

**Руководство
по работе с программой
IONCHROM**

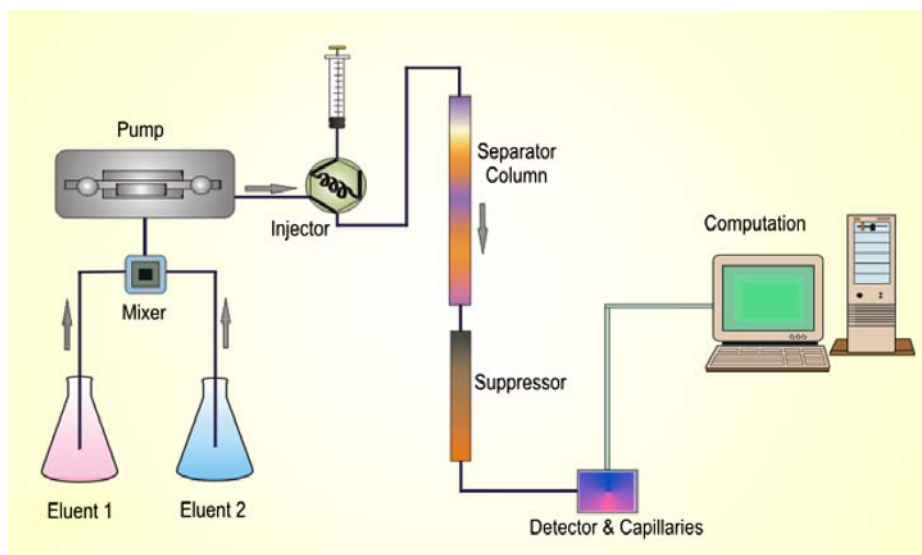
Москва, ГЕОХИ РАН - 2007

Оглавление

1. Решение прямой задачи: получение теоретической хроматограммы для изучения хроматографического поведения исследуемых веществ	3
Задание параметров системы	4
<i>Насос</i>	4
<i>Детектор</i>	5
<i>Разделяющая колонка</i>	6
<i>Подавитель</i>	8
<i>Анализируемая проба</i>	9
<i>Элюент</i>	10
<i>Выбор режима элюирования</i>	11
Таблица ионов	13
Графические результаты решения прямой задачи	14
<i>Работа с теоретической хроматограммой</i>	14
<i>Режим многомерной хроматографии</i>	16
<i>Работа с экспериментальными данными</i>	19
Работа с динамической картой хроматографической системы	20
2. Решение задачи оптимизации	23
<i>Параметры режима, соответствующие теоретической хроматограмме</i>	26
3. Решение обратной задачи	27
Аналитическая задача	28
Исследовательская задача	29
1. <i>Определение константы обмена нового компонента, вводимого в таблицу ионов.</i>	29
2. <i>Определение коэффициента чувствительности V_h</i>	30

1. Решение прямой задачи: получение теоретической хроматограммы для изучения хроматографического поведения исследуемых веществ

Схема ионного хроматографа, изображенная на фоновой картинке, содержит следующие элементы:



1. Емкости с элюентом (Eluent 1, Eluent 2);
2. Насос высокого давления (Pump);
3. Устройство для дозирования пробы (Injector, Sample);
4. Разделяющая колонка (Separator Column);
5. Подаватель (Suppressor);
6. Кондуктометрический детектор и соединительные трубки (Detector & Capillaries);
7. Компьютерный расчет и обработка данных (Computation).

При попадании курсора на поле любого элемента возникает флажок с его названием, а при щелчке левой кнопкой мыши появляется диалоговое окно с параметрами данного элемента хроматографа. Панель задач программы содержит следующие кнопки:



◆ **File**- основные файловые операции программы;

Open - вызов новых файлов данных ;

Save - запись текущего состояния задачи в текущие файлы *.dan и *.tab (имя для обоих файлов одно и то же - текущее);

Save as - изменение текущего имени файлов данных и запись в них текущего состояния задачи, новое текущее имя высвечивается в верхней части главного окна;

Print - распечатка на принтере текущего состояния хроматографической системы - то, что записывается в файл с расширением .dan;

Exit - выход из программы.

- ◆ **Calculation**- расчетные режимы программы;
- ◆ **System** - задание параметров хроматографической системы;
- ◆ **Eluent** - задание состава элюирующего раствора;
- ◆ **Sample** - задание состава пробы для модельных расчетов;
- ◆ **Tab of ions** - задание таблицы характеристик веществ;
- ◆ **Help** - вызов на экран справочного файла.

Для вызова файлов помощи программа использует три механизма:

1. Некоторые окна программы имеют в верхнем меню пункт **Help**;
2. Окна, не имеющие такого пункта, имеют кнопку **?** в углу окна; щелчком мыши можно активизировать режим **?**, после чего, щелкнув по элементу окна, получить желаемую справку.
3. Окна второго типа имеют также возможность вызова файла помощи с помощью щелчка правой кнопкой мыши, когда мышь указывает на серый фон окна.
4. Аналогичное свойство имеет главное окно программы, когда мышь указывает на основные элементы хроматографа, изображенного на заставке.

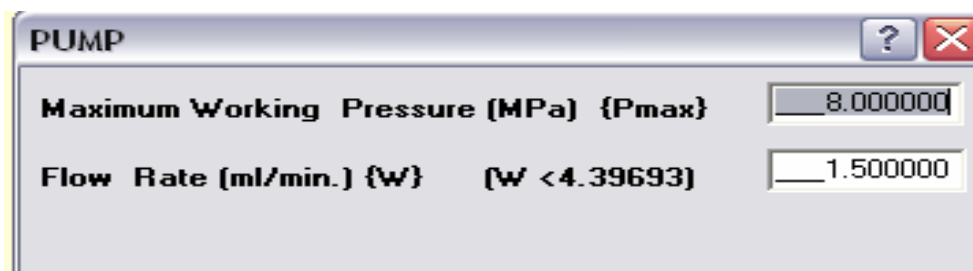
Задание параметров системы

Задание параметров системы может происходить в любой последовательности, при этом соответствующие диалоговые окна вызываются либо кнопками на панели задач, либо с помощью двойного щелчка мыши по соответствующему элементу картинки на экране.

Насос

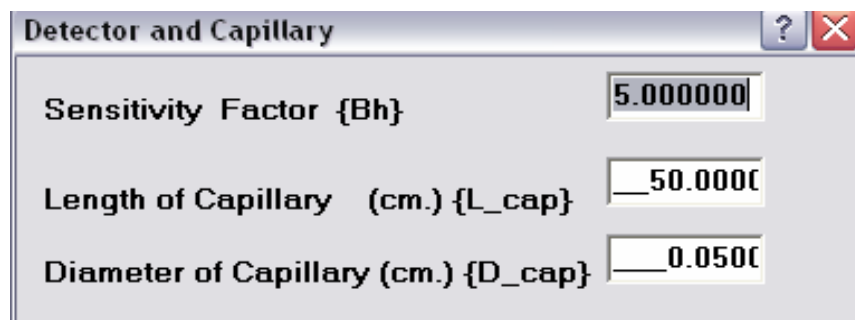
Щелчком левой кнопки мыши по рисунку с названием **PUMP** вызываем диалоговое окно, где задаем величину максимального давления насоса **Pmax** в МПа (**Maximum**

Working Pressure), которая берется из описания насоса для каждого конкретного хроматографа. Величина заданного максимального давления насоса определяет максимально допустимое значение скорости потока элюента, которое автоматически указывается в неравенстве в строке **Flow Rate**, например: $W < 4.36588$. Скорость потока **W** (мл/мин) соответствует скорости элюирования при проведении анализа.



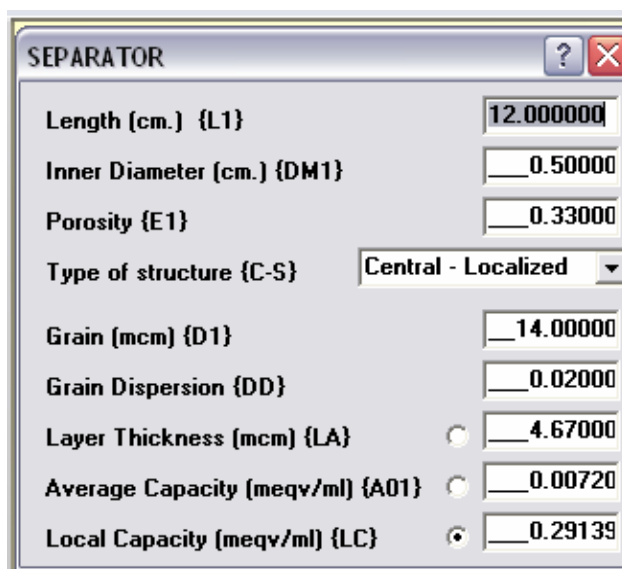
Детектор

Щелчком левой кнопки мыши по рисунку с названием DETECTOR AND CAPILLARIES вызываем диалоговое окно, где задаем величину коэффициента чувствительности **Bh (Sensitivity factor)**, который равен отношению величины сигнала в единицах измерительного прибора к величине сигнала в единицах модели при одних и тех же параметрах прибора и виртуальной хроматографической системы. Следующие две строки показывают общую длину **L_cap (Length of capillary)** и диаметр **D_cap (Diameter of capillary)** соединительных трубок в сантиметрах в цепи от инжектора до детектора.



Разделяющая колонка

Двойным щелчком левой кнопки мыши по рисунку с названием SEPARATOR вызываем диалоговое окно. Вводим соответствующие параметры разделяющей колонки:



The screenshot shows a dialog box titled "SEPARATOR" with the following parameters and values:

Parameter	Value
Length (cm.) {L1}	12.000000
Inner Diameter (cm.) {DM1}	0.50000
Porosity {E1}	0.33000
Type of structure {C-S}	Central - Localized
Grain (mcm) {D1}	14.00000
Grain Dispersion {DD}	0.02000
Layer Thickness (mcm) {LA}	<input type="radio"/> 4.67000
Average Capacity (meqv/ml) {A01}	<input type="radio"/> 0.00720
Local Capacity (meqv/ml) {LC}	<input checked="" type="radio"/> 0.29139

- ♦ длина **L1** в см (**Length**) - длина рабочей части колонки;
- ♦ внутренний диаметр **DM1** в см (**Inner Diameter**) - внутренний диаметр цилиндрической (рабочей) части колонки;
- ♦ порозность сорбента **E1 (Porosity)** - доля объема межзернового пространства упаковки. Определяется из независимого эксперимента по времени выхода пика неудерживаемого компонента. Примерные значения: для хорошо наполненной разделяющей колонки – 0.31 ÷ 0.34;
- ♦ структура сорбента по выбору **C-S (Type of structure)**: ЦПИ (**Central-Localized**)/ППИ (**Surface-Layer**). ЦПИ - центрально-привитый ионит. Структура зерна: ядро, обладающее ионообменной емкостью, окруженное проницаемой инертной оболочкой. ППИ - поверхностно-привитый ионит. Структура зерна: инертная гранула с тонким поверхностным ионообменным слоем;

- ◆ зернение **D1** в мкм (**Grain**) - средний диаметр зерен сорбента, если не известен по паспортным данным, то определяется под микроскопом. Диапазон изменения: 5 ÷ 45 мкм;
- ◆ дисперсия **DD (Grain Dispersion)** - разброс в зернении сорбента. Диапазон изменения: 0 ÷ 1. Для хороших фракций не превышает 0.25 ÷ 0.3;
- ◆ толщина сферического модифицированного слоя сорбента **LA** в мкм (**Layer Thickness**) - изменяется в интервалах: $(0.05 \div 0.45) \cdot D1$ (для ЦПИ), $(0.001 \div 0.05) \cdot D1$ (для ППИ);
- ◆ средняя емкость сорбента **AC1** в мэкв/мл (**Average Capacity**) - плотность функциональных групп, усредненная по объему слоя сорбента (мэкв/мл). Точное значение средней емкости определяется экспериментально по количеству вещества, поглощенному единицей объема колонки (независимое определение), или из решения обратной задачи. Типичные диапазоны изменения для разделяющих сорбентов (мэкв/мл): 0.0005 ÷ 0.005 - для хроматографии сильноудерживаемых веществ; 0.005 ÷ 0.05 - для хроматографии среднеудерживаемых веществ; 0.05 ÷ 0.5 - для хроматографии слабоудерживаемых веществ;
- ◆ локальная емкость сорбента разделяющей колонки **LC** в мэкв/мл (**Local Capacity**) - характеризует плотность функциональных групп в привитой (рабочей) части зерна сорбента. Изменяется в интервале (0.5 ÷ 1.0) мэкв/мл. Из структуры зерен сорбентов следуют следующие соотношения, связывающие не измеряемый прямыми способами параметр внутренней структуры (**LA**) с паспортными характеристиками сорбента (пользуясь нижеследующими соотношениями, программа автоматически вычисляет параметр, возле которого в меню стоит точка):

$$\text{Для ЦПИ —} \quad AC1 = LC \cdot \left(1 - 2 \cdot \frac{LA}{D1}\right)^3$$

$$\text{Для ППИ —} \quad AC1 = 6LC \cdot \frac{LA}{D1},$$

где **LA** – толщина модифицированного слоя зерна, мкм; **LC** – локальная емкость сорбента. Если параметр **LC** заранее не известен, то пользователь задает некоторое среднее значение, например, 0.6 мэкв/мл. В дальнейшем при работе с

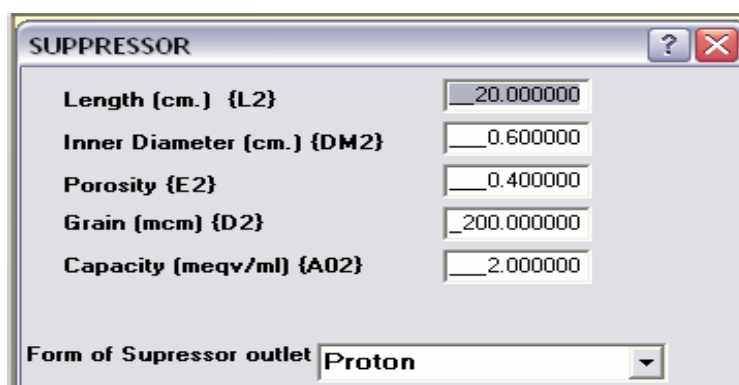
программой можно оценить степень влияния параметров структуры сорбента на правильность расчета и скорректировать их значения, добиваясь совпадения расчетной и экспериментальной хроматограмм при равенстве остальных параметров.

Один из трех параметров: толщина сферического модифицированного слоя сорбента, средняя емкость сорбента или локальная емкость сорбента разделяющей колонки, может быть отмечен точкой (по выбору), при этом два других параметра задаются, а выбранный рассчитывается автоматически.

Подавитель

Щелчком левой кнопки мыши по рисунку с названием SUPPRESSOR вызываем диалоговое окно.

Вводим соответствующие параметры подавительной колонки:



Parameter	Value
Length (cm.) {L2}	20.000000
Inner Diameter (cm.) {DM2}	0.600000
Porosity {E2}	0.400000
Grain (mcm) {D2}	200.000000
Capacity (meqv/ml) {A02}	2.000000

Form of Supressor outlet: Proton

- ◆ длина **L2** в см (**Length**) - длина рабочей части колонки;
- ◆ внутренний диаметр **DM2** в см (**Inner Diameter**) - внутренний диаметр цилиндрической (рабочей) части колонки;
- ◆ порозность сорбента **E2 (Porosity)** - доля объема межзернового пространства упаковки. Определяется из независимого эксперимента по времени выхода пика неудерживаемого компонента. Примерные значения для набухающего сорбента подавительной колонки – (0.35 ÷ 0.45);

- ◆ зернение сорбента **D2** в мкм (**Grain**) - средний диаметр зерен сорбента, если не известен по паспортным данным, то определяется под микроскопом. Диапазон изменения 50 ÷ 200 мкм;
- ◆ емкость сорбента **AC2** в мэкв/мл (**Capacity**) - плотность функциональных групп, усредненная по объему слоя сорбента (мэкв/мл). Точное значение средней емкости определяется экспериментально по количеству вещества, поглощенному единицей объема колонки. Диапазон изменения для подавительных сорбентов: 1 ÷ 2.5 мэкв/мл.

Внизу диалогового окна выбираем ионную форму сорбента подавительной колонки (**Form of Suppressor outlet**).

Анализируемая проба

Для ввода данных об анализируемом образце щелчком левой кнопки мыши по рисунку с названием **INJECTOR** вызываем диалоговое окно. Там отображаются все ионы в виде соответствующих кислот, заданные в таблице ионов.

	Concentration (mM)	Resolution
<input checked="" type="checkbox"/> HF	0.1	1
<input checked="" type="checkbox"/> HCl	0.7	1
<input checked="" type="checkbox"/> HNO2	0.2	1
<input checked="" type="checkbox"/> HBr	0.5	1
<input checked="" type="checkbox"/> HNO3	0.5	1
<input type="checkbox"/> HJ	0	0
<input type="checkbox"/> HCOOH	0	0
<input type="checkbox"/> CH3COOH	0	0
<input type="checkbox"/> HCNs	0	0
<input type="checkbox"/> HJO3	0	0
<input checked="" type="checkbox"/> H2SO4	1	1
<input type="checkbox"/> H2CO3	0	0
<input type="checkbox"/> H2SO3	0	0
<input type="checkbox"/> (COOH) 2	0	0
<input checked="" type="checkbox"/> H3PO4	0.5	1

- ❖ Вверху диалогового окна вносим значение объема вводимой пробы **WPR (Volume)** в мкл.
- ❖ Там же задаем измеренное значение **pH** анализируемой пробы.
- ❖ Выбираем анионы, присутствующие в исследуемой системе, и задаем значение концентраций. Для этого щелчком левой кнопки мыши выделяем строку с нужным анионом и в графе концентрация (**Concentration**)

указываем реальное содержание данного аниона в образце в ммоль/л. В графе разрешение (**Resolution**) задается критерий разделения ионов пробы **R** (по умолчанию равный 1), характеризующий степень перекрытия хроматографических пиков разделяемых компонентов. Последняя является функцией констант обмена, зарядов ионов, соотношения их концентраций в пробе, значений мольной электропроводности. Значение критерия **R**, соответствующее полному разделению близких по времени удерживания компонентов, выбирается в интервале от 1 до 1.5, значение **R** < 1 соответствует неполному разделению.

Элюент

Программа позволяет рассчитать два режима проведения анализа: изократический и градиентный. В первом случае состав элюента не меняется во время анализа и задается в диалоговом окне Eluent 1. Если элюент готовится путем смешивания двух растворов, тогда в окне Eluent 1 задается состав первого раствора, а в окне Eluent 2 – второго. Объемная доля раствора 2 в смеси указывается в диалоговом окне MIXER (см. ниже) и не меняется во время анализа.

Градиентный режим разделения подразумевает изменение состава элюента в ходе определения. Тогда в окне Eluent 1 вводится исходный состав элюента, а в окне Eluent 2 – состав раствора укрепляющего элюент. Для установления режима анализа необходимые параметры вводятся в окне MIXER, описание которого смотрите ниже.

The screenshot shows the 'ELUENT 1 (Anion Analysis)' dialog box. It contains the following fields and data:

- pH: 8.26018
- Sum of cations (meqv/l): 5.00000
- Concentration (mM): Edit
- Table of acids and their concentrations:

Acid	Concentration (mM)
<input type="checkbox"/> HF	0
<input type="checkbox"/> HCl	0
<input type="checkbox"/> HNO ₂	0
<input type="checkbox"/> HBr	0
<input type="checkbox"/> HNO ₃	0
<input type="checkbox"/> H ₂ J	0
<input type="checkbox"/> HCOOH	0
<input type="checkbox"/> СН ₃ COOH	0
<input type="checkbox"/> HCN	0
<input type="checkbox"/> H ₂ O ₃	0
<input type="checkbox"/> H ₂ SO ₄	0
<input checked="" type="checkbox"/> H ₂ CO ₃	5
<input type="checkbox"/> H ₂ SO ₃	0
<input type="checkbox"/> (COOH) ₂	0
<input type="checkbox"/> H ₃ PO ₄	0

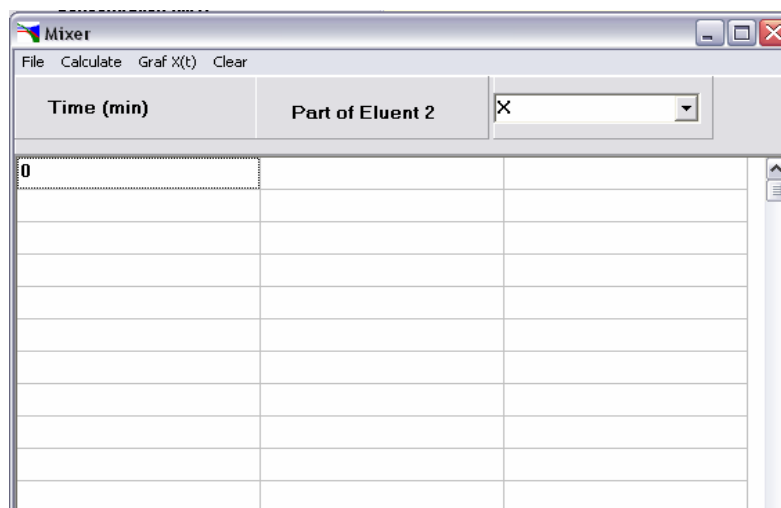
Cation (+) of Eluent: Sodium

Задание состава элюента: щелчком левой кнопки мыши по рисунку с названием ELUENT 1 вызываем диалоговое окно, в котором появляются все ранее заданные в таблицу ионы (см. выше). Щелчком левой кнопки мыши выделяем строку с веществом, выбранным в качестве элюента, и в графе (**Concentration**) задаем концентрацию этого вещества в ммоль/л. Если в состав элюента входят несколько веществ, то операция повторяется для каждого из компонентов. При этом внизу диалогового окна необходимо выбрать катион элюента (**Coion (+) of Eluent**). Вверху окна указываются два параметра: **pH** элюента и сумма катионов (**Sum of cations**) в мэкв/л, причем один из них задается, а второй, по выбору отмеченный черной точкой, автоматически рассчитывается.

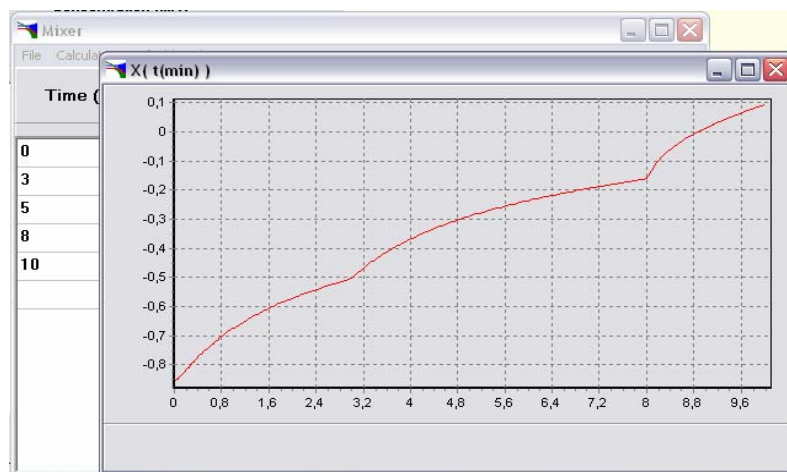
- ❖ Если ни одно из веществ не выбрано в качестве элюента, но при этом выбран катион и задана сумма катионов, то программа считает элюентом щелочь, концентрация которой равна сумме катионов.
- ❖ В состав элюента можно вводить проводящие добавки других веществ, указанных в таблице (их концентрация задается так, как описано выше). Содержание добавки должно быть небольшим (микроколичества), чтобы существенно не повысился уровень фоновой электропроводности после подавительной колонки, и, как следствие, не снизилась чувствительность метода.

Выбор режима элюирования

Щелчком левой кнопки мыши по рисунку с названием MIXER вызываем диалоговое окно. Нажимаем кнопку **Clear** на панели задач, при этом исчезают все данные. Остается пустая таблица зависимости доли элюента 2 (**Part of Eluent 2**) от времени (**Time**).



- ❖ Если в первой строке второго столбца задается (**Part of Eluent 2**) 0 и больше не вносится данных, то это соответствует изократическому режиму с использованием элюента 1.
- ❖ Если в первой строке второго столбца задается любое значение от нуля до единицы (например: 0.1) и больше ничего не добавляется, то получается изократический режим со смешанным элюентом, который будет содержать 0.9 объемных частей элюента 1 и 0.1 объемную часть элюента 2.
- ❖ При заполнении других строк обоих столбцов реализуется режим градиентного элюирования. В первом столбце (**Time**) задается время в минутах. Во втором столбце - объемная доля элюента 2, соответствующая этому времени. В третьем столбце - автоматически вычисляется один из выбранных параметров: (**X, Sum cations в мэкв/л, концентрация вещества элюента в ммоль/л**). Параметр X является безразмерной характеристикой силы элюента. Можно построить график зависимости силы элюента от времени, нажав кнопку **Graf X(t)** на панели задач. Наиболее выгодные градиентные режимы соответствуют нарастающей кривой, что выполняется, когда элюент 2 будет более сильным чем элюент 1, то есть $X_2 > X_1$.



Кнопка **Calculate** позволяет перевести графический образ градиентного режима в виде траектории на динамической карте хроматографической системы (ДКХС, см. ниже) в таблицу.

Таблица ионов

Components	Z	Const	pK dis	Lambda
H2CO3	1	0.300	6.350	30.000
	2	0.461	10.330	30.000

Физико-химические характеристики компонентов анализируемой смеси и элюента вводятся в таблицу ионов, которая открывается кликом на кнопку **Tab of ions** на панели задач.

Таблица ионов представляет собой пополняемую и редактируемую базу данных, содержащую по умолчанию 15 анионов в виде соответствующих кислот (расположены в левом столбце таблицы). Каждый компонент в таблице характеризуется несколькими параметрами:

- ◆ заряд одного или нескольких анионов **Z**, в зависимости от основности кислоты;
- ◆ константа ионного обмена **Const** - для каждого компонента пробы и элюента задаются значения констант ионного обмена на выбранный однозарядный

опорный ион (x^-), для которого значение константы обмена принимается равным единице, по умолчанию таким ионом является Cl^- . В расчете используется связь: $K_{1,2} = K_{1,x} / K_{2,x}$, где $K_{1,2}$ – константа ионного обмена иона (1) на ион (2). Константы обмена ионов пробы, отсутствующие в справочных таблицах, определяются экспериментально по времени удерживания при вводе в хроматограф стандартного раствора индивидуального компонента. Далее, используя программу решения обратных задач, подбирается численное значение константы обмена, при котором расчетное время удерживания для данного иона с требуемой точностью совпадает с экспериментальным (см. ниже);

- ◆ отрицательный логарифм константы диссоциации соответствующей кислоты **pK dis** - задаются табличными значениями;
- ◆ мольная электропроводность при бесконечном разбавлении **Lambda** в $см^2/Ом*моль$ - задаются табличные значения;
- ◆ основность соответствующей кислоты **Basicity** – автоматически указывается в правом верхнем углу таблицы.

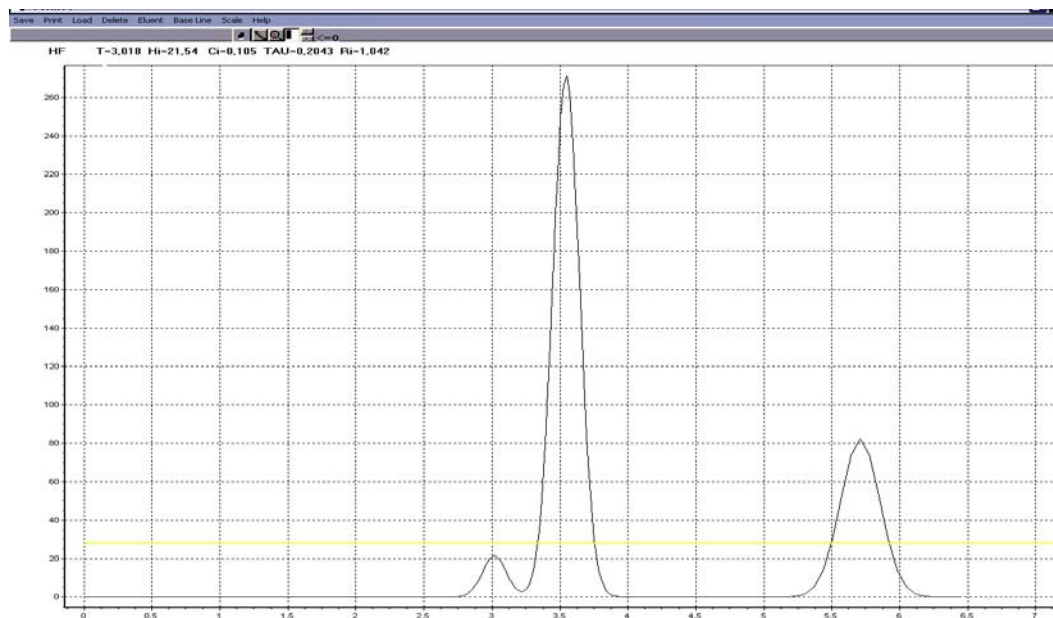
Для введения нового компонента необходимо в левом столбце таблицы выбрать двойным щелчком мыши кислоту нужной основности, затем в окошках справа заменить формулу выбранной кислоты на формулу нового вещества и ввести соответствующие ему характеристики, удалив старые значения. После этого нажатием кнопки ввод (**Enter**) новое вещество заносится в список слева. При редактировании значений параметров веществ, уже имеющих в таблице, последовательность действий аналогична.

Графические результаты решения прямой задачи

Работа с теоретической хроматограммой

При щелчке левой кнопки мыши по рисунку с названием COMPUTATION появляется вспомогательное окно, где выбирается вид графического представления результатов: теоретическая хроматограмма в привычном виде (**Chromatogram**) или динамическая карта хроматографической системы (**Dynamic Map**).

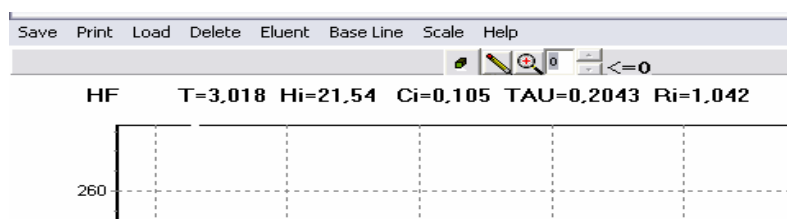
При выборе **Chromatogram** открывается диалоговое окно (**Chromatogram**), где появляется теоретическая хроматограмма, которая представляет собой зависимость величины сигнала кондуктометра в mV (ось ординат) от времени в мин (ось абсцисс).



Желтая линия на графике отражает изменение объемной доли элюента 2 от времени с точкой отсчета, смещенной вправо на величину «мертвого» времени. При изократическом режиме – это горизонтальная прямая, а при градиентном – ломаная.

Для изменения масштаба изображения, нужно удерживая правую кнопку мыши отметить на рисунке границы отображения с помощью появляющейся рамки, двигая мышью слева на право. Для восстановления прежнего масштаба, удерживая правую кнопку, нужно переместить мышью справа налево.

При клике правой кнопкой мыши на изображение хроматографического пика в верхней части диалогового окна появляется информация, характеризующая данный пик: название компонента, время удерживания **T** (мин), высота хроматографического пика **H_i** (mV), концентрация в пробе **C_i** (ммоль/л), полуширина пика **TAU** (мин), критерий разделения **R_i**, например:



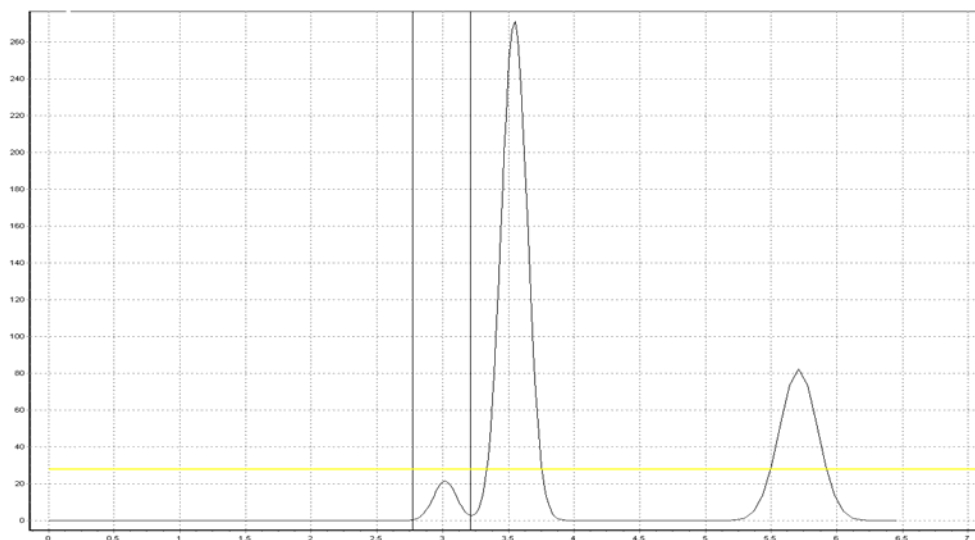
- ◆ кнопка **Print** позволяет распечатать по выбору графическое изображение хроматограмм с экрана (Picture) или текстовое описание условий проведения разделения (Text);
- ◆ кнопка **Save** позволяет сохранить полученные данные в виде: текстового файла (as *.txt), теоретическую (Black as *.dat (min)) или экспериментальную (Red as *.dat (min)) хроматограммы в формате .dat либо в виде рисунка в формате .bmp (as *.bmp).

Режим многомерной хроматографии

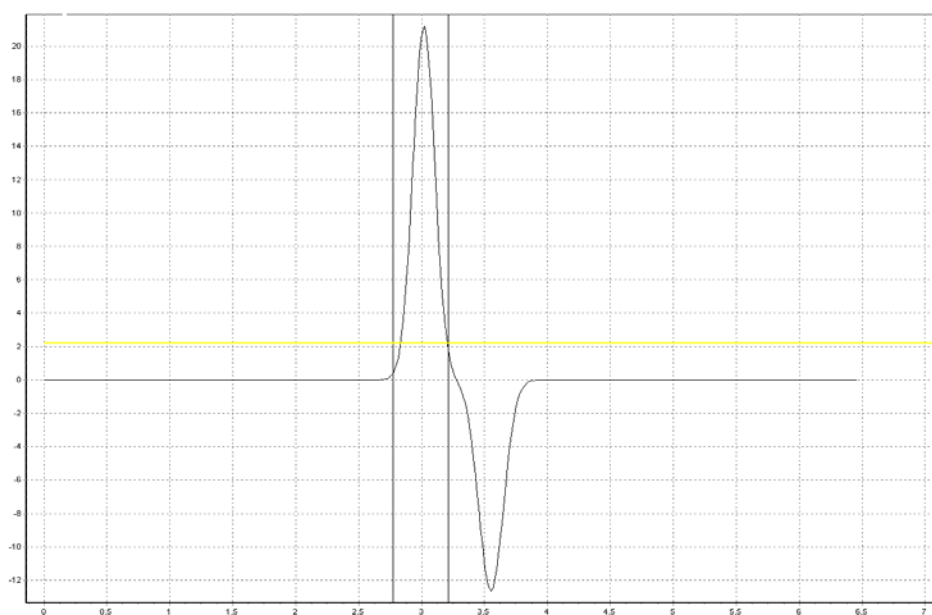
Программа может реализовать режим многомерной хроматографии, когда часть анализируемой пробы (на графике - фрагмент хроматограммы с одним или несколькими пиками) можно подвергнуть повторному разделению на той же хроматографической системе. Это позволяет провести более четкое разделение и идентификацию изначально неразделенных компонентов.



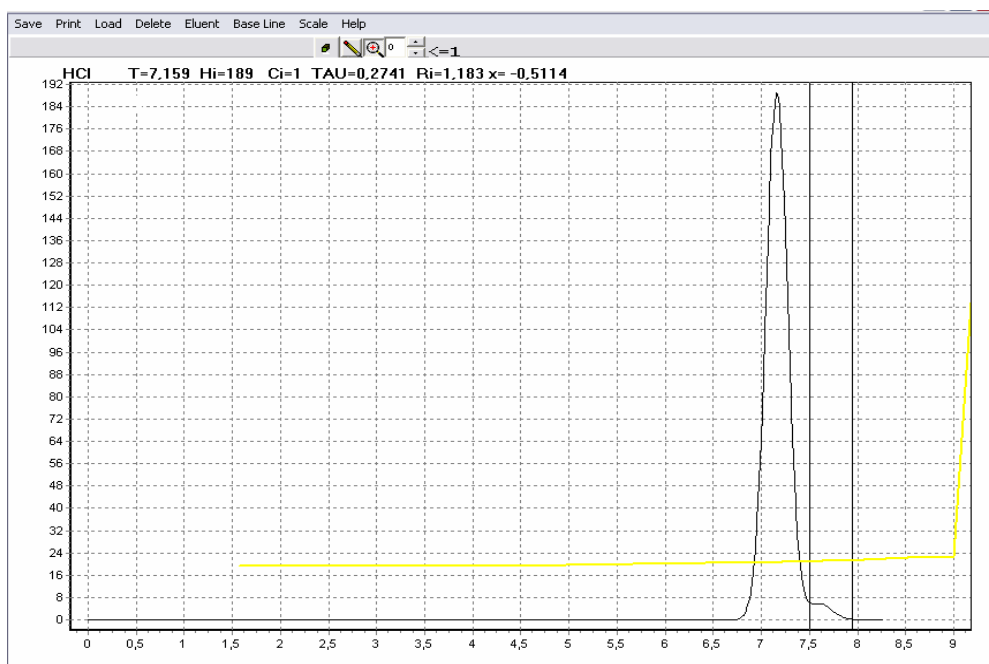
Для выбора фрагмента хроматограммы нажимается кнопка 2 на вспомогательной панели (см. рис.), затем последовательно щелчками правой кнопки мыши по полю хроматограммы выделяются границы фрагмента черными вертикальными прямыми.



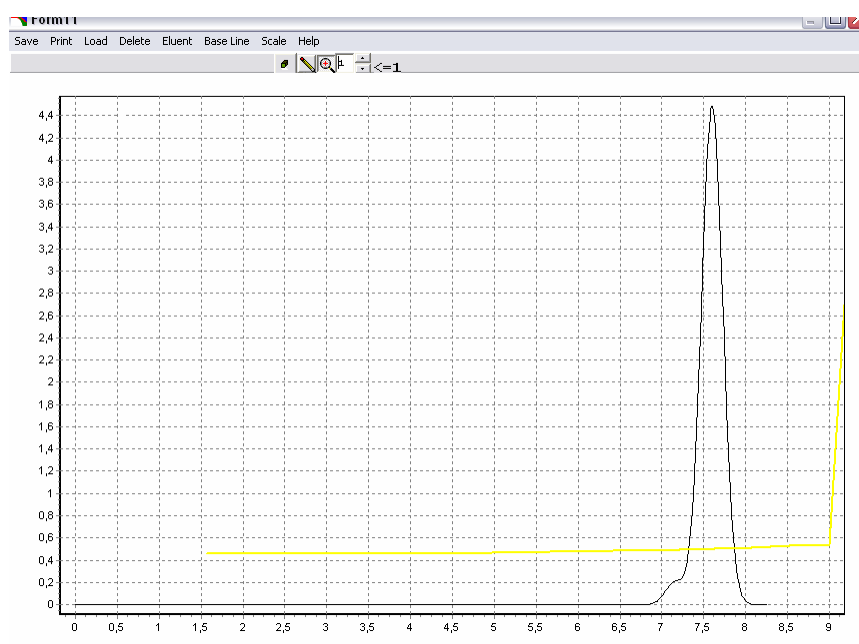
Далее нажатием кнопки 3 запускается расчет повторного разделения выбранного фрагмента и автоматически появляется соответствующая хроматограмма:



- ❖ Эта процедура позволяет разделить близкие по времени удерживания компоненты если концентрация одного из них существенно больше концентрации другого. При выделении фрагмента хроматограммы можно существенно снизить концентрацию макрокомпонента, срезав его пик на хроматограмме одной из граничных вертикалей.



Ниже представлена хроматограмма, соответствующая проведенной операции.



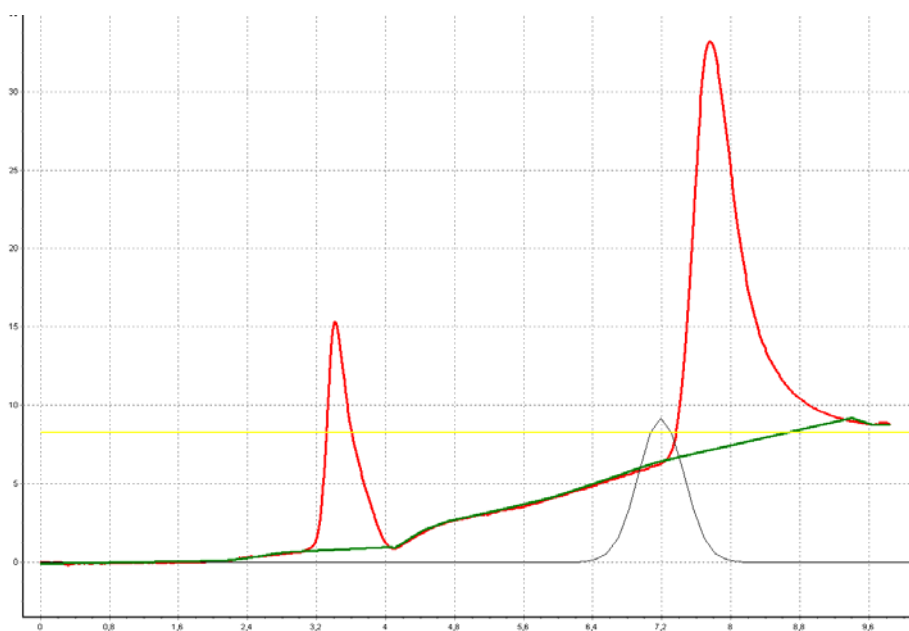
- ❖ Повторное разделение фрагмента образца можно провести на другой хроматографической системе. Для этого, выполнив всю последовательность действий, описанную выше (разделение на той же системе), сворачиваем окно Chromatogram и задаем новые параметры системы. Затем, вернувшись в окно Chromatogram, кликаем мышкой по полю хроматограммы, при этом происходит замена рисунка на новую хроматограмму.

В окне 4 появляется цифра, отвечающая порядковому номеру данной процедуры. Стрелки 5 позволяют просматривать хроматограммы: как исходную, так и полученные после повторного разделения. Справа на вспомогательной панели автоматически указывается количество проведенных повторных разделений. С помощью кнопки 1 убираются границы фрагмента.

Работа с экспериментальными данными

На панели задач окна Chromatogram представлены следующие кнопки:

- ◆ кнопка **Load** позволяет добавить к теоретической хроматограмме экспериментальный файл в формате .dat (время хроматографирования может выражаться в мин. или сек.). Экспериментальная хроматограмма изображается красной линией;
- ◆ кнопка **Delete** позволяет убрать изображение одной из хроматограмм по выбору;
- ◆ кнопка **Scale** автоматически устанавливает удобный для просмотра масштаб изображения одной из выбранных хроматограмм (Black curve, Red curve) или одновременно обеих (Maximum Scale);
- ◆ кнопка **Base Line** позволяет выровнять уровень базовой линии экспериментальной хроматограммы. При нажатии кнопки на поле хроматограммы появляется зеленая линия. Начиная с нулевого момента времени с помощью курсора щелчком левой кнопки мыши отмечаем точки кривой через которые должна проходить базовая линия, при этом зеленая линия становится ломаной, отрезки которой соединят выбранные точки.

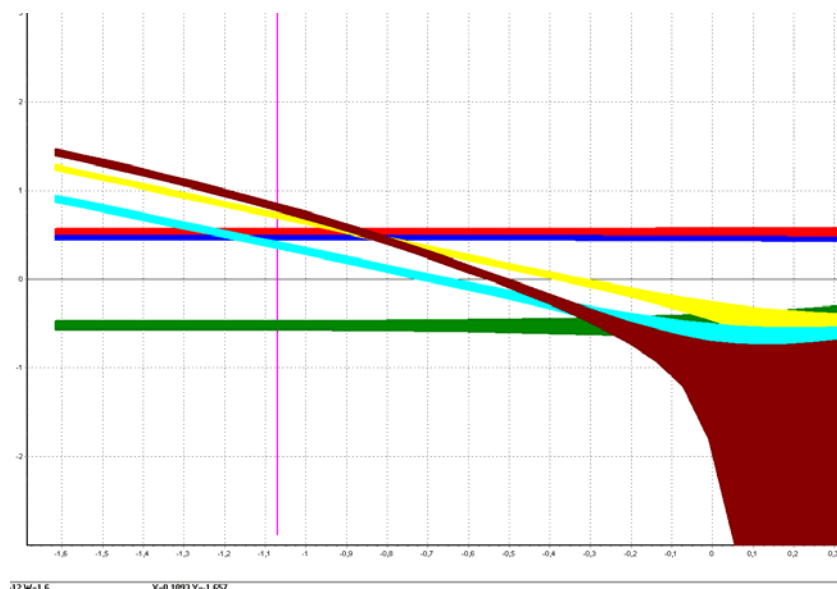


Нажимаем кнопку **Enter**, после чего происходит выравнивание базовой линии.



Работа с динамической картой хроматографической системы

При выборе **Dynamic Map** в вспомогательном окне, появляющегося при клике левой кнопкой мыши по рисунку с названием COMPUTATION открываются диалоговые окна: Dynamic map of system и Chromatogram. В окне Dynamic map of system представлена динамическая карта заданной хроматографической системы, виде перекрывающихся цветных полос.



Ось ординат на диаграмме соответствует десятичному логарифму отношения исправленных времен удерживания выбранного иона и опорного иона (по умолчанию Cl^-). Ось абсцисс представляет собой логарифм силы элюента X .

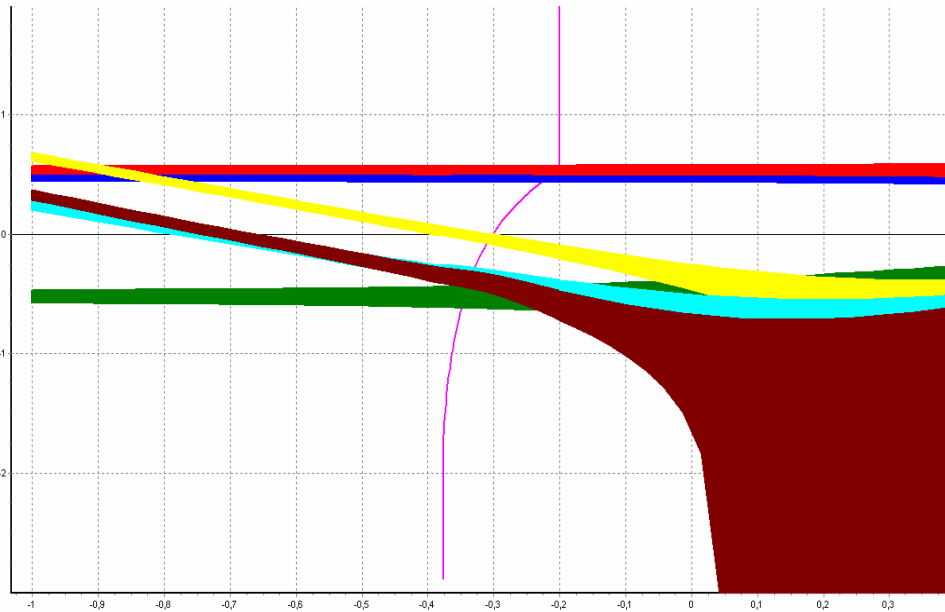
Сила элюента характеризует элюирующую способность последнего и является функцией только параметров элюента (концентраций компонентов, констант обмена ионов элюента на опорный ион, констант диссоциации соответствующих кислот или оснований, зарядов ионов). Удерживание разделяемых ионов снижается с ростом силы элюента. Сила элюента варьируется путем изменения суммарной концентрации компонентов элюента с сохранением первоначально заданных пропорций между ними.

Каждому из ионов разделяемой смеси соответствует определенная полоса на диаграмме, средняя линия которой определяется равновесными свойствами системы “ион-сорбент” (константы обмена ионов и константы диссоциации соответствующих им кислот или оснований, заряды ионов, обменная емкость сорбента).

Ширина полосы зависит от кинетических свойств иона и заданной величины степени разделения. Если кликнуть на полосу определенного цвета, в верхней части диаграммы появляется название соответствующего компонента.

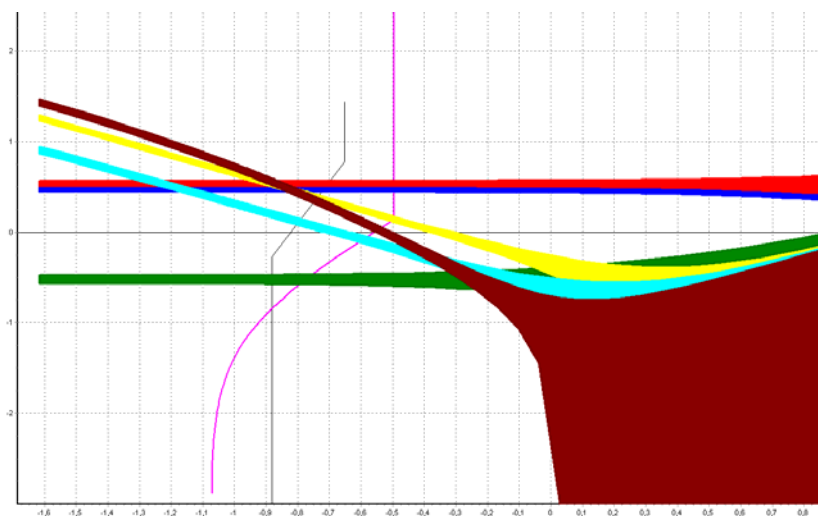
Отрезки на оси абсцисс, для которых ни одна пара полос не пересекается, соответствуют элюентам, при использовании которых достигается степень разделения ионов не хуже заданной. Порядок выхода компонентов анализируемого образца соответствует очередности расположения цветных полос снизу вверх в сечении $X = \text{const}$. В областях пересечения полос требуемое качество разделения ионов не достигается.

Розовая линия на диаграмме отражает так называемую траекторию эксперимента. В случае изократического режима с использованием одного элюента, состав которого задается в окне Eluent1 и не меняется, траектория представляет собой прямую вертикальную линию (см. рис. выше). Если же элюент готовится как смесь двух растворов (состав первого задается в окне Eluent1, состав второго в окне Eluent2), и реализуется градиентный режим разделения, то траектория имеет более сложную форму, как представлено на рисунке:



Область проведения градиентного эксперимента ограничена составами заданных элюентов. На графике это левый и правый вертикальные отрезки линии траектории.

Траектория эксперимента может быть изменена в ручную, в пределах существующих границ. Для этого в поле диаграммы двойным щелчком правой кнопки мыши отмечаем точки, через которые черной линией сразу проводится новая траектория.



Для построения хроматограммы отвечающей новой траектории закрываем активное окно Dynamic map of system, щелчком мыши открываем диалоговое окно MIXER и на панели задач нажимаем кнопку **Calculate** при этом автоматически пересчитывается зависимость доли второго элюента от времени. Затем снова вызываем окно Chromatogram с изображением новой хроматограммы.

При движении курсора по полю динамической карты внизу диаграммы автоматически указываются координаты каждой точки положения курсора (X, Y). Для изменения масштаба изображения, нужно удерживая правую кнопку мыши отметить на рисунке границы отображения с помощью появляющейся рамки, двигая мышь слева на право. Для восстановления прежнего масштаба, удерживая правую кнопку, нужно переместить мышь справа налево.

На панели задач окна Dynamic map of system представлены следующие кнопки:

- ◆ кнопка **Save as *.bmp** позволяет сохранить диаграмму в виде рисунка в формате bmp;
- ◆ кнопка **Widen**. При каждом нажатии на эту кнопку хроматографическая карта динамической системы достраивается в соответствии с увеличением значений оси абсцисс с заданным шагом (3 единицы);
- ◆ кнопка **Repaint**. При каждом нажатии этой кнопки осуществляется действие обратное описанному выше;
- ◆ кнопка **Clear**. При нажатии на эту кнопку с поля диаграммы убирается построенная вручную черная линия траектории эксперимента.

2. Решение задачи оптимизации

Задача оптимизации – выбор параметров хроматографической системы обеспечивающих достижение заданного разделения пиков пробы за минимальное время анализа. Степень требуемого разделения задается для каждого компонента пробы в окне Sample (при вызове элемента схемы INJECTOR), в правом столбце таблицы. Оптимизация осуществляется путем перебора с заданным шагом варьируемых параметров от минимального их значения до максимального, расчета времени выхода пиков и оценки степени их разделения в соответствии с заданными критериями R_i .

При щелчке левой кнопки мыши по рисунку с названием COMPUTATION появляется вспомогательное окно, где выбирается строка **Optimization**. После этого появляется диалоговое окно, в котором задаются начальные параметры оптимизации: **pH**, суммарная концентрация компонентов элюента **C(el)**, параметры разделяющей (длина **L1**, внутренний диаметр **DM1**, зернение сорбента **D1**, средняя емкость **AC1**) и подавительной колонки (длина **L2**, диаметр **DM2**, зернение сорбента **D2**), скорость подачи элюента **W**.

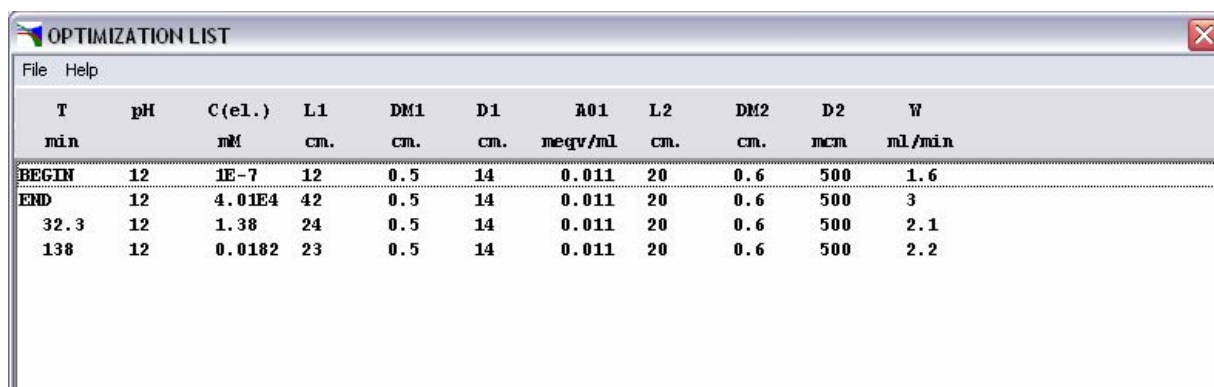
Каждый оптимизируемый параметр, кроме **C(el)**, задается в виде трех величин: начального значения (**BEGIN VALUE**), шага поиска (**STEP**) и конечного значения (**END VALUE**). Если конечное значение меньше или равно начальному, то данный параметр в оптимизации не участвует. Начальные значения всех параметров кроме **C(el)** совпадают с текущими. Начальное и конечное значение суммарной концентрации компонентов элюента – **C(el)** – соответствуют граничным значениям силы элюента при расчете хроматографической карты системы. Шаг при поиске оптимального **C(el)** выбирается автоматически в соответствии с заданной точностью поиска **Ex** (%). Если параметры **D1** и **AC1** участвуют в оптимизационном процессе, то следует выбрать одну из двух строк в левом углу окна: либо **LA/D1=const** - означающее, что в процессе изменения диаметра зерен **D1** пропорционально будет меняться и внешний слой; либо

LC=const - означающее, что в процессе изменения средней емкости зерен **AC1** - локальная емкость сорбирующей части зерна остается постоянной. Следует также отметить щелчком мыши один из возможных режимов учёта пиков хроматограммы в верхнем левом углу диалогового окна: **All peaks** - с учётом пиков, возникающих от разбавления элюента веществом пробы, или **Sample peaks only** - без учёта компонент элюента.

Запуск процесса оптимизации осуществляется кнопкой **OPTIMIZATION** вверху диалогового окна. Программа ищет оптимальные (по времени анализа) условия хроматографического процесса для каждой из возможных последовательностей выхода компонентов пробы. Текущее количество найденных вариантов указывается в правом верхнем углу окна (**Number of optimized versions**). Ход процесса отображается подвижными линейками в правой части окна. При желании процесс оптимизации можно прервать досрочно нажатием клавиш **Ctrl и C** (или двойным щелчком мыши по этой надписи), уже найденные варианты при этом не теряются.

Не рекомендуется проводить оптимизацию сразу по всем возможным параметрам хроматографической системы, так как это может занять очень много машинного времени. Разумнее разделить процесс оптимизации на этапы, например, сначала оптимизировать параметры, относящиеся к разделительной колонке, затем - к подавительной. Для исключения параметра из процесса оптимизации достаточно задать максимальное его значение меньшим или равным минимальному. Параметр **C(e1)** - исключать не рекомендуется.

Если оптимальные варианты найдены, то программа автоматически переходит в режим просмотра результатов оптимизации, выводя на экран окно OPTIMIZATION LIST.



T	pH	C(e1.)	L1	DM1	D1	A01	L2	DM2	D2	W
min		mM	cm.	cm.	cm.	mcgv/ml	cm.	cm.	mcsm	ml/min
BEGIN	12	1E-7	12	0.5	14	0.011	20	0.6	500	1.6
END	12	4.01E4	42	0.5	14	0.011	20	0.6	500	3
32.3	12	1.38	24	0.5	14	0.011	20	0.6	500	2.1
138	12	0.0182	23	0.5	14	0.011	20	0.6	500	2.2

Если оптимальные варианты не найдены, то таблица - пуста, и единственное, что работает в пустом окне - это команда **Load** из меню **File**.

Если в процессе оптимизации найдены оптимальные варианты, то в первых двух строках таблицы в окне OPTIMIZATION LIST будут выведены начальные и конечные значения всех варьируемых параметров и только начиная с третьей строки - оптимальные варианты. Оптимальные варианты разделения отличаются друг от друга последовательностью выхода компонентов пробы. В левом столбце таблицы распечатаны найденные оптимальные времена хроматографического процесса **T min**. Двойным щелчком мыши каждую из строк таблицы можно сделать текущей и посмотреть хроматографическую карту системы и теоретическую хроматограмму.

При нажатии кнопки **File** на панели задач, можно выбрать одну из трех команд:

- ◆ Команда **Save** позволяет записать таблицу в файл с расширением ***.opt** , одновременно под тем же именем, но с расширениями ***.dan** и ***.tab** записываются данные о хроматографе и таблица реактивов. Эти файлы не рекомендуется менять, если файл с расширением ***.opt** предполагается использовать в дальнейшем с помощью команды **Load** данного окна.
- ◆ Команда **Load** позволяет загрузить вариант оптимизационного листа, запомненный ранее командой **Save** данного окна.
- ◆ Команда **Print** позволяет распечатать текущую таблицу на принтере.

Если величина **Number of optimized versions** больше нуля, то при вызове окна OPTIMIZATION LIST эти варианты можно увидеть и исследовать средствами данной программы. Если величина **Number of optimized versions** равна нулю, то вызов окна OPTIMIZATION LIST имеет смысл только для ввода информации, записанной ранее в файлах с расширением ***.opt** .

Хроматограмма для оптимального режима выводится кликом левой кнопкой мыши по соответствующей строке в окне OPTIMIZATION LIST. При этом раскрывается окно Chromatogram.

Параметры режима, соответствующие теоретической хроматограмме

- ◆ кнопка **Eluent** в окне Chromatogram открывает окно Eluent Composition.

Eluent composition

pH = 10.63834 Working period of Suppressor (hr)= 11.747 pHp= 4.3075

CONCENTRATION (mM) OF THE ELUENT COMPONENTS, f0= 1

	SUM	0-FORM	1-FORM	2-FORM	3-FORM
H2CO3	5.5	5.7564E-5	1.3647	4.1352	
SUM =	5.5	5.7564E-5	1.3647	4.1352	
OH-ion =			0.43485		
Sum of cations (meqv/l) =			10.07		

В таблице описаны все характеристики элюента. Вверху окна указаны: исходный рН элюента, время работы подавительной колонки до регенерации, рН элюента на выходе из подавительной колонки. В следующей строке приведены концентрации компонентов элюента (ммоль/л). В первом столбце (Sum) - суммарная концентрация всех форм, в последующих столбцах – недиссоциированной (0-FORM), однозарядной (1-FORM), двухзарядной и трехзарядной форм. В последней строке суммируются концентрации всех форм по вертикали, если заданы два элюента. Внизу таблицы указывается концентрация гидроксил – иона (OH⁻-ion) и сумма катионов (Sum of cations, meqv/l);

- ◆ кнопка **Print** позволяет распечатать по выбору графическое изображение хроматограмм с экрана (Picture) или текстовое описание условий проведения разделения (Text);
- ◆ кнопка **Save** позволяет сохранить полученные данные в виде: текстового файла (as *.txt), теоретическую (Black as *.dat (min)) или экспериментальную (Red as *.dat (min)) хроматограммы в формате dat либо в виде рисунка в формате bmp (as *.bmp).

3. Решение обратной задачи

Обратные задачи рассматриваются двух типов: **A** и **II**.

Тип **A** (аналитическая задача):

- определение качественного и количественного состава неизвестной пробы путем варьирования задаваемых для расчета параметров состава пробы и сопоставления рассчитанных и экспериментальных результатов.

Тип **И** (исследовательская задача):

- определение неизвестных (скрытых) физико-химических параметров хроматографической системы и ионов по экспериментальным хроматограммам известных смесей.

Программа решения обратных задач имеет следующие опции:

1. преобразование экспериментальных хроматограмм (сглаживание кривой, спрямление базовой линии) и определение положения и параметров пиков (высота пика, площадь пика, время удерживания);
2. расчет хроматографических пиков всевозможных известных программе ионов в заданной концентрации для заданных условий эксперимента;
3. определение типа и концентрации компонента, соответствующего пику на экспериментальной хроматограмме, при условии существования в том же месте пика на теоретической хроматограмме.

Аналитическая задача

Пусть все параметры хроматографической системы известны и заданы в программе. Необходимо произвести качественный и количественный анализ неизвестной пробы по экспериментальной хроматограмме.

Таблица ионов программы содержит некоторый набор заданных анионов. Моделируем хроматографическое разделение пробы, содержащей весь набор таблицы ионов, в условиях соответствующих экспериментальной хроматограмме. Для этого в диалоговом окне Sample задаем примерные концентрации каждого компонента и получаем теоретическую хроматограмму в окне Chromatogram. Затем кнопкой **Load** в это окно загружается экспериментальная хроматограмма. По совпадению времен удерживания пиков проводится качественная идентификация компонентов и одновременно рассчитывается их концентрация. Если на экспериментальной хроматограмме имеются неразделенные пики, идентификация которых неоднозначна, тогда проводится расчет оптимального режима разделения предполагаемых компонентов (запускается программа **Optimization**). В результате расчета программа выдает несколько вариантов режимов оптимального разделения. Выбрав один из них

получаем новую теоретическую хроматограмму. В данных оптимальных условиях разделения проводим новый эксперимент и снова осуществляем идентификацию компонентов, как описано выше.

Исследовательская задача

Отметим, что специальными экспериментами была доказана адекватность применяемой модели в широких диапазонах изменения параметров, характерных для ионохроматографических систем, поэтому при правильной работе в рамках исследовательской обратной задачи настройка скрытых параметров системы производится однократно (впоследствии возможна небольшая корректировка под выбранную область режимов).

Рассмотрим эту задачу на нескольких примерах.

1. Определение константы обмена нового компонента, вводимого в таблицу ионов.

Прежде всего необходимо определить значение средней обменной емкости **AC1** разделяющей колонки, как наиболее значимого параметра модели при решении данной задачи. Для этого в окне Chromatogram сопоставляются теоретическая и экспериментальная хроматограммы хлорид – иона (базового иона для которого константа обмена принимается равной единице). Не закрывая окно Chromatogram, вызываем диалоговое окно SEPARATOR и в графе **Average Capacity** меняем значение средней обменной емкости, затем кликаем мышкой на значение локальной емкости для пересчета ее значения. После этого активизируем курсором поле хроматограммы, при этом теоретическая хроматограмма перестраивается в соответствии с новым значением емкости. Данная процедура проводится до полного совпадения времен удерживания хлорид – иона на обеих хроматограммах. Найденное значение емкости разделяющей колонки используем для дальнейших расчетов.

Далее в таблицу ионов вводится формула нового компонента, его табличные физико-химические характеристики и примерное значение константы обмена. Затем в окне Chromatogram сопоставляются теоретическая и экспериментальная хроматограммы этого компонента. Не закрывая окно Chromatogram, вызываем диалоговое окно Tab of ions и в графе **Const** варьируем значение константы обмена до полного совпадения времен удерживания компонента на обеих хроматограммах. При

введении каждого нового значения константы обмена в таблицу необходимо его зафиксировать нажатием кнопки **Enter**.

Если в таблицу ионов вводится многозарядный компонент то хроматографический эксперимент проводится при значениях рН элюента отвечающих существованию единственной формы компонента. Константа обмена этой формы однозначно определяется так как описано выше. Если невозможно провести эксперимент в условиях существования только второй формы компонента (обе существуют в равновесии в растворе), то в таблицу ионов вводится точное значение константы первой формы из предыдущего эксперимента, а значение второй константы подбирается, как описано выше (до полного совпадения времен удерживания компонента на обеих хроматограммах).

2. Определение коэффициента чувствительности Vh

Получаем экспериментальную хроматограмму разделения нескольких компонентов. Рассчитываем теоретическую хроматограмму в условиях эксперимента. Обе хроматограммы совмещаем в окне Chromatogram. Не закрывая окно Chromatogram, вызываем диалоговое окно DETECTOR AND CAPILLARY и в графе **Sensitivity Factor** варьируем значение коэффициента чувствительности, добиваясь совпадения высот теоретических и экспериментальных пиков.