

A gázkromatográfia alapjai

Forrás: ELTE Elválasztástechnikai Kutatási-Oktatási Laboratórium (EKOL), www.ekol.chem.elte.hu/gclab

1. Elméleti bevezetés

1.1. A kromatográfias folyamat leírása

A kromatográfias eljárások célja többkomponensű gáz, gőz vagy folyadékelegyek összetevőinek elválasztása. Az elválasztás a komponensek két fázis közötti ismételt megoszlásán alapul. A kromatográfias eljárások abban különböznek az egyéb megoszláson alapuló elválasztási módszerektől (pl.: folyadék-folyadék extrakció, desztilláció), hogy az elválasztásban résztvevő fázisok közül az egyik mozgásban van (mobil v. mozgófázis), a másik fázis helyhez kötött (álló v. stacioner fázis). A mozgófázis lehet gáz (GC), szuperkritikus fluidum (SFC) vagy folyadék (HPLC). Az állófázis lehet egy szilárd hordozón egy csőbe töltve, vagy a cső belső falán rögzítve, vagy sík réteget alkotva. Ennek megfelelően beszélhetünk oszlop- vagy rétegekromatográfiáról. A gázkromatográfiában a mozgó fázis mindig gáz, az állófázis pedig lehet szilárd (gáz-szilárd adszorpciós kromatográfia) vagy folyadék (gáz-folyadék megoszlási kromatográfia) is.

Az oszlopról eluálódó komponensek által a detektorban keltett jel intenzitását az idő függvényében ábrázolva kapjuk a kromatogramot.

1.2. A gázkromatográf felépítése

A gázkromatográf fő részei:

- *Gázrendszer*
A gázrendszer tartalmazza a nagy tisztaságú mozgófázist és az esetlegesen szükséges segédgázokat, valamint ezek szabályozó egységeit. A vivőgáz (mozgófázis) folyamatosan áramlik az oszlopon.
- *Injektor*
Az injektor feladata a minta elpárologtatása (gőz- vagy gáz-halmazállapotba), továbbá az analitikai oszlopra való juttatása az itt belépő vivőgáz segítségével. Ebből következik, hogy az injektor magas hőmérsékletre fűthető (max. 400 °C). Általában a minta fecskendő segítségével egy szilikon tömitést (septum) átszűrve kerül az injektorba. Folyadékoknál mikrofecskendőt, gázmintáknál gázfecskendőt alkalmazunk. A korszerű készülékekben a vivőgáz belépőnyomása és esetenként az injektor hőmérséklete időprogramozható.
- *Termosztát*
Légtermosztátban helyezkedik el az elválasztást végző oszlop (kolonna). Az intenzív levegő-ventilláció biztosítja az egyenletes hőelosztást és a pontos hőmérsékletet, amely a retenciós idők ismételhetsége szempontjából elengedhetetlen. Követelmény, hogy a termosztát programozottan fűthető legyen 400 °C-ig, 0-100 °C/perc tartományban, valamint a megadott hőmérséklettől való eltérés maximum $\pm 0,1$ °C lehet. Az elválasztás ideje alatt a termosztálás történhet állandó hőmérsékleten (izoterm), vagy hőprogram alkalmazásával.
- *Oszlop (kolonna)*
A gázkromatográfiában használatos oszlopok két típusba sorolhatók, töltetes oszlopok és kapilláris oszlopok. Töltetes oszlopok kialakítása során a mechanikai szilárdságot acél- vagy üvegeső biztosítja, melybe a szilárd halmazállapotú állófázis van betöltve. A töltet lehet egy szilárd halmazállapotú anyag vagy szilárd hordozó felületén megkötött fázis. A kapilláris oszlopok felépítésüket tekintve egy vékony üvekapilláris, melyet kívülről poliimid-réteg borít. Ez adja a rendkívüli mechanikai tulajdonságait (hajlékonyság). A megosztófázis a kapilláris belső falán található, típusa alapján két csoportba soroljuk. Az egyik esetben az állófázis anyaga folyadékfilm (gáz-folyadék megoszlási kromatográfia), míg másik esetben szilárd adszorbens (gáz-szilárd adszorpciós kromatográfia).



A gázkromatográfiás oszlopok típusai

Oszlop típusa	Jellemző oszlophossz (L/m)	Jellemző belső átmérő (ID/mm)
Töltetes	0,5-3	1-4
Kapilláris (WCOT, PLOT)	5-100	Narrow bore: 0,1-0,32
		Wide bore: 0,53

WCOT – wall coated open tubular

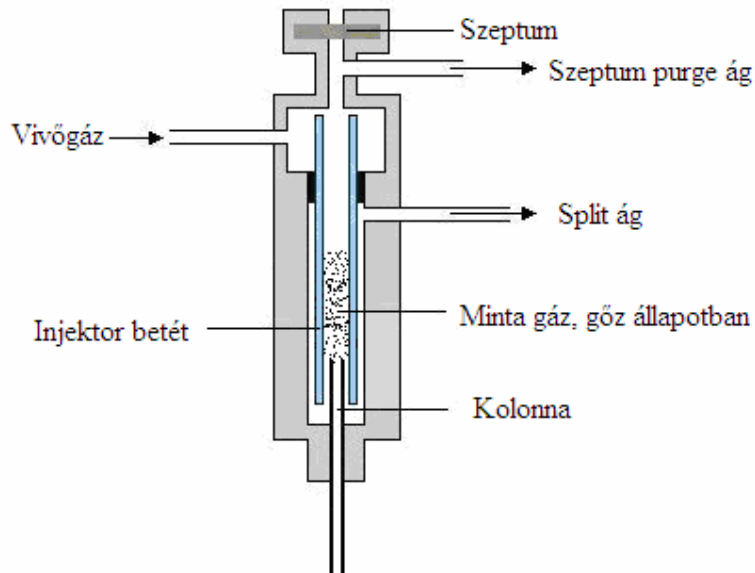
PLOT – porous layer open tubular

- *Detektor*
A gázkromatográfiában használatos detektorok az oszlopról eluálódó anyagok mennyiségével arányos elektromos jelet szolgáltatnak, amelyet az adatfeldolgozó rendszer alakít át értékelhető információvá. A detektorok fűthetőek, hőmérsékletük általában kb. 20-30 °C-kal haladja meg a termosztát végső hőmérsékletét a kedvezőtlen lerakódások megelőzése végett.
- *Adatfeldolgozó rendszer*
A modern adatfeldolgozó rendszerek alkalmas az adatok gyűjtésére, feldolgozására, tárolására, a gázkromatográfiás rendszer vezérlésére, valamint laborinformációs rendszerek felépítésére, kezelésére.

1.3. Mintabeviteli eljárások (injektor típusok)

A hatékony elválasztás megkívánja, hogy a mintaadagolás pillanatszerű legyen, a minta keskeny dugó formájában kerüljön a kolonnára. Ennek érdekében különböző injektor-típusokat fejlesztettek ki az analitikai feladatokhoz megfelelően. Néhány a gyakrabban alkalmazott típusok közül:

- *On column*: töltetes és wide-bore oszlopok esetén alkalmazható.
- *Programozottan fűthető (PTV)*: pl. hőérzékeny vegyületek, illetve oldószerelpárologatató technika esetén alkalmazható.
- *Split-splitless*: kapilláris oszlopok esetén alkalmazzák.
Split üzemmód: az injektált mintának csak egy része kerül ténylegesen az oszlopra, így a kis átmérőjű kapilláris oszlopon pillanatszerű lesz az injektálás, a felesleget erős gázáram fújja ki az injektorból.
Splitless üzemmód: kicsi koncentrációk kimutatása esetén alkalmazzák, az injektált mennyiség legnagyobb része az oszlopra kerül.



A split-splitless injektor vázlatja injektálás után közvetlenül

1.3.1. Split injektálási üzemmód

Az injektor hőmérsékletén gőzállapotba került minta kisebb része az oszlopra jut, míg a nagyobb rész a split ágon meghatározott térfogati sebességgel eltávozik.

Az oszlopra kerülő anyag mennyiségét az oszlopra jutó vivőgáz áramlási sebessége és a split ágon szabályzott áramlási sebesség aránya szabja meg. Ezt az arányt nevezzük split aránynak. Például ha a split szelepen az áramlási sebesség $100 \text{ cm}^3/\text{perc}$, az oszlop végén mért áramlási sebesség $1 \text{ cm}^3/\text{perc}$, a split arány 100:1, azaz a mintának kb. 1%-a jut az oszlopra. Az áramlási sebességeket nagy pontosságú tömegáramlás-mérők érzékelik, szelepek szabályozzák, melyek az ábrán nincsenek feltüntetve.

Az injektor ezen üzemmódja során a beinjektált minta jelentős része elvész, ezért nyomelemzésnél, ahol nagyon kis mennyiséget kell meghatározni korlátozottan alkalmazható, viszont a minta bejuttatása pillanatszerű. (Animáció a honlapon!)

1.3.2. Splitless injektálási üzemmód

A splitless injektálási módszer biztosítja, hogy nagyobb mennyiségű minta kerüljön az oszlopra, de ez egyben az elválasztás hatékonyságának kismértékű csökkenését eredményezheti, mivel az injektálás időben nem pillanatszerű. Ezért az elválasztandó komponenseket fókuszálni kell az oszlop elején. Injektálaskor a termosztátban az oszlop hőmérséklete min. 20°C -kal kisebb, mint a minta legillékonyabb komponensének a forráspontja (legtöbbször az oldószernek). A split ág az injektálás pillanatában, továbbá azt követően meghatározott ideig (splitless idő, általában 0,5-1,0 perc) zárva van. Ekkor az oszlopon mérhető áramlási sebességgel a vivőgáz ráöblíti az injektor gőzterét kolonnára, ahol fókuszálódnak. A splitless idő eltelté után a split ág nyit, az injektorban visszamaradó komponensek azonnal távoznak a split ágon, az injektor kitisztul. Ezzel egyidőben induló hőmérsékletprogram következtében a komponensek forráspontjaik, illetve gőznyomásuk sorrendjében szeparálódnak az oszlopon. (Animáció a honlapon!)

1.4. Detektorok

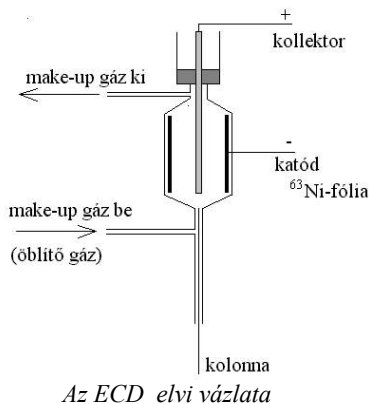
Néhány fontosabb típus:

- Lángionizációs detektor (FID)
Az egyik legelterjedtebben használt általános detektor, elsősorban a C-H kötésre ad jelet.
- Tömegspektrométer (MS)
Napjainkban széles körben elterjedt, a komponensek azonosítására is alkalmas univerzális vagy szelektív detektor. (kötelezően választható labor anyaga)
- Hővezetőképességi detektor (TCD)
Főként elemi gázok meghatározásában van jelentősége.

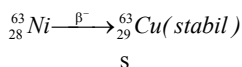
- Specifikus detektorok
 - Egy-egy vegyületcsoport különösen nagy érzékenységu mérését teszik lehetővé, pl.
 - Elektronbefogásos detektor (ECD)
 - Nitrogén-foszfor detektor (NPD)
 - Láng-fotometriás detektor (FPD)
 - Atom-emissziós detektor (AED)

1.4.1. Az elektronbefogásos detektor (ECD)

Az elektronbefogási detektor (ECD: electron capture detector) a nem destruktív ionizációs detektorok közé tartozik.



A detektor katódként (negatív pólus) ^{63}Ni -fóliát tartalmaz, amely 100%-ban lágy β -sugárzó, felezési ideje 125 év:



A detektorban alkalmazott sugárforrás aktivitása 370 MBq. Ezt a sugárzást, már néhány mm-es acéllemez teljesen elnyeli. A ^{63}Ni -fóliából emittálódó β -részecskék energiája 67 keV, ezek a β -részecskék ütköznek a vivőgáz atomjaival. A rugalmas és rugalmatlan ütközések révén gyökökből, pozitív ionokból (N_2^+ , N_4^+ , Ar^+ , CH_4^+ ...) és termikus elektronokból álló plazma jön létre. Minden β -részecske 10^2 - 10^3 termikus elektront hoz létre, amelyek energiája átlagosan $2.5 \cdot 10^{-2}$ eV (Azaz nem rendelkeznek akkora energiával, hogy a nagy ionizációs potenciálú szerves és szervetlen molekulákat ütközés révén ionizálják.) Ezek az elektronok az anód (kollektor; pozitív pólus) felé haladva zárják az áramkört. Az áramvezetésben a pozitív ionok nem vesznek részt, mivel nagy a tömegük, így kicsi a mozgékonyaságuk az elektronokhoz képest. Ezért a zárt áramkörben egy nagyon kicsi, de jól mérhető alapáram folyik (10^{-12} A = 1 pA). A nagy elektronegativitású elemeket (F, Cl, O, Br) tartalmazó molekulák képesek abszorbeálni a vezetésben résztvevő elektronokat, tehát csökkentik azok számát. A keletkező anionok nagy tömegűek, kis mozgékonyaságúak tehát az alapáram (I_0) lecsökken, a mért detektorjel az alapáramtól való eltérés

Az ECD linearitási tartománya 3-4 nagyságrend fluor és klór tartalmú vegyületekre. Adott feladat esetén a lineáris tartományt meg kell határozni minden egyes mérendő vegyületre. A detektor szénhidrogénekre gyakorlatilag érzéketlen, halogéntartalmú, vagy nagy elektronvonzó-képességű csoportot (pl. $-\text{NO}_2$, konjugált rendszerek) tartalmazó vegyületek specifikus mérésére alkalmas. Lehetővé teszi a halogéntartalmú gázkromatográfiásan vizsgálható vegyületek mérését 10^{-12} - 10^{-15} g-ig. Az érzékenységet, s így a kimutatási határt a halogénatomok száma, valamint egyéb szerkezeti tényezők igen nagy mértékben befolyásolják.

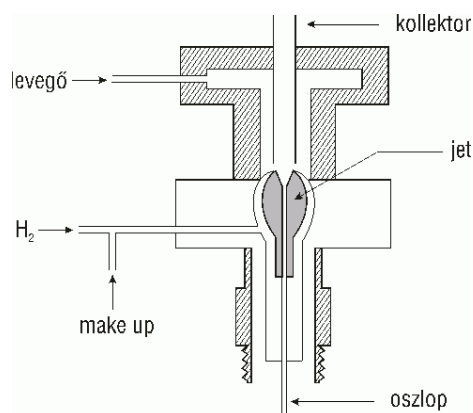
Az ECD detektor működése szempontjából fontos szerepe van az alkalmazott vivőgáznak (eluens). A nemesgázok nem előnyösek, mert kis mennyiségben metastabil, gerjesztett állapotú nemesgázatomok is keletkeznek, s ezek ütközési ionizáció révén elektronegativ elemeket nem tartalmazó molekulákat (pl. szénhidrogének) is képesek ionizálni. Ez a jelenség lerontaná a detektor specifitását. Megfelelő eluens a nagy tisztaságú nitrogén és a hidrogén. A hidrogén előnye, hogy a detektor környezetében redukív atmoszférát teremt, s ezzel védi a Ni-fóliát a vivőgázban esetleg nyomokban előforduló oxigén korrodáló hatásától. A detektor működéséhez make-up gáz (öblítő gáz) szükséges, hogy a detektortér gyorsan kiürüljön, s ne lépjen fel többszörös ionizáció.

A detektor alkalmazásánál ügyelni kell arra, hogy csak halogénmentes oldószereket használjunk, mert a nagy érzékenység miatt még igen kis szennyezés is zavarja a mérést. A GC-ECD rendszerrel történő méréshez alkalmazott halogénmentes oldószereket lehetőleg olyan helyiségben kell tárolni, ahol nem fordulnak elő klórozott oldószerek.

1.4.2. Lángionizációs detektor (FID)

A lángionizációs detektor széleskörű alkalmazhatósága (szinte minden szerves molekulára jelet ad) valamint széles lineáris tartománya ($\sim 10^7$) miatt a legáltalánosabban használt gázkromatográfiai detektor.

Az oszlopról eluálódó komponensek a lángionizációs detektorban (FID: Flame Ionization Detector) egy kb. 2000-2500 K hőmérsékletű hidrogén-levegő lángba jutnak. A lángban a C-H kötések tartalmazó molekulák, azaz a szerves vegyületek fragmentálódnak és egy részük ionizálódik. A képződött ionok a jet és a jet körül elhelyezkedő, henger alakú kollektor közötti potenciálkülönbség hatására a kollektorra jutva a detektorba eluálódó anyagmennyiséggel arányos ionáramot eredményeznek.



Lángionizációs detektor vázlatja

A detektor jelének intenzitása az egyes összetevők mennyisége mellett függ a molekulában lévő C atom – H atom aránytól, pontosabban a lángban képződő CH gyökök számától. A keletkező CH gyökök száma pedig jelentősen függ a heteroatomok számától, minőségétől, molekulán belüli helyzetétől, kötéstípusától. A különböző szerkezetű molekulákban lévő szénatomok tehát eltérő módon járulnak hozzá a CH gyökök ill. az ionok képződéséhez. A láng égése során víz képződik, ezért üzemben levő detektor sosem hűlhet 100 °C alá, mivel a kollektorban kondenzálhat, így a detektor korrodeálódik, élettartama csökken. A mérendő ionáram optimális értéke a hidrogén-levegő 1:10 arány esetén érhető el. Kapilláris oszlop esetén a a jelintenzitás növelése céljából a hidrogénhez segédgázt (make up gas) kell keverni, ezáltal biztosítható a detektor optimális működéséhez szükséges hidrogén – (make up + mozgó fázis) 1:1 arány, amely a töltetes oszlopok esetén a hidrogén – mozgó fázis 1:1 aránynak felel meg. Segédgázként nitrogént célszerű használni.

A szerves molekulák közül a formaldehid és a hangyasav esetén nem kapunk értékelhető jelet.

A gázkromatográfiai folyamatok matematikai leírása

Egy adott komponens retenciós idejének (t_R) az injektálástól a detektálásig (a csúcs maximum megjelenéséig) eltelt időt nevezzük. A vivőgázban valamennyi komponens azonos időt tölt el. Azok a komponensek, amelyek nem lépnek kölcsönhatásba az állófázissal egyszerűen áthaladnak a vivőgázzal az oszlopon, áthaladási idejük a holtidő (t_m), amit a kolonna hossza és a vivőgáz áramlási sebessége határoz meg. (Ez utóbbi természetesen függ a kolonna hőmérsékletétől.) Az állófázissal kölcsönhatásba lépő komponensek a megoszlási hányadosuknak (K) megfelelően hosszabb-rövidebb időt töltenek az állófázisban.

$$K = \frac{C_{(\text{állófázis})}}{C_{(\text{vivőivő})}}$$

K : adott komponens megoszlási hányadosa

$C_{(\text{állófázis})}$: adott komponens egyensúlyi koncentrációja az állófázisban

$C_{(vívőivő)}$: adott komponens egyensúlyi koncentrációja a vívőgázban

A megoszlási hányados az egyes komponensek állófázishoz való affinitását jellemzi egy adott hőmérsékleten. Minél nagyobb K értéke egy adott komponensre nézve annál több időt tölt el a komponens az állófázisban, azaz annál nagyobb a retenciós ideje. Tehát az egyszerre injektált komponensek eltérő idővel érik el az oszlop végét, így jöhet létre az elválasztás. Míg a vívőgázban eltöltött idő a holtidővel jellemezhető, addig az állófázisban eltöltött időt a korrigált retenciós idő (t_R') adja meg.

$$t_R' = t_R - t_m$$

Ezt a holtidőre vonatkoztatva kapjuk meg az ún. retenciós tényezőt (k_i).

$$k_i = \frac{t_{Ri}'}{t_m}$$

k_i : az i-edik komponens retenciós tényezője

t_{Ri}' : az i-edik komponens korrigált retenciós ideje

Ez az érték megadható a komponenseknek a két fázisban kialakuló tömegarányával is:

$$k_i = \frac{m_{i(állófázis)}}{m_{i(vívőgáz)}}$$

$m_{i(állófázis)}$: az i-edik komponens tömege az állófázisban

$m_{i(vívőgáz)}$: az i-edik komponens tömege a vívőgázban

A megoszlási hányadost részletesebben kifejtve:

$$K_i = \frac{C_{i(állófázis)}}{C_{i(vívőgáz)}} = \frac{m_{i(állófázis)} \cdot V_{vívőgáz}}{m_{i(vívőgáz)} \cdot V_{állófázis}} = k_i \beta$$

$V_{vívőgáz}$: az oszlopot kitöltő vívőgáz térfogata

$V_{állófázis}$: az oszlop állófázisának a térfogata

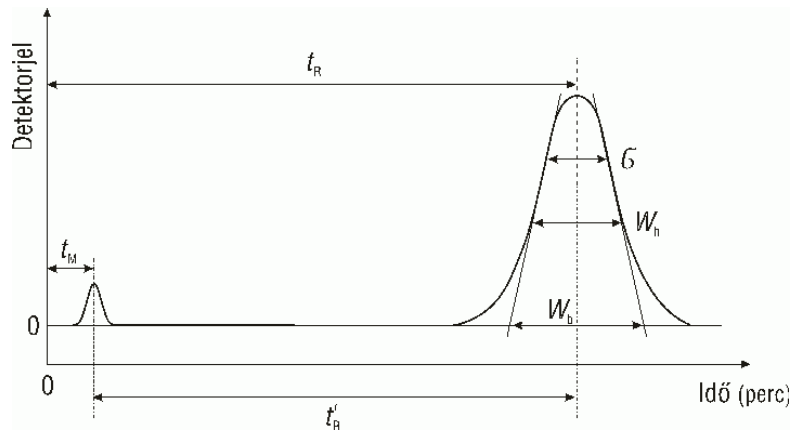
$\beta = \frac{V_{vívőgáz}}{V_{állófázis}}$: az oszlopot jellemző fázisarány

Az eddig bevezetett megoszlási hányados (K) és retenciós tényező (k_i) egy adott komponensnek és az állófázisnak a viszonyát jellemezték csak. Az elválasztás feltétele, hogy az elválasztandó komponensek K ill. k_i értékei egymástól eltérőek legyenek. Két konkrét komponensnek és az állófázisnak a viszonyát (más szavakkal, hogy az adott fázis mennyire tud különbséget tenni a két komponens között) a szelektivitási tényezővel (α) vagy más néven elválasztási együtthatóval jellemezhetjük.

$$\alpha_{1,2} = \frac{K_2}{K_1} = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t_{R'2}}{t_{R'1}}$$

α -val kifejezve tehát az elválasztásnak feltétele, hogy $\alpha \neq 1$, $\alpha > 1$.

Ideális esetben a nagy sebességgel beinjektált minta komponensei csak nagyon szűk sávot töltenek ki a kolonnán és igen keskeny, Gauss-görbe alakú csúcsként detektálhatók.



Az ideális kromatográfiás csúcs

w_b : A csúcs alapvonalon mért szélessége

w_h : A csúcsmagasság felénél mért ún. csúcs félérték-szélesség

σ : A haranggörbe két inflexiós pontja közötti távolságot jelenti az időtengely mentén (standard deviáció).

$$w_b = \sqrt{\frac{2}{\ln 2}} \cdot w_h$$

A gyakorlatban a kezdeti szűk sáv számos fizikai folyamat (pl. hosszirányú diffúzió) révén kiszélesedik. Ennek következtében, ha két komponens retenciós ideje el is tér egymástól a diffúzió okozta átfedés miatt nem biztos, hogy a kolonna végéhez érve is teljesen el tudnak különülni. Az elválasztás másik feltétele tehát, hogy a kolonnában óhatatlanul végbemenő csúcsciszélesedés nem lehet túl nagy mértékű. Míg a megoszlási hányadosok ill. a retenciós tényezők közti különbségek és a szelektivitási tényező az állófázis szelektivitására jellemző adatok, addig a csúcsciszélesedés a kolonna hatékonyságát jellemzi. A kolonnáról akkor mondhatjuk, hogy hatékony, ha a csúcsciszélesedés olyan kicsi, hogy egyhez közeli α érték esetén (azaz kis retenciós idő különbségeknél) is képes elválasztani két komponenset.

Az elválasztást jellemző, mindkét tényezőt magába foglaló mérőszám a felbontás (R):

$$R_{1,2} = \frac{t_{R'2} - t_{R'1}}{\frac{w_{b2}}{2} + \frac{w_{b1}}{2}} = 2 \frac{t_{R'2} - t_{R'1}}{w_{b2} + w_{b1}}$$

A 2-es index a nagyobb, az 1-es index pedig a kisebb retenciós idejű komponensre vonatkozik.

Ha két csúcs egyáltalán nem fed át, akkor alapvonal elválasztásról beszélünk. Az ennek megfelelő minimális R érték kb. 1,5.

Az ideális, Gauss görbe alakú csúcs esetén a csúcsciszélesedés mértéke a görbe standard deviációja (σ). Mivel a csúcsciszélesedés, és így s is nő a retenciós idő növekedésével, ezért a kolonna hatékonyságának kiszámításakor mindkét paraméter figyelembe kell venni. Az így kapott kifejezés (a desztillációból vett analógiára) a tányérszám (n):

$$n = \left(\frac{t_R}{s} \right)^2$$

A gyakorlatban a tányérszám kiszámításakor a kromatogram alapján sokkal egyszerűbben meghatározható paramétereket alkalmazunk:

$$n = 16 \cdot \left(\frac{t_R}{w_b} \right)^2$$

$$w_b = 4 \cdot s$$

$$n = 5,545 \cdot \left(\frac{t_R}{w_h} \right)^2$$

$$w_h = 2,35482 \cdot s$$

Mivel az elválasztást az állófázisnak köszönhetjük, és a gázfázisban töltött idő (t_0) ehhez nem járul hozzá, ezért érdemes a kolonna hatékonyságának jellemzésére a tányérszám helyett az effektív tányérszámot (N) használni. Ez a tányérszámtól abban tér el, hogy a retenciós idő helyett a korrigált retenciós időt használjuk számításakor.

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_R'}{w_b} \right)^2 = 5,545 \cdot \left(\frac{t_R'}{w_h} \right)^2$$

Sok esetben, praktikus okokból, a csúcskiszélesedés mértékéül, azaz az oszlop hatékonyságának jellemzésére a tányérszám helyett az „egy elméleti tányérnak megfelelő oszlophossz”-t használják. Ezt a fogalmat általában a HEPT rövidítéssel jelölik. (HEPT: Height Equivalent to a Theoretical Plate)

$$H = \frac{L}{n}$$

H : HEPT

L : az oszlop hossza általában mm-ben kifejezve

A HEPT fogalma a desztillációban konkrét fizikai értelemmel bír, a gázkromatográfiában azonban csak a szeparációs folyamat során előrehaladó anyaghullám „szétkenődésének” leírását teszi szemléletessé. Minél kisebb az értéke, annál kisebb mértékű a csúcs kiszélesedése, vagyis annál jobb, hatékonyabb az oszlop.

1.5. A kromatogram kiértékelése

A kromatogramban a minőségi információt a retenciós idők, a mennyiségit a csúcsok alatti területek hordozzák. Az egyes komponensek minőségének meghatározására a retenciós adatok csak abban az esetben elegendők, ha ismerjük a mintánk szennyezés-profilját (esetünkben tartalmaz robbanó-anyagokat, interferáló komponenseket nem). Amennyiben ilyen információkkal nem rendelkezünk, akkor a komponensek azonosítása csak erre alkalmas detektorok (pl. MS, FTIR) használatával végezhető el.

A minta koncentrációja és az analitikai jel (csúcsterület) közötti kapcsolatot kalibráció segítségével határozzuk meg. A kromatogram csúcsainak területe a detektorba jutó anyag mennyiségével általában lineáris összefüggést mutat, anyagmennyiséget növelve telítésbe megy át. Mennyiségi elemzés céljára általában a görbe egyenes szakasza (detektor dinamikus tartománya) alkalmazható. Mivel a detektorok érzékenysége (kalibrációs egyenes meredeksége) minden anyagra más és más, ezért a kalibrációt minden meghatározandó komponensre el kell végezni.

1.5.1. Minőségi azonosítás

1.5.1.1. Azonosítás retenciós idő alapján

Ha egy csúcs (vegyület) minőségi azonosítását akarjuk elvégezni egy kromatogramból és rendelkezésre áll a kérdéses vegyület, mint összehasonlító standard, az azonosítás elvégezhető szigorúan azonos körülmények között felvett kromatogramokból, a retenciós idők összehasonlításával. Azonos retenciós idők esetén azonosítottnak tekintjük a csúcst. A tévedések elkerülése céljából szokás az azonosítást két különböző polaritású oszlopon (konfirmációs analízis) elvégezni.

1.5.1.2. Minőségi standard addíció

Ez a módszer az előzőtől csak abban különbözik, hogy a standard vegyület adott mennyiségét a vizsgálandó eleyhez adagolják és az azonosítás az adott kromatográfiás csúcs intenzitásának növekedése alapján történik.

1.5.2. Mennyiségi meghatározás

1.5.2.1. Külső-standard módszere (ESTD: external standard)

A kalibráció a mérendő anyagokat ismert koncentrációban tartalmazó standard oldat sorozatok mérésével történik. A kapott adatokra egyenest illesztve határozhatjuk meg az $A_i = a_i + b_i w_i$ alakú kalibrációs egyenes a_i és b_i paramétereit. (A_i : az i -edik komponenshez tartozó csúcsterület, w_i az i -edik komponens mennyisége) A módszer nagymértékben terhelt a minta-előkészítés veszteségétől, injektálásnál a mátrixhatás torzításának hibájától.

1.5.2.2. Belső-standard módszere (ESTD: extraction standard)

A kalibráció ebben az esetben is a mérendő anyagokat ismert koncentrációban tartalmazó standard-oldat sorozatok mérésével történik. A módszer annyiban tér el az előzőtől, hogy itt a standard-oldatokhoz, és minden egyes mintához is hozzáadunk egy ún. belső-standardot, mindig azonos mennyiségben. A kiértékelés során az egyes komponensek csúcsterületeit minden esetben a belső standard csúcsterületére vonatkoztatva adjuk meg. (Azaz ahol az előző módszerben egyszerűen a csúcsterületekkel számoltunk, ott most az aktuális kromatogramban a belső standardhoz tartozó csúcsterülettel osztott csúcsterületekkel számolunk.) Így kalibrációs egyenes a következő alakban írható fel:

$$\frac{A_i}{A_{ESTD}} = a_i + b_i \cdot w_i$$

ahol az A_{ESTD} a belső-standard csúcsterülete az aktuális kromatogramban, w_i az i -edik komponens mennyisége a belső standard mennyiségével osztva.

Az így kapott eredmények függetlenek a minta-előkészítési és injektálási hibáktól. Kritikus pontja a megfelelő belső-standard kiválasztása, mely fizikailag és kémiaiilag is megfelelően jellemzi a mérendő vegyület-csoportot. Általában szokás deuterált standardokat alkalmazni, valamint ^{13}C jelölteket, azonban ezek használata jelentősen növeli az analízis költségeit. Több belső-standardot is szokás használni, ha a feladat megkívánja. Az eljárás gázanalitikában azonban nem alkalmazható. Hasznos információt rejt a minta-előkészítés hatékonyságáról a belső-standard visszanyerése. A visszanyerés definíciója esetünkben, a mintában mért belső-standard csúcsterülete ($A_{ESTD,i}$) a kalibráló oldatban mért belső-standard csúcsterületének ($A_{ESTD,kalib}$) százalékában megadva.

$$\text{Rec\%} = \frac{A_{ESTD,i}}{A_{ESTD,kalib}} \cdot 100\%$$

A belső-standard megválasztásának főbb szempontjai:

- A mintában biztosan ne forduljon elő.
- Kémia és fizikai tulajdonságai hasonlóak legyenek a meghatározandó komponensekéihez.
- A minta egyik komponensével se lépjen fel koelúció.