Ark. Kemi*, **26**, 1964, s. 305.
6. RYHAGE, R.: *Quart. Rev. Biophys.*, **6**, 1973, s. 311.
7. PURNELL, H.: *Plynová chromatografie*. Praha, SNTL 1966.
8. SZEPESY, L.: *Gas Chromatography*. London, Iliffe 1970.
9. McNAIR, H. M. — BONELLI, E. J.: *Vvedenie v gazovuju chromatografiju*. Moskva, Mir 1970.
10. SIMPSON, G.: *Gas Chromatography*. London, Kogan Page 1970.
11. TRANCHANT, J. (Ed.): *Practical Manual of Gas Chromatography*. Amsterdam-London-New York, Elsevier 1969.
12. BEYNON, J. H.: *Mass spektrometria i jijo primenenije v organičeskoj chimii*. Moskva, Mir 1964.
13. McLAFFERTY, F. W.: *Mass Spectrometry of Organic Ions*. New York, Academic Press 1963.
14. HILL, H. C.: *Introduction to Mass Spectrometry*. London, Heyden 1966.
15. ETTRE, L. S.: *Metody-sputniki v gazovoj chromatografii*. Moskva, Mir 1972.
16. VAN DEEMTER, J. J. — ZUIDERWEG, F. J. — KLINKENBERG, A.: *Chem. Eng. Sci.*, **5**, 1956, s. 271.
17. GLUECKAUF, E.: *Trans. Farad. Soc.*, **51**, 1955, s. 1540.
18. McLAFFERTY, F. W.: *Interpretation of Mass Spectra*. London-Amsterdam-Don Mills; Sydney-Tokio, Benjamin 1973.
19. BUDZIKIEWICZ, H. — DJERASSI, C. — WILLIAMS, D. H.: *Interpretacija mass-spektrov organičeskich sojedinenij*. Moskva, Mir 1966.
20. CORNU, A. — MASSOT, R.: *Compilation of Mass Spectral Data*. Vols. 1, 2. London-New York-Rheine, Heyden 1975.
21. BEYNON, J. H. — WILLIAMS, A. E.: *Mass and Abundance Tables for Use in Mass Spectrometry*. Amsterdam-London-New York, Elsevier 1963.
22. STENHAGEN, E. — ABRAHAMSSON, S. — McLAFFERTY, F. W.: *Atlas of Mass Spectral Data*. New York, Interscience 1956.
23. KOHNOVÁ, Z.: *Identifikácia hmotnostných spektier počítačom pomocou fondu spektier známych zlúčenín*. Československá informatika, **4**, 1974, s. 231.
24. RYHAGE, R.: *Anal. Chem.*, **36**, 1964, s. 759—764.
25. WATSON, J. T.: *Gazovaja chromatografija i mass-spektrometria*. V.: ETTRE, L. S.: *Metody-sputniki v gazovoj chromatografii*. Moskva, Mir 1972, s. 165—249.
26. TRESSL, R. — DRAWERT, F. — EMBERGER, R. — HEIMANN, Z.: *Z. Naturforsch.*, **25b**, 1970, s. 704.
27. COLEMAN, R. L. — SHAW, P. E.: *J. Agric. Food Chem.*, **19**, 1971, s. 520.
28. FRIEDEL, P. — KRAMPL, V. — RADFORD, T. — RENNER, T. A. — SHEPARD, F. W. — GIANTURCO, M. A.: *J. Agric. Food Chem.*, **19**, 1971, s. 530.
29. SIEK, T. J. — LINDSAY, R. C.: *J. Dairy Sci.*, **51**, 1968, s. 1887.
30. TRESSL, R. — DRAWERT, F. — HEIMANN, W.: *Z. Naturforsch.*, **24b**, 1969, s. 1201.

31. SCHREIER, P. — DRAWERT, F.: *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.*, **3**, 1974, s. 154.
32. TIMMER, R. — HEIDE, R. — WOBLEN, H. J. — de VALOIS, P. J.: *J. Food Sci.*, **36**, 1971, s. 462.
33. LUSTRE, A. O. — ISSENBERG, P.: *J. Agric. Food Chem.*, **18**, 1970, s. 1056.
34. BURLINGAME, A. L. — JOHANSON, G. A.: *Anal. Chem.*, **44**, 1972, 337 R.
35. ISSENBERG, P. — KOBAYASHI, A. — MYSLIWI, J.: *J. Agric. Food Chem.*, **17**, 1969, s. 1377.
36. JOHNSON, A. E. — LARSON, B. T.: *Chem. and Ind.*, **10**, 1969.
37. GELPI, E. — SCHNEIDER, H. — MANN, J. — ORÓ, J.: *Phytochemistry*, **9**, 1970, s. 603.
38. HORNING, M. G. — BOUCHER, E. A. — HORNING, E. C.: *Anal. Letters*, **1**, 1968, s. 713.
39. ZUMWALL, R. W. — ROACH, D. — GEHRKE, C. W.: *J. Chromatogr.* **53**, 1970, s. 171.
40. KLEBE, J. F. — FINBEINER, H. — WHITE, D. M.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **88**, 1966, s. 3390.
41. JOHNSON, A. R. — STOCKS, R. B.: *Chem. Abs.*, **76**, 1972, s. 204.
42. BELLMAN, S. W. — BARRY, T. L.: *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists*, **54**, 1971, s. 499.
43. ZIMMER, M. — KLEIN, W.: *Chemosphere*, **1**, 1972, s. 3.
44. GELPI, E. — ORÓ, J.: *Chromatogr. Sci.*, **8**, 1970, s. 210.
45. BARTLE, K. D. — BERGSTEDT, L. — NOVOTNÝ, M. — WIDMARK, G.: *J. — CHROMATOGR.*, **45**, 1969, s. 256.
46. SCHULTEN, H. R.: *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 1976, s. 743.

## Комбинация газовой хроматографии и масс-спектрометрии

### Выводы

Статья распределена на 5 частей и автор в них постепенно истолковывает принципы газовой хроматографии (ГХ) и масс-спектрометрии (МС) а также комбинированного метода ГХ/МС и уделяет внимание проблемам возникающим при комбинации газового хроматографа с масс-спектрометром. Эти познания он далее применяет на образе прибора GC/MS Varian Mat 111. Заключительная часть содержит применение комбинированного ГХ/МС метода для исследований в пищевой и химической промышленности.

## Combination of Gas Chromatography (GC) and of Mass spectrometry (MS)

### Summary

The paper is divided in 5 parts in which the principles of G C and of M S, and of GC/MS are by author explicated. The author solves the problem rising by the combination of the G C with M S These results are further demonstrated on the example of the equipment GS/MS Varian Mat 111. The final part is devoted to the application of the GC/MS combination in food and chemistry industry research.