**Расчеты в хроматографии**

1. Свободный объем колонки (объем подвижной фазы).

Свободным объемом (Vm) хроматографической колонки считается объем подвижной фазы между верхней и нижней границами набивки. Экспериментально принято определять свободный объем, как общий удерживаемый объем такого компонента, который практически не удерживается на сорбенте. Однако не следует забывать, что из полученного результата следует вычесть объемы, которые не заполнены сорбентом. Это, прежде всего, объемы соединительных трубок и регистрирующего датчика. Не все помнят о том, что из полученной экспериментальной величины Vm следует еще вычесть половину вводимого объема пробы! Таким образом, свободный объем колонки равен

|  |  |
| --- | --- |
| Vm = Vmro - Vo - Vin/2 ,  | (1)  |

где

Vmro - общий удерживаемый объем не удерживаемого компонента смеси;

Vo - объем, не занятый сорбентом;

Vin - объем вводимой пробы.

2. Объем пробы.

Объем пробы является третьим по значению параметром, влияющим на ширину хроматографических пиков. Первыми, без сомнения, являются удерживаемый объем и число теоретических тарелок. Проба влияет на ширину пика не только своей величиной, но и видом своего концентрационного профиля. Опыт показывает, что в зависимости от конструкции устройства ввода пробы, проба претерпевает изменения до того, как она достигнет сорбента. Изменения состоят в том, что концентрация вещества в разных местах будет неодинакова, т. е. концентрационный профиль может существенно отличаться от прямоугольной формы. Скорее всего, профиль может иметь вид кривой Гаусса.

Рассмотрим на примере этих 2-х случаев вклад пробы в ширину хроматографического пика. Для прямоугольного концентрационного профиля вклад объема пробы выражается следующей формулой:

|  |  |
| --- | --- |
|  =  o [ 0,257 (Vin /  o)2 +1],  | (2)  |

где

 - ширина пика на расстоянии полувысоты от основания пика;

 o - ширина пика при исчезающе малом объеме пробы;

Vin - объем пробы.

Это формула верна при 0<= Vin/ o <=2.

Если концентрационный профиль пробы представляет собой кривую Гаусса, то ширина пика равна

|  |  |
| --- | --- |
|  2 =  o2 +  in2, | (3)  |

где

 in - ширина кривой концентрационного профиля.

Сравнение этих 2-х формул показывает, что при небольших величинах объема пробы ход закономерности фактически идентичен. Можно сказать, что

|  |  |
| --- | --- |
|  in = 0,7 Vin.  | (4)  |

Отсюда следует, что при небольших объемах пробы нет большой необходимости в выяснении вида концентрационного профиля.

3. Расчет числа теоретических тарелок.

Наиболее распространены 2 формулы для расчета числа теоретических тарелок:

|  |  |
| --- | --- |
| N = 5,545 Vmr2/ o2 и N = 5,545 Vr2/ o2, | (5)  |

где

Vr - удерживаемый объем компонентасмеси;

Vmr - общий удерживаемый объем компонентасмеси (Vmr = Vr + Vm);

N - число теоретических тарелок.

Честно говоря, ни одна из этих формул не выполняет удовлетворительно своих функций. Доказательством этого служат различные оговорки, которые сопровождают расчеты. Обычно говорят, что число теоретических тарелок для такого-то вещества составляет величину X, а для такого-то вещества - Y, хотя оба этих вещества принадлежат одному хроматографическому разделению.

Лучшими показателями обладает формула

|  |  |
| --- | --- |
| N = 5,545 Vmr Vr / o2, | (6)  |

так как не требует дополнительных условий и оговорок. Для всех пиков вычисленное значение числа теоретических тарелок одинаково!

Однако, приступая к расчетам, следует учесть влияние величины объема пробы на ширину хроматографического пика. Используя рассуждения об объеме пробы, высказанные в предыдущем разделе, можно с уверенностью записать:

|  |  |
| --- | --- |
| N = 5,545 Vmr Vr /( 2 -  in2). | (7) |

Если есть необходимость выразить объем пробы, не пользуясь понятиями кривой Гаусса, то

|  |  |
| --- | --- |
| N = 5,545 Vmr Vr /( 2 - (0,7Vin)2). | (8) |

Такого рода замена возможна так, как мы выяснили ранее, что при небольших объемах пробы трудно отличить пробу с прямоугольным концентрационным профилем от пробы с профилем кривой Гаусса. Если объемы пробы большие и концентрационный профиль прямоуголен, то без сомнения следует пользоваться более сложной формулой, использующей уже известную закономерность влияния пробы на ширину пика (2).

Для вычисления числа теоретических тарелок лучше пользоваться линеаризованным видом формулы (7):

|  |  |
| --- | --- |
|  2 = 5,545 Vr Vmr /N +  in2. | (9) |

Тогда рассматривая график функции в координатах  2 от VrVmr , можно вычислить одновременно число теоретических тарелок и объем пробы.

Излишне говорить о том, что свободный объем колонки должен быть определен, как можно точнее. Лучше воспользоваться советами, изложенными в п.1.