

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

68 164

Patent dodatkowy
do patentu _____

Kl. 42I,3/08

Zgłoszono: 03.XII.1969 (P 137 302)

Pierwszeństwo: _____

MKP G01j 3/42

Opublikowano: 29.04.1974

CZYTELNIA
UKD

Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej

Współtwórcy wynalazku: Andrzej Bylina, Danuta Sybilska, Zbigniew
Ryszard Grabowski, Józef Koszewski

Właściciel patentu: Polska Akademia Nauk (Instytut Chemii Fizycznej),
Warszawa (Polska)

Sposób wykonywania spektrofotometrycznej analizy chromatograficznej i urządzenie do stosowania tego sposobu

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wykonywania spektrofotometrycznej analizy chromatograficznej oraz urządzenie do stosowania tego sposobu. Wynalazek wykorzystuje bezinercyjny, szybko przemiatający spektrofotometr, analizujący wyciek z kolumny oraz wykorzystuje układy wielokanałowej rejestracji bezpośredniej i ilorazowej a także automatycznej optymalizacji obszaru spektralnego, dzięki czemu możliwe jest uzyskanie danych chromatograficznych i widmowych w sposób ciągły i jednocześnie.

Przedmiotem chromatografii kolumnowej, z punktu widzenia pracy badawczej jak i zastosowań praktycznych do analizy jakościowej mieszania, jest poznanie krzywych wymywania badanych substancji. Krzywą wymywania uzyskuje się przez zarejestrowanie, w funkcji czasu, sygnału detektora kontrolującego skład wycieku z kolumny chromatograficznej. Detektor mierzy jedną z wielkości fizycznych świadczących o obecności substancji wymywanej z kolumny chromatograficznej. Wielkość fizyczna mierzona przez detektor winna być proporcjonalna do stężenia badanej substancji lub być jednoznaczna funkcją tego stężenia. Ogólnie, urządzenie wraz z detektorem i sposobem powinno dostarczyć maksimum informacji jakościowej i ilościowej o wymywanych substancjach. Detektory stosowane w chromatografach powinny mieć wysoką czułość pozwalającą wykrywać małe ilości substancji w wycieku, powinny mieć także

2

niski poziom szumów (zakłóceń) i małą stałą czasową w porównaniu z procesem chromatograficznym. Pożądane jest również, by sposób detekcji był zewnętrzny względem wycieku, dzięki czemu detektor nie ulega starzeniu i nie wymaga regeneracji.

Dotychczasowe sposoby detekcji są niespecyficzne i dlatego nie przekazują, poza chromatograficznymi, żadnych dodatkowych informacji o substancji wymywanej z kolumny. Większość stosowanych i znanych detektorów nie spełnia zadowalająco jednocześnie tych wszystkich warunków.

Ostatnio zanotowano rozwój sposobów detekcji fotoelektrycznej zewnętrznej do układu chromatograficznego. Znane są chromatografy wykorzystujące detekcję fotoelektryczną w układzie fotometru lub kolorymetru, co pozwala na wyznaczenie krzywej wymywania substancji o znanym widmie absorpcji, a zatem z góry znanym, przydatnym do detekcji, obszarze spektralnym. Wspomniana wyżej metoda nie spełnia jednak warunku o dostarczeniu w pomiarze dodatkowych informacji.

Dodatkowe informacje o właściwościach substancji wymywanej z kolumny, na przykład widmo absorpcji, uzyskuje się dotychczas w osobnym postępowaniu, pobierając kolejne frakcje wycieku z kolumny chromatograficznej przez zastosowanie kolektora frakcji. Widma absorpcji tak otrzymanych frakcji mierzy się stosując spektrofotometr. Pomiar spektrofotometryczny jest w tym przypad-

ku pomiarem następczym i nieciągłym w czasie. Oznaczenia ilościowe badanej substancji w dotychczasowych chromatografach wymagają dodatkowych pomiarów kalibrujących.

Dwie substancje uważa się za nierozdzielone w danym układzie chromatograficznym, gdy krzywe wymywania każdej z nich posiadają maksimum w tym samym miejscu chromatogramu. Krzywe wymywania częściowo rozdzielonych substancji są superpozycją i o zaistnieniu tego przypadku można się przekonać przez analizę matematyczną krzywej chromatograficznej, przy pomocy maszyny cyfrowej.

Te problemy w przypadku analizy mieszanin nieznanych substancji z zastosowaniem niespecyficznej detekcji rozwiązuje się na drodze empirycznego dobierania warunków prowadzenia procesu chromatograficznego. Ma to na celu znalezienie układu chromatograficznego pozwalającego na rozdzielenie, w funkcji czasu, tych substancji w wycieku kolumny. Opisane postępowanie wymaga jednak znajomości przedmiotu i dużego nakładu pracy.

Celem wynalazku jest taki sposób prowadzenia spektrofotometrycznej analizy chromatograficznej, który będzie pozwalał na wykorzystanie ogromnej ilości jednoczesnych informacji występujących w trakcie analizy.

Cel ten osiągnięty został w sposobie według wynalazku przez to, że układ ciekły lub gazowy na wyjściu kolumny chromatograficznej poddaje się ciągłej analizie spektrofotometrycznej o drodze przemiatania widma przewyższającym do najmniej 10 razy połówkowy czas przepływu pojedynczej substancji, a otrzymane sygnały detekcji fotoelektrycznej poddaje się szybkiej automatycznej analizie w celu wydzielenia sygnałów sterujących doborem optymalnych wartości długości fali odpowiadających poszczególnym kanałom rejestracji krzywych chromatograficznych.

Istotą urządzenia do stosowania sposobu jest to, że zawiera ono zespół szybkoprzemiatającego monochromatora, z którego wiązka światła prowadzona jest poprzez element rozdwarzający wiązkę i poprzez układ badany na detektor fotoelektryczny zespołu pomiarowego oraz zawiera zespół wskaźnikowo-sterujący i zespół optymalizacji i rejestracji. Detektor zespołu pomiarowego jest połączony z monitorem widm absorpcji zespołu wskaźnikowego, połączonego z kolei z układem sterującym przemiatania widm. Układ ten połączony jest natomiast z elementem odchylającym lampy, a także jest połączony z układem selekcyjnym zespołu optymalizacji. Zespół optymalizacji zawiera według wynalazku układ automatycznej optymalizacji, układ programujący i wielokanałowy rejestrator, połączone z układem selekcyjnym. Dwa pary kanałów są ponadto połączone przez układ selekcyjny z układem ilorazowym, a wyjście układu programującego jest połączone z wielokanałowym rejestratorem.

Korzyścią techniczną, jaką zapewnia wynalazek jest możliwość prowadzenia jednoczesnego zapisu chromatograficznego przy kilku różnych długościach fal światła analizującego. Dobór tych dłu-

gości fal może zostać dokonany przez eksperymentatora lub przez automatyczny optymalizator będący częścią urządzenia. Inną możliwością wykorzystania wielokanałowej analizy wycieku, niespotykaną w dotychczasowych rozwiązaniach, jest rejestracja krzywej chromatograficznej wraz z ciągłą krzywą stosunku (ilorazu) sygnałów dla dwóch różnych długości fal światła absorbowanego przez substancję w wycieku kolumny. Te właściwości sposobu i urządzenia pozwalają w znacznie szybszym czasie wykryć, a w wielu przypadkach zanalizować ilościowe przypadki nierozdzielonych i częściowo rozdzielonych w procesie chromatograficznym substancji.

Wynalazek jest przykładowo wyjaśniony na rysunku, na którym fig. 1 — przedstawia ogólny schemat urządzenia realizującego sposób wykonywania spektrofotometrycznej analizy chromatograficznej według wynalazku, fig. 2 — przedstawia blokowy schemat elektryczny zespołu IV, z figury 1, fig. 3 — przykładowe rozwiązanie konstrukcyjne chromatograficznego zespołu pomiarowego, fig. 4 — wykres przebiegu prądu odchylania, fig. 5 — wykres czasowego przebiegu elektrycznych sygnałów znaczników długości fali dla wybranych wartości $\lambda_1, \dots, \lambda_5$, fig. 6 — przedstawia wykres wyjaśniający działanie układu automatycznej optymalizacji, natomiast fig. 7 — przedstawia przykład chromatogramu uzyskanego sposobem i w urządzeniu według wynalazku.

Urządzenie realizujące sposób spektrofotometrycznej analizy chromatograficznej według wynalazku składa się z następujących podstawowych części: z chromatograficznego zespołu pomiarowego, I, z zespołu szybkoprzemiatającego monochromatora II, z zespołu wskaźnikowo-sterującego III oraz z zespołu optymalizacji i rejestracji IV.

Chromatograficzny zespół pomiarowy I przykładowo składa się z kuwety przepływowej 1, kolumny chromatograficznej 2, pompy 3, odbieralnika 4, detektora fotoelektrycznego 5, którego zakres spektralny i czułość odpowiada przyjętemu przedziałowi analizy i mocy promieniowania nań padającego, z elementu rozdwarzającego 6 wiązkę światła opuszczającego monochromator, detektora fotoelektrycznego 7, toru odniesienia oraz kuwety 8 z roztworem odniesienia.

Zespół szybkoprzemiatającego monochromatora II składa się przykładowo z ruchomego, punktowego źródła 9 promieniowania w układzie lampy elektronopromieniowej 10, z optycznego układu spektrofotograficznego 11 najkorzystniej siatkowego w realizacji lustrzanej oraz z elementu odchylającego 12 wyznaczającego ruch punktowego źródła 9.

Zespół wskaźnikowo-sterujący III według wynalazku składa się z monitora widm absorpcji 13 najlepiej dającego odwzorowanie typu rastrowego (telewizyjnego) oraz z układu sterującego przemiataniem widm 14.

Zespół optymalizacji i rejestracji IV zasadniczo składa się z układu selekcyjnego 15 połączonego ze źródłem sygnału pomiarowego jakim jest detektor 5. Układ selekcyjny 15 jest ponadto połączony z monitorem widm absorpcji 13, z układem sterującym przemiataniem widm 14, z układem

automatycznej optymalizacji 16, z układem programującym 17 oraz z wielokanałowym rejestratorem chromatogramów 18.

Rozwinięty blokowy schemat elektryczny zespołu IV przedstawiony jest na fig. 2, gdzie generator okresowy 19 napięcia liniowo zmieniającego się jest połączony z grupą (przykładowo 3 kanały a, b, c) impulsowych komparatorów napięcia 20, te zaś połączone z grupą układów próbkujących 21 tworzą wspomniany układ selekcyjny 15, a układy próbkujące 21 połączone są z rejestratorem 18 bezpośrednio przez łącznik W_1 , bądź dla kanałów a i b poprzez układ ilorazowy 22 i łącznik W_2 z jednym z kanałów rejestratora 18. Natomiast układ automatycznej optymalizacji 16 powstaje przez połączenie amplitudowego dyskryminatora 23 sygnału U_{x1} , z układem poszukującym 24 oraz układem przechwytyjącym 25.

Przykład rozwiązania konstrukcyjnego chromatograficznego zespołu pomiarowego I jest przedstawiony na fig. 3, gdzie odpowiednia kolumna chromatograficzna 2 służąca do rozdzielu badanych substancji jest połączona z optyczną kuwetą przepływową 1 znajdującą się w optycznie szczelnej komorze toru pomiarowego. Przepływ cieczy wymuszającej jest wymuszany pompą 3 a wyciek po opuszczeniu kuwety 1 jest odbierany przez kalibrowany odbieralnik 4 służący zarazem do pomiaru prędkości przepływu.

Działanie urządzenia realizującego sposób wykonywania spektrofotometrycznej analizy chromatograficznej według wynalazku omówiono niżej.

Układ 14 sterujący przemiataniem widmowym wytwarza okresowy prąd liniowo zmieniający się (wykres na fig. 4), który steruje elementem odchylającym 12 lampy elektronopromieniowej 10. Powoduje to odchylanie jej strumienia elektronowego i wyznacza ruch punktowego źródła promieniowania 9. Każdemu położeniu źródła 9 odpowiada inne promieniowanie na wyjściu układu spektrofotograficznego 11. Zespół II jest więc takim rodzajem monochromatora, w którym szybkość i zakres przemiatania widmowego jest wyznaczony przebiegiem prądu i_{14} układu 14. Ten sam prąd i_{14} jest przykładany do elementu odchylania (w osi poziomej) w monitorze widm absorpcji 13, wyznaczając jednoznaczny związek osi odwzorowanie na monitorze z długością fali wytwarzane przez monochromator.

Wiązka światła opuszczająca zespół II przechodzi do zespołu I, gdzie ulega rozdwojeniu przez element rozdzielający 6 na wiązkę odniesienia. Wiązka pomiarowa przechodzi przez kuwetę przepływową 1 traktując chromatograficznego i pada na detektor fotoelektryczny 5, który wytwarza sygnał elektryczny U_{x1} proporcjonalny do transmisji jaką odznacza się w danym momencie w kuwecie 1. Sygnał ten zawiera w sobie informacje widmowe i chromatograficzne. Okres powtarzania sygnałów w widmie absorpcji jest wielokrotnie krótszy od czasu zmian tego sygnału wywołanych przebiegiem procesu chromatograficznego. Sygnał U_{x1} przekazywany jest do monitora 13, gdzie powoduje w znany sposób wyznaczenie na osi pionowej odwzorowania (osi A) widma absorpcyjnych na jego

ekranie. Sygnał U_{x1} jest ponadto przekazywany do zespołu IV. Zgodnie z fig. 2 sygnał U_{x1} jest wprowadzany do grupy układów próbkujących 21, które w znany sposób na swoich wyjściach wytwarzają sygnały napięcia (lub prądu) proporcjonalnie do chwilowej wartości U_{x1} . Przykładowo chwilowa wartość U_{x1} może być wytwarzana dla trzech różnych wartości długości fali $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$, a wybór tych wartości określa układ programujący 17 z trzema niezależnymi nastawami. W ten sposób na wyjściach układów próbkujących a, b i c zespołu układów próbkujących 21 otrzymywane są krzywe zmian absorpcji w funkcji czasu, dla zadanych z góry wartości $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$, które można zarejestrować na wielokanałowym rejestratorze chromatogramów 18.

Układ zespołu optymalizacji i rejestracji IV pozwala na otrzymywanie krzywych chromatograficznych trzech typów.

Typ pierwszy daje zbiór bezpośrednich krzywych chromatograficznych detekcji spektrofotometrycznej (równy liczbie kanałów) otrzymywanych dla stałych, z góry znanych i nastawionych w układzie programującym 17, wartości $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n$, przy czym włączony jest łącznik W_1 .

Wyznaczenie wartości λ odbywa się przez grupę impulsowych komparatorów napięcia 20, w których w znany sposób przez nastawienie poziomów napięcia stałego w układzie programującym 17 i porównanie ich z sygnałem okresowego, liniowego zmieniającego się napięcia z układu 19, wytwarzają się sygnały bramkowe $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ (wykres fig. 5). Sygnały te podawane na układ 21, otwierają okresowo wspomniane poszczególne układy próbkujące a, b, c. Działanie ponadto grupy impulsowych komparatorów napięcia 20 odbywa się synchronicznie z okresem przemiatania widma, dzięki połączeniu generatora 19 z układem przemiatania widmowego 14. Nastawione wartości $\lambda_1, \dots, \lambda_n$ są odwzorowywane na monitorze 13, na tle krzywej widmowej w postaci linii znacznikowych, $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$. Powstają one dzięki temu, że na elektrodę sterującą jaskrawością obrazu w kinoskopie monitora 13 podawane są sygnały bramkowe wytwarzane w grupie impulsowych komparatorów napięcia 20. Przykładowy przebieg tych sygnałów w postaci napięcia w funkcji czasu, na wyjściu grupy komparatorów napięcia 20 w jednym okresie T przemiatania widma, przedstawia fig. 5.

Typ drugi rejestracji daje, oprócz zbioru bezpośrednich krzywych chromatograficznych detekcji spektrofotometrycznej, jeszcze dodatkowe w tym samym czasie krzywe liniowe. Krzywą taką na jednym z kanałów rejestratora 18 otrzymuje się przez automatyczne wyznaczenie w znanym układzie ilorazowym 22 stosunku sygnałów U_{x2} dla dwóch kanałów, przy nastawionych uprzednio wartościach λ_2 i λ_3 w układzie programującym 17 i włączeniu łącznika W_2 . Na znaczenie krzywych ilorazowych w analizie chromatograficznej wskazano uprzednio.

Typ trzeci rejestracji polega na automatycznym znalezieniu optymalnej wartości λ w sposobie według wynalazku realizowanym przez układy zespo-

lu IV. Użycie układu programującego 17 jest wtedy zbędne, natomiast wykorzystany jest układ automatycznej optymalizacji 18.

Sygnał pomiarowy U_x , wprowadzony zostaje do amplitudowego dyskryminatora 23, który po przekroczeniu progu U_0 jako progu zadziałania (fig. 6), kształtuje sygnał impulsowy. Sygnał impulsowy jest następnie przekazany do elektronowego układu przechwytyjącego 25 w którym za pośrednictwem wolnozmiennego napięcia liniowo rosnącego wytwarzanego przez układ poszukujący 24 „przechwycone” zostaje położenie sygnału impulsowego i wytworzone napięcie sterujące U_s proporcjonalnie do położenia przechwyconego sygnału impulsowego. Napięcie U_s przez włączenie łącznika W_s może być skierowane do jednego z komparatorów np. a i wyznaczyć wartość λ , w danym przypadku odpowiadającą maksimum krzywej absorpcji. Automatycznie zoptymalizowana wartość λ_{opt} jest zobrazowana (jak poprzednio) na monitorze 13 w postaci linii znacnikowej oraz wskazywana przez odpowiednio wycechowany wskaźnik wychyłowy W_λ .

Na fig. 7 przedstawiono zapis typowego chromatogramu uzyskanego sposobem i w urządzeniu według wynalazku. Jest to rozdział chromatograficzny trzech substancji, z których dwie są praktycznie nierozdzielone w czasie. Cyfry 1...5 wskazują kolejne momenty procesu chromatograficznego na ekranie monitora i na taśmie rejestratora. Oznaczenia $\lambda_1, \dots, \lambda_5$ wskazują długości fal, przy których prowadzony jest zapis chromatogramu. Na taśmie przedstawiono zapis z czterech kanałów i jedną krzywą ilorazową

Sposób i urządzenie według wynalazku znajduje zastosowanie głównie do analizy złożonych mieszanin związków organicznych w przemyśle chemicznym, farmaceutycznym, spożywczym, medycynie i biochemii a ponadto w analizie śladowej.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wykonywania spektrofotometrycznej analizy chromatograficznej polegający na spektro-

fotometrycznej detekcji substancji w wycieku z kolumny chromatograficznej i analizie chromatograficznej, znamiennie tym, że układ ciekły lub gazowy na wyjściu kolumny chromatograficznej poddaje się ciągłej analizie spektrofotometrycznej o okresie przemiatania widma przewyższającym co najmniej 10 razy połowkowy czas przepływu pojedynczej substancji, a otrzymane sygnały detekcji fotoelektrycznej poddaje się szybkiej automatycznej analizie w celu wydzielenia sygnałów sterujących doborem optymalnych wartości długości fali odpowiadających poszczególnym kanałom rejestracji krzywych chromatograficznych.

2. Urządzenie do stosowania sposobu według zastrz. 1, składające się z układu chromatograficznego połączonego z układem spektrofotometrycznym, znamiennie tym, że układ spektrofotometryczny ma zespół szybkoprzemiatającego monochromatora (II) współpracującego poprzez dwuwiązkową koinorę roboczą z detektorami fotoelektrycznymi (5) i (7) współpracującymi z kolei z zespołem wskaźnikowo-sterującym (III) oraz z zespołem optymalizacji i rejestracji (IV).

3. Urządzenie według zastrz. 2, znamiennie tym, że detektor (5) zespołu pomiarowego (I) połączony jest z monitorem (13) widm absorpcji zespołu wskaźnikowego (III), połączanego z kolei z układem sterującym (14) przemiatania widm.

4. Urządzenie według zastrz. 2 i 3, znamiennie tym, że układ sterujący (14) jest połączony z elementem odchyłającym (12) lampy (10) a także jest połączony z układem selekcyjnym (15) zespołu optymalizacji (IV).

5. Urządzenie według zastrz. 2, znamiennie tym, że zespół optymalizacji (IV) zawiera układ automatycznej optymalizacji (18), układ programujący (17) i wielokanałowy rejestrator (19) połączone z układem selekcyjnym (15).

6. Urządzenie według zastrz. 2-5, znamiennie tym, że dowolne pary kanałów są połączone przez układ selekcyjny (15) z układem ilorazowym (17), a wyjście układu programującego (17) jest połączone z wielokanałowym rejestratorem (19).

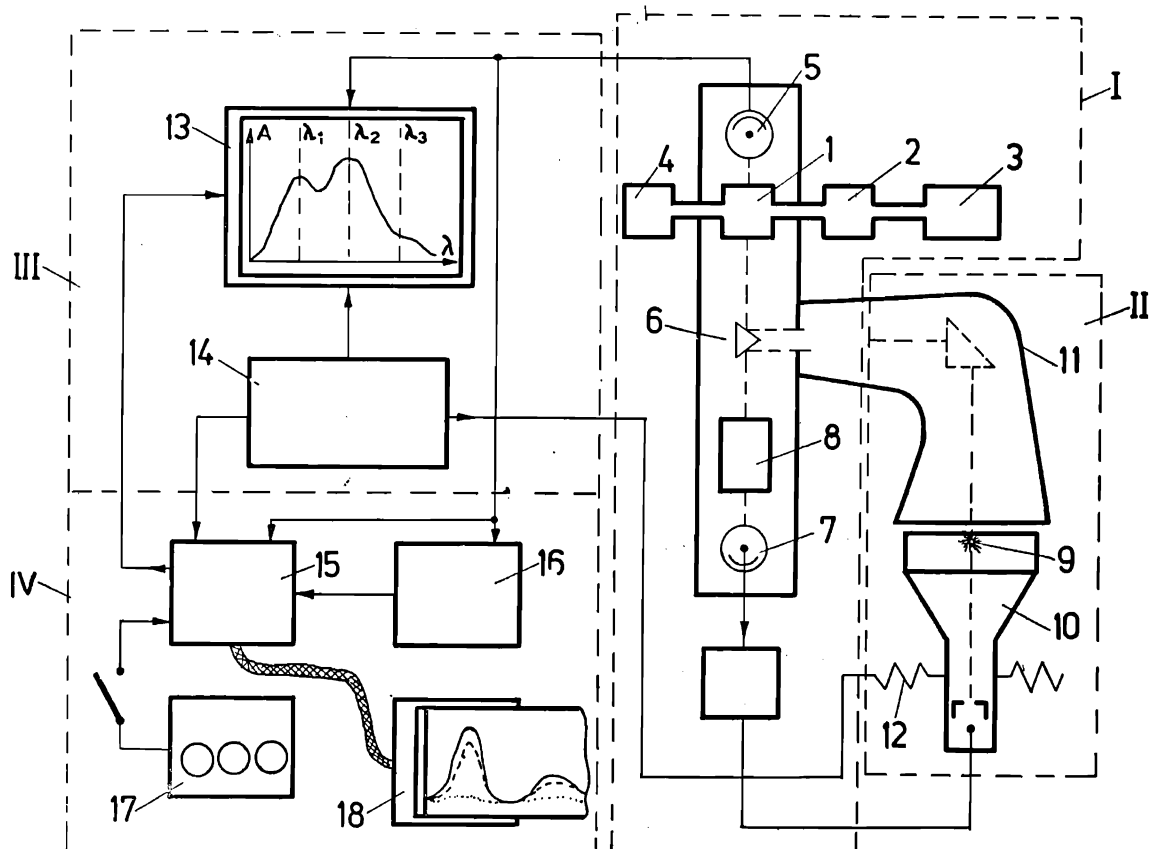


Fig. 1

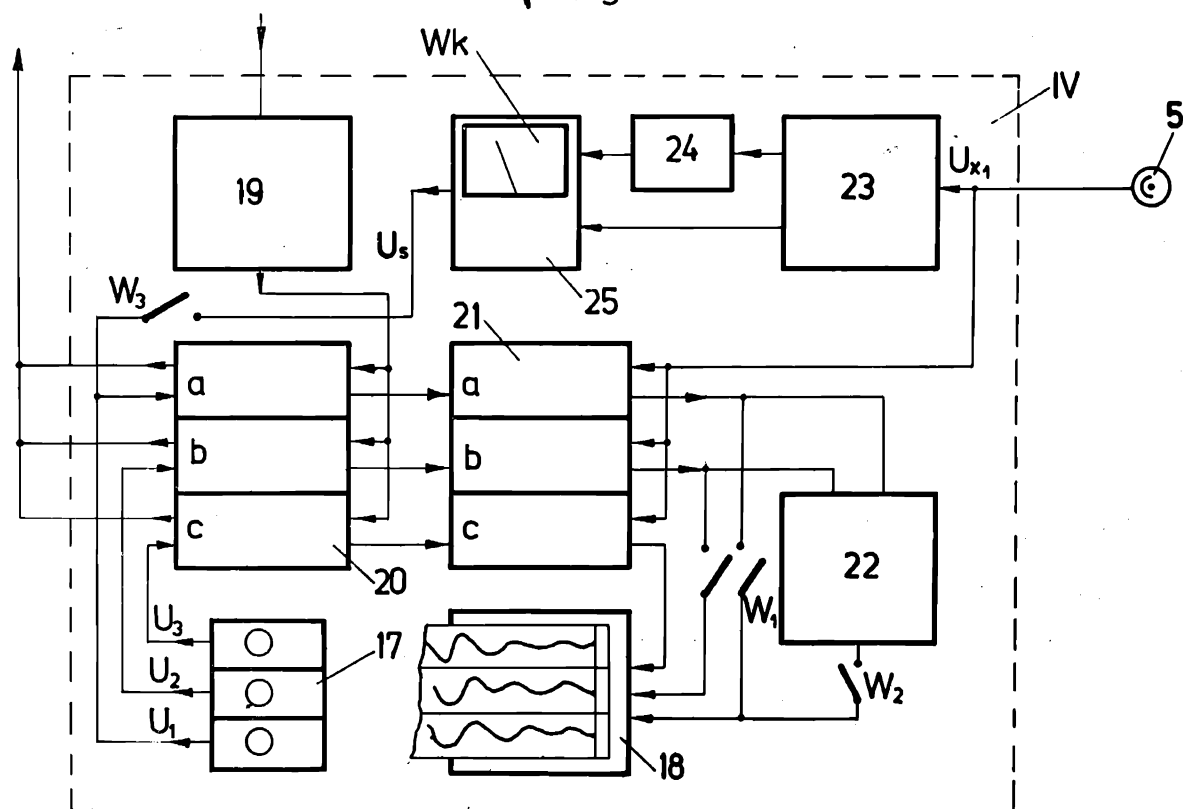


Fig. 2

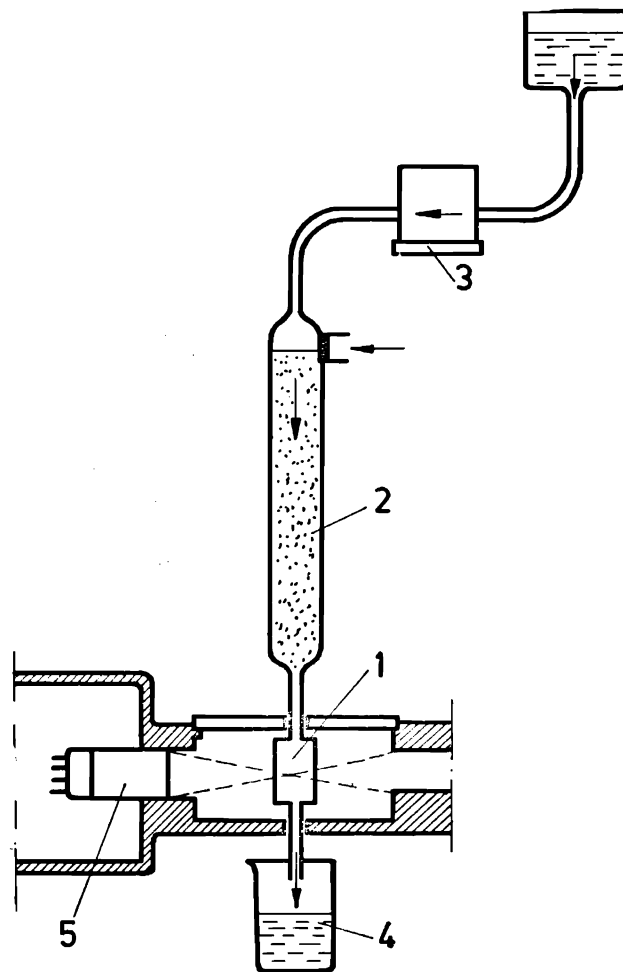


Fig. 3

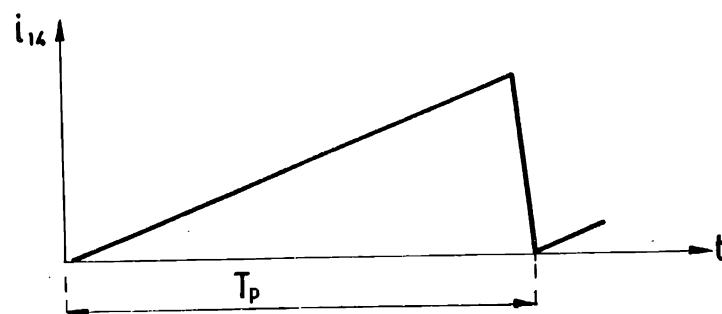


Fig. 4

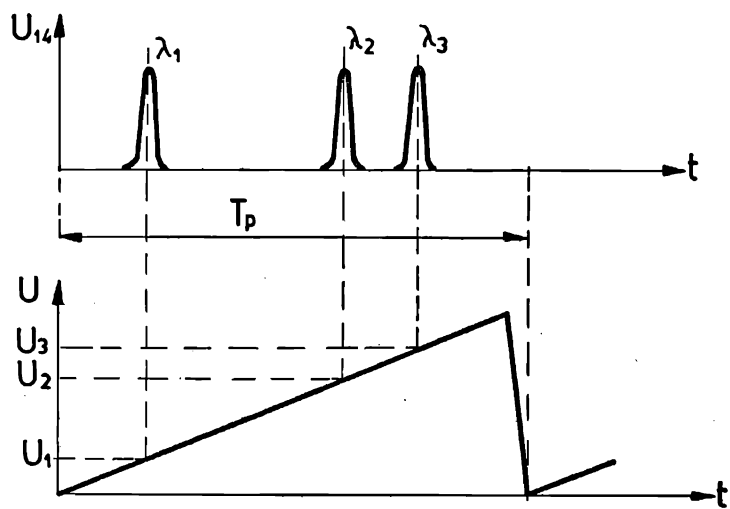


Fig. 5

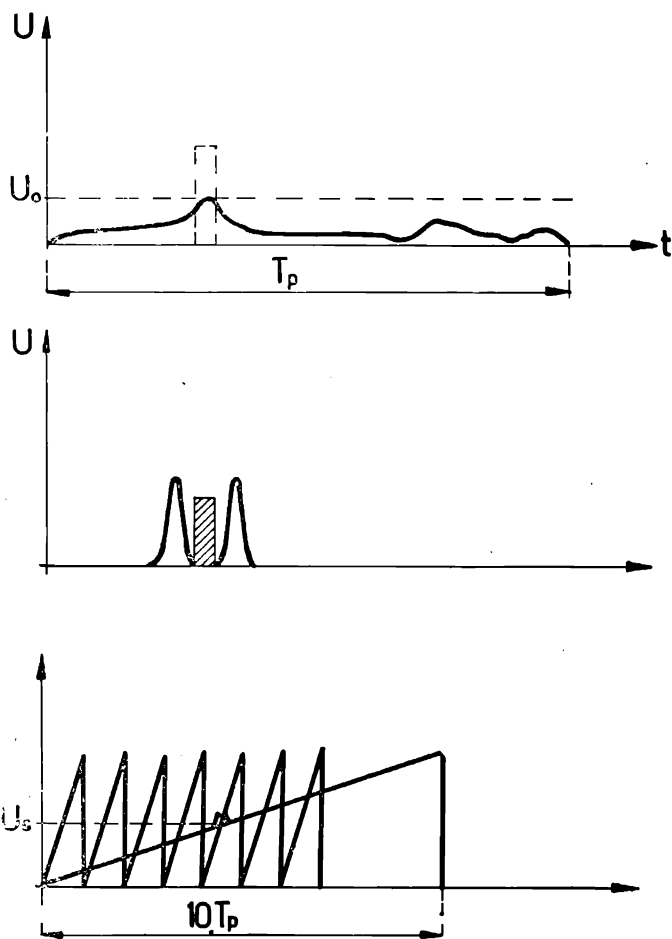


Fig. 6

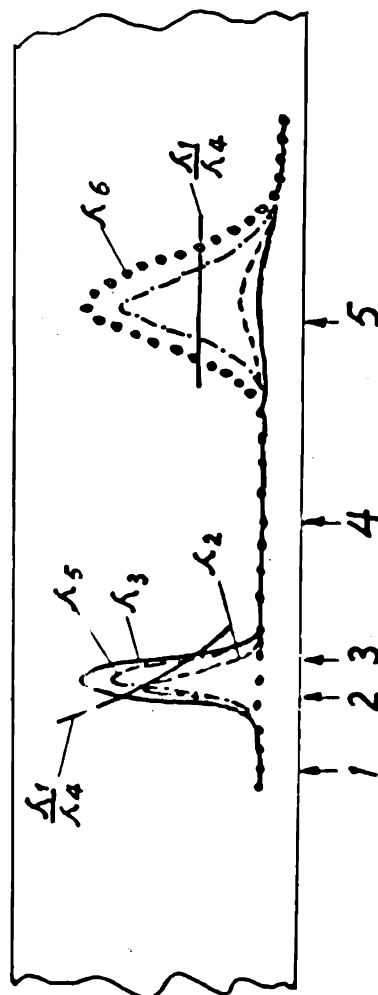
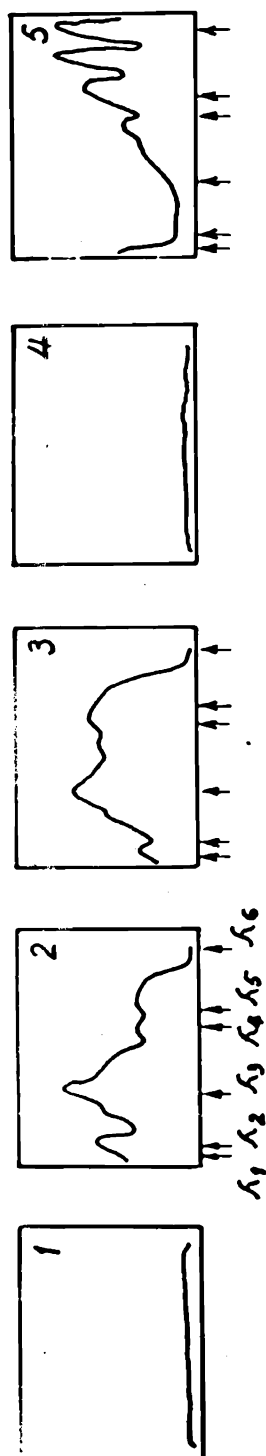


Fig. 7

CZYTELNIA
Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej