

one szybko przechodzić przez detektor, aby nie powodować poszerzania się pików). W związku z tym detektory w HPLC powinny mieć stałą czasową mniejszą niż 0,3 s. Parametr ten jest szczególnie istotny w ultraszybkiej wysokosprawnej chromatografii cieczowej, w której istnieje możliwość rozdzielania mieszanin zawierających kilkadziesiąt związków w czasie krótszym od 1 minuty.

W przypadku pracy z detektorami selektywnymi i specyficznymi uwzględnia się ich selektywność. Współczynnik selektywności wyraża się stosunkiem sygnału pochodzącego od heteroatomu do sygnału pochodzącego od węgla.

W trakcie analizy detektor musi mieć określoną stałą temperaturę, zatem należy go termostatować. Zmiany temperatury mogą prowadzić do dryftu linii zerowej. Do znacznych jej fluktuacji mogą przyczynić się również zmiany składu fazy ruchomej (co stanowi duży problem w przypadku elucji gradientowej). Przy zmianach ciśnienia i prędkości przepływu fazy ruchomej mogą pojawiać się szумы linii zerowej.

Rolę detektora chromatograficznego może pełnić także urządzenie, które samo w sobie jest przyrządem analitycznym (np. spektrometr). Detektory w postaci spektrometrów, ze względu na specyfikę ich połączeń z chromatografami, opisano oddzielnie (rozdz. 2.14).

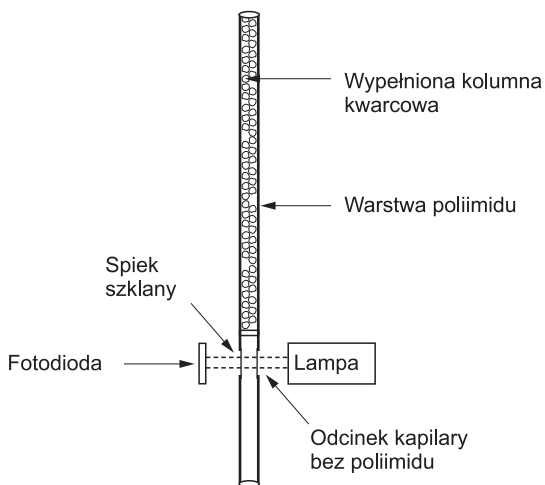
2.9.3.

Charakterystyka detektorów używanych w kolumnowej chromatografii cieczowej

Jak dotychczas chromatografia cieczowa nie doczekała się detektora tak uniwersalnego i wygodnego w użyciu, jak cieplno-przewodnościowy czy płomieniowo-jonizacyjny w chromatografii gazowej. W większości przypadków w kolumnowej chromatografii cieczowej o wyborze detektora decyduje skład zastosowanego eluentu i właściwości substancji rozdzielanych. Rodzaj eluentu ma w wielu przypadkach decydujące znaczenie w procesie detekcji, warunkuje bowiem możliwość wykrywania analitów oraz wartość wykrywalności. Użytkując na przykład detektor absorpcji nadfioletu, należy zwracać uwagę na graniczną długość fali UV pochłanianej przez rozpuszczalnik stosowany jako eluent (tab. 2.2).

Najczęściej wykorzystywanymi w kolumnowej chromatografii cieczowej detektorami są: spektrofotometryczny UV-VIS, fluorescencyjny, spektrometr mas, rzadziej elektrochemiczny i światła rozproszonego. Niezależnie od rodzaju detektora i właściwości wykrywanej przez niego substancji opuszczającej kolumnę po rozdzieleniu mieszaniny, w której skład wchodziła, substancja ta, rozpuszczona w fazie ruchomej, przepływa przez komórkę pomiarową. Pojemność takiej komórki jest bardzo mała, aby uniknąć niepożądanego rozmycia (poszerzenia) pasma chromatograficznego (a w konsekwencji także pików), i wynosi 0,01–10 μl , odpowiednio do warunków współpracy z różnymi rodzajami kolumn chromatograficznych. Do wykrywania bardzo małych ilości analitów stosuje się mikrodetektory (np. spektrometry optyczne), w których komórki przepływowe są pustą częścią kolumny

kapilarnej (ryc. 2.52). W mikrochromatografii cieczowej przydatne są detektory elektrochemiczne. Są one selektywne, działają dobrze w postaci zminiaturyzowanej i pozwalają uzyskiwać dobrą (nawet na poziomie femtomoli) wykrywalność niektórych związków chemicznych.



RYC. 2.52. Bezpośrednia detekcja w kwarcowej kolumnie kapilarnej

Ze względu na to, że niektóre związki chemiczne mogą pozostać niewykrywane przez ogólnie dostępne detektory, przeprowadza się je w możliwe do wykrycia pochodne, zwykle w reaktorze umieszczonym między kolumną a detektorem. Do reaktora, za pomocą pompy, podaje się odczynnik, który reagując z chromatografowaną substancją, tworzy jej pochodną mającą zdolność, na przykład, fluorescencji lub sorbowania światła nadfioletowego.

Otrzymywanie pochodnych przed wprowadzeniem chromatografowanych substancji do kolumny ma niewielkie znaczenie praktyczne. Należy bowiem uwzględnić, że niektóre składniki mieszaniny mogą nie tworzyć pochodnych, a chromatografowaniu będzie podlegała próbka różniąca się od pierwotnej.

Nie wszystkie z opisanych tutaj detektorów wchodzi w skład standardowego wyposażenia powszechnie dostępnych w handlu chromatografów cieczowych. Niektóre z nich są dostarczane na zamówienie lub montowane w przyrządach przeznaczonych do specjalnych celów.

Nazwy detektorów są często oznaczane, również w języku polskim, akronimami ich pełnych nazw angielskich.