

# Adszorpciós izotermák és adszorpciós energia-eloszlások meghatározása folyadékkromatográfiában

VAJDA Péter és FELINGER Attila\*

Pécsi Tudományegyetem, Analitikai és Környezeti Kémia Tanszék, 7624 Pécs, Ifjúság útja 6.

## Bevezetés

Folyadékkromatográfiában a mozgófázis és az állófázis határfelületén lejátszódó folyamatok jellemzéséhez alapvető fontosságú a nemlineáris egyensúlyi izotermák ismerete. Az egyes vegyületek retenciós mechanizmusa sokkal megbízhatóbban tanulmányozható a nemlineáris kromatográfia módszereivel, mint az analitikai kémiában szokásos nagyhígítású minták retenciós adatai alapján. Adszorpciós izoterma meghatározására a frontális elemzést James és Philips<sup>1</sup>, illetve Schay és Székely<sup>2</sup> használta először egymástól függetlenül. A frontális elemzés alapja az, hogy a vizsgált anyagot meghatározott koncentrációban áramoltatjuk át az oszlopon és meghatározzuk az áttörési térfogatot.

Kísérleteink során frontális elemzéssel meghatároztuk a fenol adszorpciós izotermáját  $C_{30}$ -as fordított fázisú folyadékkromatográfias állófázison, illetve megkerestük a legjobb illeszkedő izoterma modellt. Annak eldöntésére, hogy milyen jellegű a megkötődés heterogenitása, kiszámítottuk az adott kísérleti rendszerre jellemző affinitási energia-eloszlását (AED, affinity energy distribution). Ezt egy numerikus módszerrel, a várhatóérték-maximalizálással (EM, expectation maximization) határoztuk meg, amelyet egyre kiterjedtebben alkalmaznak heterogén adszorpciós felületek jellemzésére.

## 2. Elmélet

### 2.1 Adszorpciós izotermák

Az adszorpciós izotermák kapcsolatot teremtenek a vizsgált anyag(ok) egyensúlyi koncentrációja között a kromatográfias rendszer mozgó- ( $C$ ) és állófázisában ( $q$ ), állandó hőmérsékleten és nyomáson. Fontos ismerni az elválasztott anyagokra jellemző egyensúlyi izotermát, mivel nagy koncentrációknál az izoterma határozza meg a kromatográfias csúcsok jellemzőit. A Langmuir-egyenlet a legegyszerűbb modell, amelyet az adszorpciós izoterma adatok tanulmányozására használunk. Az egyenlet a következő<sup>4</sup>:

$$q = \frac{q_s b C}{1 + b C} \quad (1)$$

ahol  $q_s$  az állófázis egyrétegű telítési kapacitása és  $b$  a vizsgált anyagra jellemző adszorpciós egyensúlyi állandó.

A Langmuir-modell azt feltételezi, hogy a felületen azonos adszorpciós energiával kötődik meg valamennyi molekula, vagyis az állófázis homogén. Az adszorpciós energia a  $b$  egyensúlyi állandótól függ.

A kromatográfiában alkalmazott állófázisok felülete azonban legtöbbször nem homogén. A bi-Langmuir-egyenlet a

legegyszerűbb modell, amely segítségével leírhatunk egy olyan heterogén adszorpciós felszínt, amely két különböző energiájú, független kötőhelyet tartalmaz. Az egyenlet a következő<sup>5</sup>:

$$q = \frac{q_{s1} b_1 C}{1 + b_1 C} + \frac{q_{s2} b_2 C}{1 + b_2 C} \quad (2)$$

ahol  $q_{s1}$  és  $q_{s2}$  az első és a második típusú adszorpciós góc telítési kapacitása,  $b_1$  és  $b_2$  a két különböző adszorpciós góc adszorpciós egyensúlyi állandója a vizsgált anyagra.

A bi-Langmuir-modellnek megfeleltethető affinitási energia-eloszlás két maximumot ad, amelyek a kétféle, független, eltérő kötési energiával rendelkező adszorpciós gócot reprezentálják.

Heterogén adszorpciós felületek jellemzésére számos további modell létezik. A Langmuir-Freundlich-egyenlet a nevében szereplő két klasszikus izoterma egyenlet kombinációjával jött létre. Az izoterma egyenlete a következő<sup>6</sup>:

$$q = \frac{q_s (b C)^n}{1 + (b C)^n} \quad (3)$$

ahol  $q_s$  a telítési kapacitás,  $b$  az adszorpciós állandó és  $n$  a heterogenitásra jellemző paraméter, amelynek maximális értéke 1.

A heterogenitásra jellemző paraméter kifejezi a heterogenitás mértékét. Ha az  $n \rightarrow 1$  feltétel teljesül, a felület egyre homogénebb, a modell a Langmuir-modellhez közelít. Alacsony koncentrációknál a modell a Freundlich-modellé alakul. Az adszorpciós energia eloszlás, amelyet ezen modell alapján számítunk egy Gauss-görbét eredményez, melynek maximuma a  $b$  paraméter értékétől függ, míg a szélessége  $n$  értékével áll kapcsolatban.

A Tóth-egyenletet is gyakran használják folyadékkromatográfiában a heterogén állófázis-felületeken lejátszódó megkötődés jellemzésére. A modellt, a többi izotermaegyenlethez hasonlóan, eredetileg gáz-szilárd rendszerekre dolgozták ki<sup>7</sup>, hogy jellemezhesék a heterogén felületen bekövetkező adszorpciót. A modell affinitási energia-eloszlása egyetlen csúcsot eredményez, feltételezve, hogy nincs adszorbens-adszorbens kölcsönhatás. Ez a modell is kiterjeszhető folyadék-szilárd rendszerre. Az egyenlet a következő<sup>8</sup>:

$$q = \frac{q_s C}{(b + C)^{1/t}} \quad (4)$$

A modell három paramétert tartalmaz, az energia-eloszlás szélessége  $t$ -vel áll kapcsolatban; amennyiben  $t = 1$ , a modell a Langmuir-egyenleté alakul. A modell jól használható egyebek között a teofilin adszorpciós tulajdonságainak

\* Főszerző. Tel.72 501-500 / 4582; ; fax: 72 501-518 ; e-mail: felinger@tk.pte.hu.

megállapítására metanol-víz rendszerben  $C_{18}$ -as Kromasil oszlopon<sup>9</sup>.

## 2.2 A várhatóérték-maximalizálás (EM) módszere<sup>10</sup>

Az EM módszer segítségével lehetővé válik az adszorpciós energia eloszlásának kiszámítása, azaz a felület heterogenitásának jellemzése. Az EM módszer egy iterációs optimalizáló algoritmus, amely rejtett változók maximum likelihood becslésére használható

Az EM algoritmus alkalmazásakor az energia-eloszlásra tett bármiféle előzetes megállapítás szükségtelen. Az eloszlásfüggvény becslése kizárólag a mért izoterma pontokból történik. A globális és a helyi izoterma, és az adszorpciós állandó viszonyát a következő egyenlet adja meg:

$$q(C) = \int f(\ln K)\theta(K, C)d \ln K \quad (5)$$

ahol  $q(C)$  a globális izoterma, amelyet kísérletesen határozunk meg,  $C$  az egyensúlyi koncentráció a mozgófázisban,  $f(\ln K)$  az egyensúlyi állandó eloszlása,  $\theta(K, C)$  a lokális adszorpciós izoterma, amelyet a jelen kísérletben Langmuir-izotermának tételezünk fel. Az EM módszer a következő egyenletet használja:

$$q_{cal}(C_i) = \sum_{j=1}^M f(\ln K_j)\theta(K_j, C_i)\Delta(\ln K) \quad (6)$$

ahol  $C_i$  a kísérletben alkalmazott vegyület koncentrációja a mozgófázisban,  $\ln K_j$  az adszorpciós állandó logaritmus,  $\Delta(\ln K)$  az egyenlő részekre felosztott  $K$  tartományban az egyes pontok közötti távolság, és  $M$  a tartomány felosztására használt pontok száma. A felosztás két szélső érték között történik. Ezek  $K_{min}$ , és  $K_{max}$ , melyek a kísérleti körülményekből adódó értékek.

Az EM módszer összehasonlítja a kísérletesen meghatározott  $q$  értékét (az adott mozgófázis koncentrációnál az állófázison adszorbeálódott anyag mennyiségét) egy számított értékkel, egy korrekciós vektort felhasználva. Ezzel az új értékkel kezdi el újra a közelítést, majd meghatározott számú iterációt végezve alakul ki a frontális elemzés adatpontjai segítségével számított AED görbe.

## 3. A kísérlet kivitelezése

### 3.1 Anyagok és eszközök

A kísérletben használt mozgófázis metanol-víz (30:70, v/v) elegye volt. Mindkét folyadék HPLC tisztaságú volt. Az oldott anyagok fenol (Riedel-de Haen, 99%-os tisztaságú) és tiokarbamid (Sigma, 99%-os tisztaságú) voltak. A kromatográfiás oszlop a YMC cégtől származó  $C_{30}$ -as (150 mm × 4,6 mm) porózus töltetű 3 μm szemcseméretű volt.

### 3.2 Az adszorpciós izoterma meghatározás frontális elemzéssel

#### 3.2.1 Folyadékkromatográfia

Az izoterma adatpontjainak meghatározása frontális elemzéssel történt egy Shimadzu berendezésen, amely SPD-10av diódasoros detektorral és két LC-10ADvp

szivattyúval volt felszerelve. Ezen szivattyúk biztosították a bináris gradienst, melyet a mérések alatt használtunk. A berendezéshez csatlakozott egy számítógép, amelyen az adatok rögzítése folyt.

#### 3.2.2 Az áttörési görbesor felvétele

Az egyik szivattyú a tiszta mozgófázist, míg a másik a fenolt tartalmazó mozgófázist továbbította. A kísérletek során állandó 1,0 cm<sup>3</sup>/perc áramlási sebességgel dolgoztunk. Az áttörési görbesor felvételéhez lépcsőzetes gradienst biztosító időprogramot használtunk. A fenol koncentrációjának növelése 0–50 g/dm<sup>3</sup>-ig 20 lépcsőben történt, minden egyes lépcső között 20 percnyi időt hagyva az adott koncentráción, hogy az állófázison beállhasson az egyensúly. Az időprogram teljes hossza 405 perc volt, a mérés elején 5 percig csak a tiszta mozgófázist juttattuk az oszlopra. A detektálás 290 nm-en történt, hogy elkerüljük a túl nagy abszorbancia értékeket (1000 mAU felettiek).

A kromatográf készülék oszlopon kívüli térfogatának (a szivattyútól a detektorig), és az oszlop holtterfogatának meghatározása 5 mg/dm<sup>3</sup> tiokarbamid oldattal történt. Az oldószer a fent említett mozgófázis volt. Feltételezve, hogy a tiokarbamid nem kötődik meg az állófázison, kiszámítható a rendszer oszlopon kívüli térfogata és az oszlop holtterfogata. A szivattyúval injektálva a tiokarbamid oldatot, 0,5 cm<sup>3</sup>/perc áramlási sebességgel, az injektálás pillanata és a detektorjel maximumának megjelenése között eltelt idő és az áramlási sebesség ismeretében számítható az oszlopon kívüli térfogat. Először a mérést oszlop nélkül, egy nulla térfogatú szűkítő alkalmazásával végeztük el, majd az oszloppal együtt is. A két térfogat különbsége adta meg az oszlopban lévő mozgófázis térfogatát. Ezt felhasználva az oszlop teljes térfogatának ismeretében kiszámítható az állófázis térfogata. A rendszer oszloppal mért térfogata 2,51 cm<sup>3</sup>-nek adódott, ebből az oszlop holtterfogata 1,3 cm<sup>3</sup> volt.

#### 3.2.3 Az izoterma adatpontjainak kiszámítása

Az izoterma pontjainak kiszámításához használt egyenlet a következő volt<sup>11</sup>:

$$Q_{i+1} = Q_i + \frac{(C_{i+1} - C_i)(V_{F,i+1} - V_0)}{V_a} \quad (7)$$

ahol  $Q_i$  és  $Q_{i+1}$  az oszlopon adszorbeálódott oldott anyag mennyisége az  $i$ -edik, majd az  $i+1$ -edik lépésben.  $C_i$  és  $C_{i+1}$  az  $i$ -edik, illetve  $i+1$ -edik lépésben az oldott anyag egyensúlyi koncentrációja a mozgó fázisban.  $V_{F,i+1}$  az  $i+1$ -edik lépcső inflexiós pontjához tartozó retenció térfogat. Értékét az  $i$ , illetve az  $i+1$ -edik lépésben a frontális elemzéssel nyert kromatogram deriváltjából nyerhetjük. az  $i+1$ -edik lépcsőhöz tartozó derivált maximumának helye adja a  $V_{F,i+1}$  értékét.  $V_0$  a rendszer holtterfogata (jelen esetben 2,51 cm<sup>3</sup>),  $V_a$  az állófázis térfogata (jelen esetben 1,21 cm<sup>3</sup>).

#### 3.2.4 Az izoterma modellek illesztése a kimért adatpontokhoz

A nemlineáris illesztést Origin 6.0 programmal végeztük; az illesztésnél súlyozást nem alkalmaztunk. Az illeszkedések jellemzésére a reziduális négyzetösszeget (RSS) használtuk minden egyes izoterma modellre. A lokális minimumok miatt adódó hiba kiküszöbölésére az iterációkat több kiindulási paraméterrel ismételtük meg.

A különböző izoterma modellek összehasonlítására a Fisher-tesztet használtuk. A felhasznált egyenletek a következők<sup>12</sup>:

$$S_1^2 = \frac{RSS_1}{n-p_1} \quad S_2^2 = \frac{RSS_2}{n-p_2} \quad F_{obs} = \frac{S_1^2}{S_2^2} \quad (8)$$

$n$  az adatpontok száma,  $p_1$  és  $p_2$  a két összehasonlított izoterma modell paramétereinek száma. A szabadsági fokok (a számlálóban, illetve a nevezőben)  $n-p_1$  és  $n-p_2$ , vagyis az  $F$ -eloszlás kritikus értékét az alábbi érték alapján keressük:

$$F_\alpha(n-p_1; n-p_2) \quad (9)$$

### 3.2.5 Az affinitási energia-eloszlás számítása az EM módszerrel

Az EM algoritmust – amely Fortran nyelven készült – használtuk fel az affinitási energia-eloszlás kiszámítására. 150 pontra osztottuk fel a  $K$  tartományt a két szélsőérték között, amelyek a következők:  $K_{min}=0,0005 \text{ dm}^3/\text{g}$ , és  $K_{max}=1,000 \text{ dm}^3/\text{g}$ . Az algoritmus 1 000 000 iterációt végzett el.

## 4. Eredmények és értékelésük

### 4.1 Az egyes izoterma-modellek illesztése a mért adatpontokhoz

Első lépésként frontális elemzéssel szobahőmérsékleten felvettük az áttörési görbesort. A kísérletileg meghatározott 21 adatpont, és az arra illesztett bi-Langmuir–modell látható az 1. ábrán.

Az egyes izoterma modellek legjobban illeszkedő paramétereit, illetve RSS értékeit az 1. táblázat foglalja össze.

A vizsgált izoterma modellek közül a legkisebb RSS értéket a bi-Langmuir–modell adja. Sorra összehasonlítva a bi-Langmuir, a Langmuir–Freunlich, illetve a Tóth–izoterma modell illesztésekor nyert RSS értékeket a Langmuir–modell illesztésénél kaptattal, (az  $F_{obs}$  értékek sorrendben, az adott szabadsági fokoknál: 3,1; 3,03; 3,06) az minden esetben magasabb a 95%-os kritikus  $F$  értékeknél, amely alapján

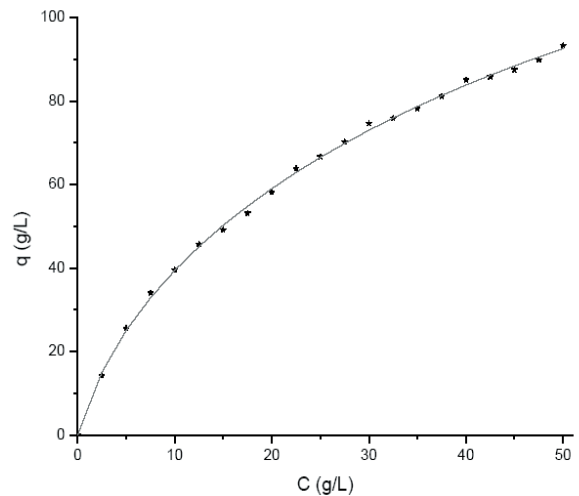
**1. Táblázat.** A frontális elemzéssel nyert adatokra legjobban illeszkedő izotermák paramétereit, azok megbízhatósága, illetve a vizsgált modellek jellemzésére szolgáló RSS értékek.

Langmuir		bi-Langmuir		Langmuir–Freundlich		Tóth	
$q_s$	137,9±3,294 g/dm <sup>3</sup>	$q_{s1}$	150,7±10,287 g/dm <sup>3</sup>	$q_s$	205,5±21,49 g/dm <sup>3</sup>	$q$	52,64±6,9 g/dm <sup>3</sup>
$B$	0,03867±0,00201 dm <sup>3</sup> /g	$b_1$	0,01606±0,0073 dm <sup>3</sup> /g	$b$	0,01544±0,00386 dm <sup>3</sup> /g	$b$	4,31781±1,324 dm <sup>3</sup> /g
		$q_{s2}$	28,09±17,58 g/dm <sup>3</sup>	$n$	0,7727±0,036	$t$	0,7022±0,04148
		$b_2$	0,1951±0,1292 dm <sup>3</sup> /g				
RSS	50,16	RSS	14,55	RSS	15,77	RSS	15,51

**2. Táblázat.** Az EM algoritmus segítségével számított, illetve a FA-ból kísérletesen meghatározott bi-Langmuir paraméterek összehasonlítása

Kísérleti bi-Langmuir paraméterek		Számított bi-Langmuir paraméterek	
$q_{s1}$	150,7 g/dm <sup>3</sup>	$q_{s1}$	160,02 g/dm <sup>3</sup>
$b_1$	0,01606 dm <sup>3</sup> /g	$b_1$	0,01104 dm <sup>3</sup> /g
$q_{s2}$	28,09 g/dm <sup>3</sup>	$q_{s2}$	41,2 g/dm <sup>3</sup>
$b_2$	0,1951 dm <sup>3</sup> /g	$b_2$	0,1353 dm <sup>3</sup> /g

kijelenthető, hogy a három heterogén adszorpciós felszint leíró modell szignifikánsan jobb illeszkedést eredményez, mint a homogén adszorpciós felszint leíró Langmuir–modell. A Fisher-teszt alkalmazásával azonban



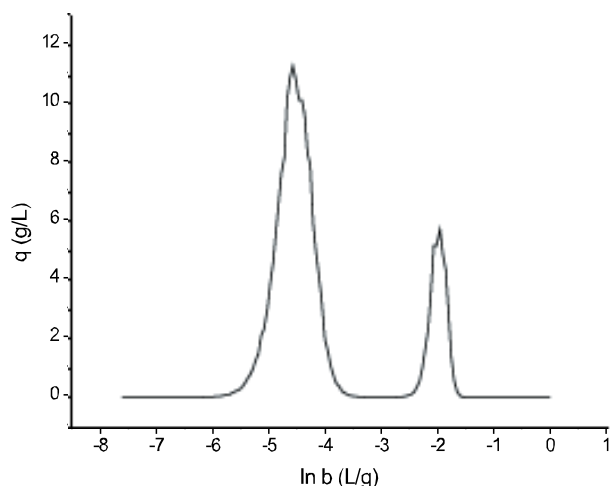
**1.Ábra.** Az adatpontokra illesztett bi-Langmuir–izoterma modell

nem tudunk különbséget tenni a fenti három, heterogén adszorpciós felszint leíró izoterma modell között. Sorrendben összehasonlítva egymással a három modell RSS értékét egyik sem nyújt szignifikánsan jobb illeszkedést a többinél.

### 4.2 Az affinitási energia eloszlásának becslése

A kimért 21 adatpontot felhasználva az EM algoritmus segítségével számoltuk a fenol affinitási energia-eloszlását (AED) C<sub>30</sub>-as oszlopon, metanol-víz rendszerben. A számítás célja, hogy a heterogén adszorpciós felületet leíró modellek közül kiválaszthassuk a legmegfelelőbbet. A numerikus számítás két egymástól jól elkülönülő csúcsot ad. Az itt vizsgált izoterma egyenletek közül a bi-Langmuir–modell feleltethető meg a bimodális energia-eloszlásnak. A görbék csúcspontja meghatározza az  $\ln b_1$  és  $\ln b_2$  értékét. A 2. ábrán látható a számított AED görbe.

A hagyományos felfogás alapján az alacsony energiájú kötőhelyek ( $q_{s1}$ ) a szilikagél hordozóra kötött apoláris ligandumok és a fenol molekulák között létrejövő gyenge apoláris, hidrofób kölcsönhatásokat, míg a nagyobb energiájú kötőhelyek, ( $q_{s2}$ ) a fenol molekulák és a szabadon maradt erősen savas szilanol csoportok között létrejövő erős poláris kölcsönhatásokat reprezentálják. kölcsönhatásokat reprezentálják.



**2.Ábra.** A fenol affinitási energia-eloszlása  $C_{30}$ -as oszlopon, szobahőmérsékleten. Az affinitás eloszlást az EM algoritmus segítségével számoltuk, a kísérletesen nyert izoterma adatpontokból. 150 pontra osztottuk fel a távolságot logaritmikusan a két szélső  $K$  érték között.  $K_{min}=0,0005 \text{ dm}^3/\text{g}$ ,  $K_{max}=1 \text{ dm}^3/\text{g}$ , 1000000 iterációt végezve.

A két kötőhely átlagos energiájának különbségét a következő egyenlettel számolhatjuk ki, azzal a kikötéssel, hogy a preexponenciális tényezők megegyeznek az állófázis minden egyes kötőhelyén:

$$\varepsilon_{a,2} - \varepsilon_{a,1} = RT \ln \left( \frac{b_2}{b_1} \right) \quad (10)$$

Eredményeink alapján a két különböző adszorpciós hely energiájának különbsége 6,1 kJ/mol 22°C-on a vizsgált rendszerben.

Guiochon<sup>13</sup> feltételezése szerint – mivel a fordított fázisú rendszerekben a kötőhelyek között gyakran mindössze 5–6 kJ/mol energiakülönbség figyelhető meg<sup>14</sup> – a nagyszámú alacsony energiájú kötőhely a hidrofób állófázis és a mozgófázis közötti megoszlási egyensúlynak felel meg. Az ilyen jellegű megkötődéseknél a fenol molekulák behatolnak az apoláris hidrofób ligandumok közé és a megkötődés mechanizmusa a két fázis közötti megoszlási jelenségen alapul. A kisebb számú erős megkötődés viszont azzal magyarázható, hogy a molekulák bizonyos esetekben nem hatolnak be az apoláris ligandumok közé, hanem azok csúcsán, a fázisok határfelületén adszorbeálódnak.

A fenti feltételezésen kívül az állófázis heterogenitása azzal is magyarázható, hogy a felület bizonyos részein a hidrofób ligandumok szabályosan helyezkednek el, a felület más helyein pedig rendezetlen szerkezetet vesznek fel a ligandumok. A kromatográfias rendszerben lezajló megkötődés mechanizmusának pontos felderítése a mai napig a kutatások homlokterében áll.

## 5. Összegzés

A vizsgált izoterma modellek közül a bi-Langmuir-modell a legmegfelelőbb arra, hogy leírjuk a fenol adszorpcióját  $C_{30}$ -as állófázison, metanol-víz rendszerben. A Fisher-teszt segítségével kizárhattuk a Langmuir-modellt, de a három heterogén adszorpciós felszint leíró modell között nem tudtunk szignifikáns különbséget tenni. Az affinitási energia-eloszlás meghatározása után vált egyértelművé, hogy az

adott kísérleti rendszerben a fenol adszorpcióját a legjobban a bi-Langmuir-modell írja le.

## Köszönetnyilvánítás

Munkánk az OTKA T 048887 és az INCO-Copernicus ERB IC15 CT98 0322 pályázat támogatásával készült. Köszönjük dr. Kele Mariannának (Waters, Milford, MA, USA), hogy a HPLC oszlopot a rendelkezésünkre bocsátotta.

## Hivatkozások

1. James, D. H.; Phillips, C. S. G. *J. Chem. Soc.* **1954**, 1066.
2. Schay, G.; Székely, G. *Acta Chim. Hung.* **1954**, 5, 167.
3. Stanley, B. J.; Guiochon, G. *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 8098.
4. Guiochon, G.; Felinger, A.; Shirazi, D. G.; Katti, A.: *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*, Academic Press, Amsterdam, **2006**, p. 82.
5. Guiochon, G.; Felinger, A.; Shirazi, D. G.; Katti, A.: *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*, Academic Press, Amsterdam, **2006**, p. 90.
6. Kim, H.; Guiochon, G. *J. Chromatogr. A* **2004**, 1049, 27
7. Tóth, J. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1971**, 69, 311.
8. Guiochon, G.; Felinger, A.; Shirazi, D. G.; Katti, A.: *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*, Academic Press, Amsterdam, **2006**, p. 93
9. Gritti, F.; Guiochon, G. *J. Chromatogr. A* **2003**, 1003, 43.
10. Kim, H.; Guiochon, G. *J. Chromatogr. A* **2004**, 1049, 26.
11. Guiochon, G.; Felinger, A.; Shirazi, D. G.; Katti, A.: *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*, Academic Press, Amsterdam, **2006**, p. 124
12. G. E. P. Box, W. G. *Hunter Statistics for Experimenters*, Wiley, **1978**, pp.120-121
13. Gritti, F.; Guiochon, G. *J. Chromatogr. A* **2003**, 995, 37.
14. Guiochon, G.; Felinger, A.; Shirazi, D. G.; Katti, A.: *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*, Academic Press, Amsterdam, **2006**, p. 122.

## Determination of the adsorption isotherm and the affinity energy distribution in liquid chromatography

Frontal analysis was first developed and used independently by James and Phillips, and by Schay and Székely for the determination of adsorption isotherms. The solution of the studied compound, at a known, constant concentration, is percolated through the column. Successive, abrupt step changes of increasing concentration are performed at the column inlet and the breakthrough curves are determined. In this study we determined the raw adsorption data points of phenol on a  $C_{30}$  alkyl-bonded porous silica packed Waters-YMC column.

As a first step, we recorded 20 consecutive breakthrough curves, and determined the breakthrough volumes. The concentration range of phenol we studied was between 2.5 and 50 g/dm<sup>3</sup>. The detector signal was recorded at 290 nm to avoid recording any UV-absorbance signal above 1000 mAU. The hold up time was measured by using the pump to inject a small amount of thiourea onto the column. The corresponding hold-up volume was 2.51 cm<sup>3</sup> from the pump to the maximum point of the detector signal. The isotherm data points were calculated using Equation 6.

The next step we investigated the fitting of four isotherm models to the isotherm data points. The first one was the Langmuir isotherm model, which is the simplest model used in adsorption studies. This model assumes that the surface of the adsorbent is homogeneous, covered with only one type of adsorption sites, and

there are no lateral interactions between the adsorbed molecules. The adsorption energy modeled by the Langmuir isotherm has unimodal energy distribution. The next model we investigated was the bi-Langmuir isotherm model. This is the simplest model for nonhomogeneous surface, which covered with patches made of two different independent adsorption sites with different adsorption energies. The adsorption energy distribution based on the bi-Langmuir model displays two peaks, representing the two types of independent adsorption sites. The next two models we used were the Langmuir–Freundlich, and the Tóth isotherm model. Both of them contain three parameters and describe nonhomogeneous surfaces. The energy distribution based on these two models gives a Gaussian peak whose width is related to the surface homogeneity. The non-linear fitting of adsorption isotherm models to experimental data was performed using Origin 6.0 software. The best isotherm parameters were selected by minimizing the residual sum of squares (RSS) for each isotherm models. To avoid being trapped in a local minimum in the regression process, several calculations were carried out, using different initial values of the parameters. The fitting processes were compared using Fisher test (equation 7 and 8). The bi-Langmuir model has the lowest RSS value, but it

was not significantly better than the other models, which describes nonhomogeneous adsorption surface (the Tóth and the Langmuir–Freundlich model). The only model that gives significantly poorer results than the other three was the Langmuir model.

To decide which model describes best the adsorption of phenol in the given experimental conditions we used the expectation maximization method (EM). The EM method allows us to determine the affinity energy distribution of the studied compound from the raw isotherm data points, which we measured in the frontal analysis. The EM algorithm, programmed in Fortran, was used to calculate the AED of phenol from a methanol-water mobile phase, on a  $C_{30}$  stationary phase. One hundred-fifty grid points in the  $K$ -space were used to logarithmically discretize the range between  $K_{min}=0.0005$   $dm^3/g$  and  $K_{max}=1.000$   $dm^3/g$ . The algorithm performed one million iterations. The AED exhibits two well resolved peaks at low and at high energies. This calculation shows that the best model which describes the adsorption of phenol in our measurements is the bi-Langmuir model, because it is the only one of the investigated models that assumes a bimodal energy distribution.

We calculated the difference between the mean value of the adsorption energy of the high and the low energy sites (equation 10). Our calculation yielded 6.121 kJ/mol at 22°C.