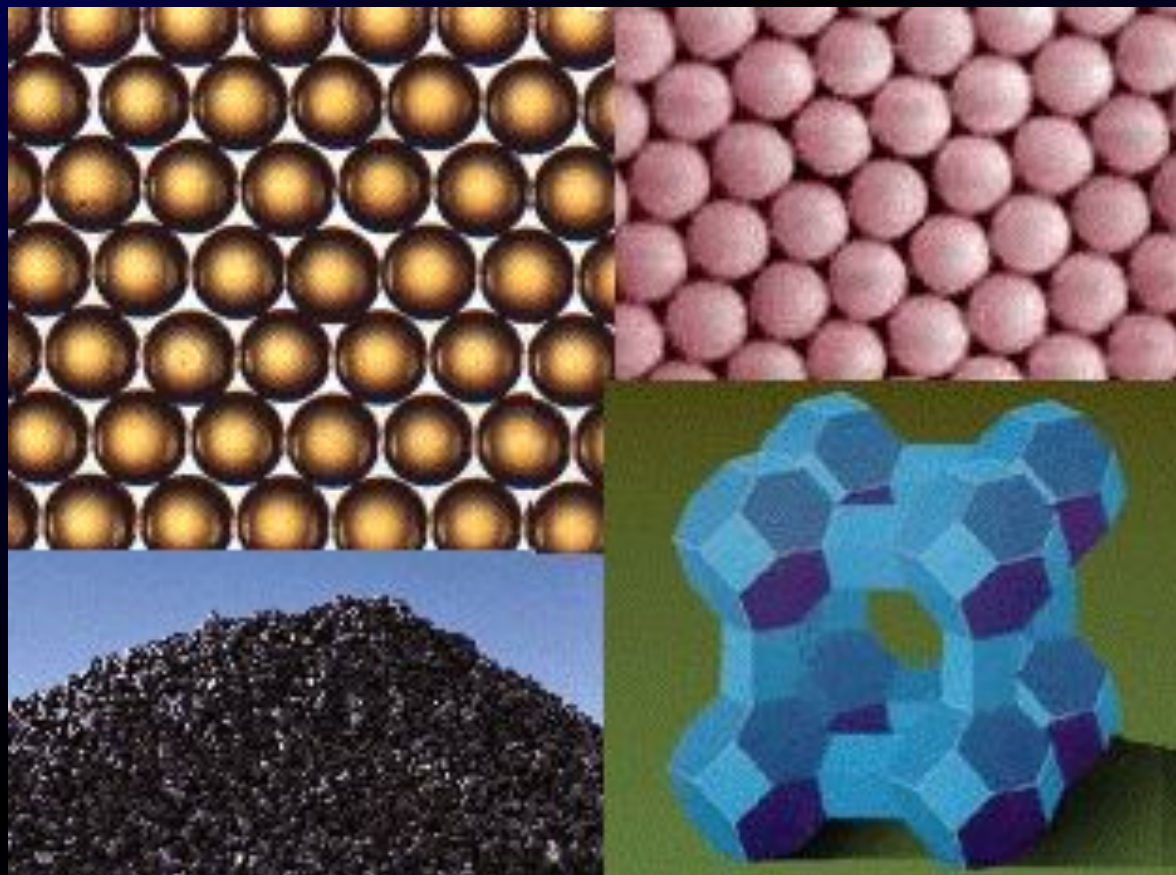


Ионная хроматография



Ионный обмен

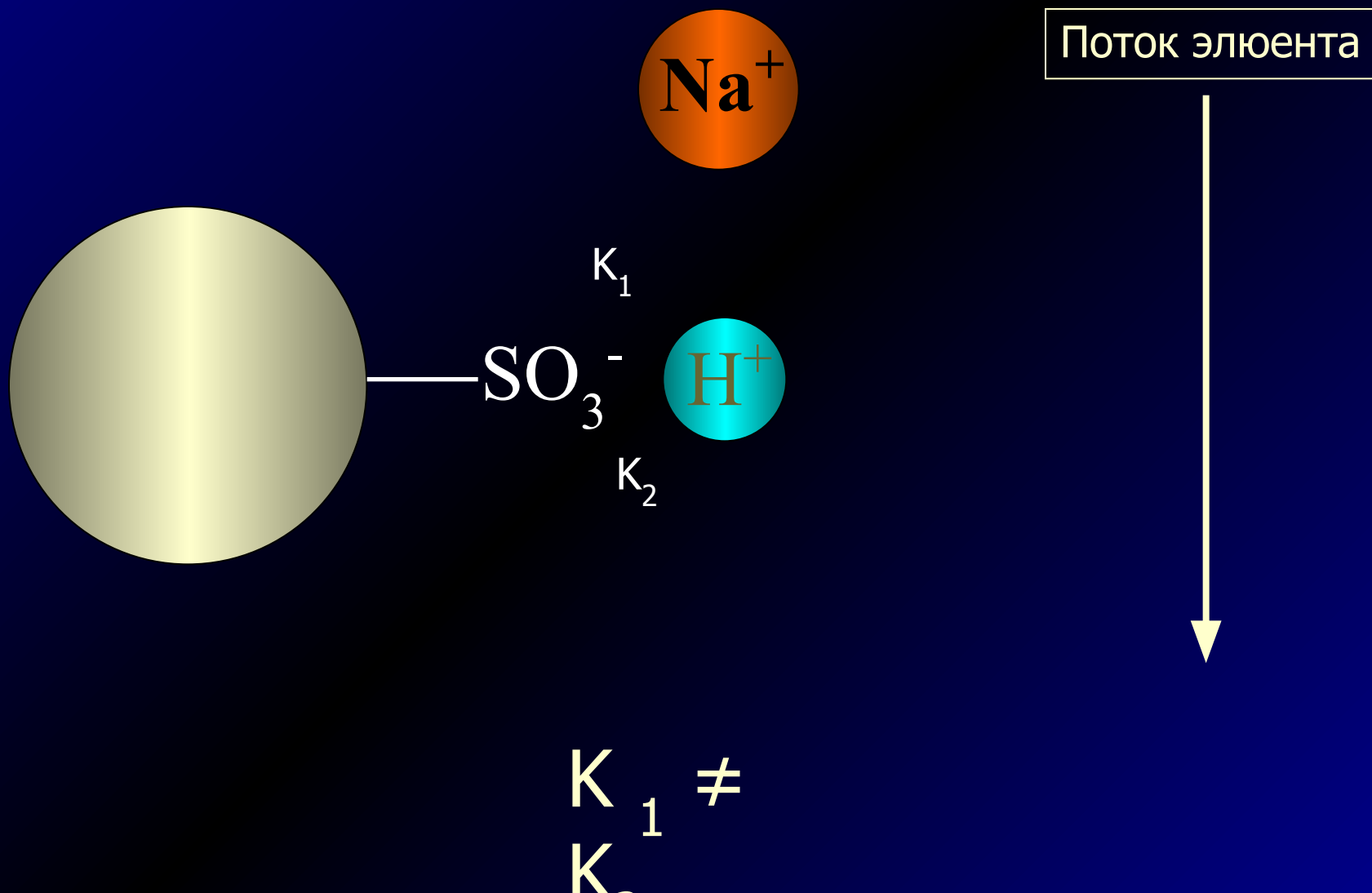


Ионный обмен - это обратимая химическая реакция, при которой происходит обмен ионами между твердым веществом (обычно смолами) и раствором электролита

Катионный

Анионный

Схема ионного обмена



Ионообменная хроматография

Жидкостная хроматография,
основанная на различной способности
ионов к ионному обмену

- Больше физико-химический, чем аналитический метод
- Не высокоэффективная хроматография
- Развивается с середины 50-х годов XX века
- Выявлены основы и закономерности ионного обмена

Зависимости ионного обмена

От радиуса гидратированного иона

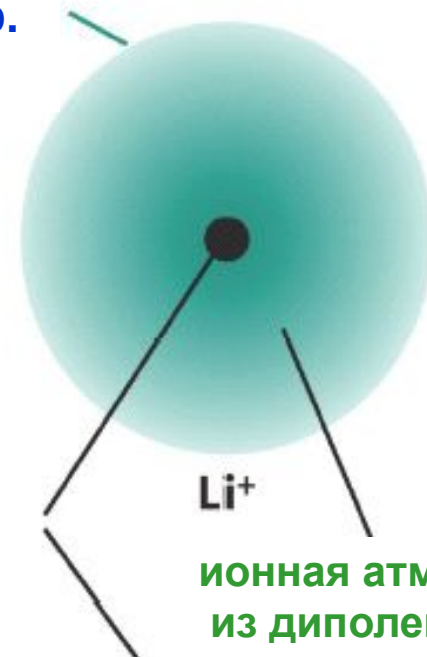
1A (1)	2A (2)	3A (13)	4A (14)	5A (15)	6A (16)	7A (17)	8A (18)
H 37		B 85	C 77	N 75	O 73	F 72	Ne 31
Li 152	Be 112	Al 143	Si 116	P 110	S 103	Cl 100	Ar 96
Na 186	Mg 150	Ga 135	Ge 122	As 120	Se 119	Br 114	Kr 112
K 227	Ca 197	In 167	Sn 140	Sb 140	Te 142	I 133	Xe 131
Rb 245	Sr 215	Tl 170	Pb 146	Bi 150	Po 168	At (140)	Rn (140)
Cs 265	Ba 222						
Fr (270)	Ra (220)						

3B (3)	4B (4)	5B (5)	6B (6)	7B (7)	(8)	8B (9)	(10)	1B (11)	2B (12)
Sc 162	Ti 147	V 134	Cr 128	Mn 127	Fe 126	Co 125	Ni 124	Cu 128	Zn 134
Y 180	Zr 160	Nb 146	Mo 138	Tc 136	Ru 134	Rh 134	Pd 137	Ag 144	Cd 151
La 187	Hf 159	Ta 146	W 138	Re 137	Os 136	Ir 136	Pt 138	Au 144	Hg 151

Гидратир.
радиус

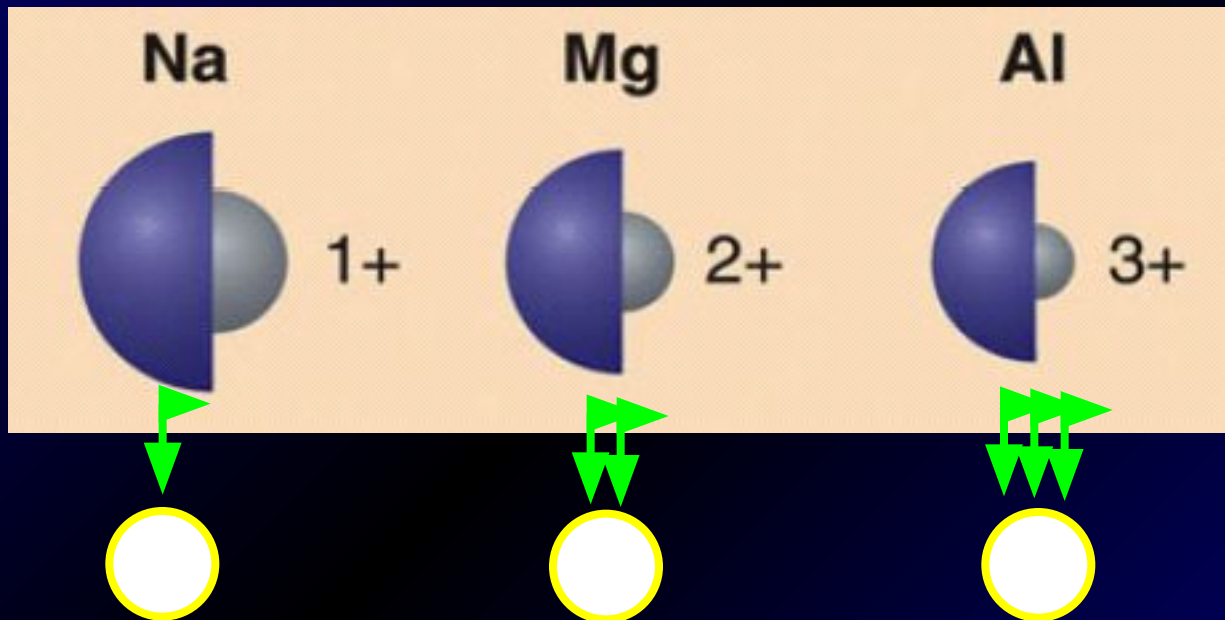
Ионный
радиус

Гидратир.
радиус



Зависимости ионного обмена

От эффективного заряда иона



Классификация ионообменных смол

Тип	Группа	pK_a / pK_b
Сильнокислотный	$-\text{SO}_3^- \text{H}^+$	1-2
Среднекислотный	$-\text{P}(\text{O})(\text{R})\text{O}^- \text{H}^+$	3-5
Слабокислотный	$-\text{COO}^- \text{H}^+$	5-7
Сильноосновный	$-\text{NR}_3^+ \text{OH}^-$	1-2
Среднеосновный	$-\text{NH}_2; -\text{NHR}; -\text{NR}_2$	4-10

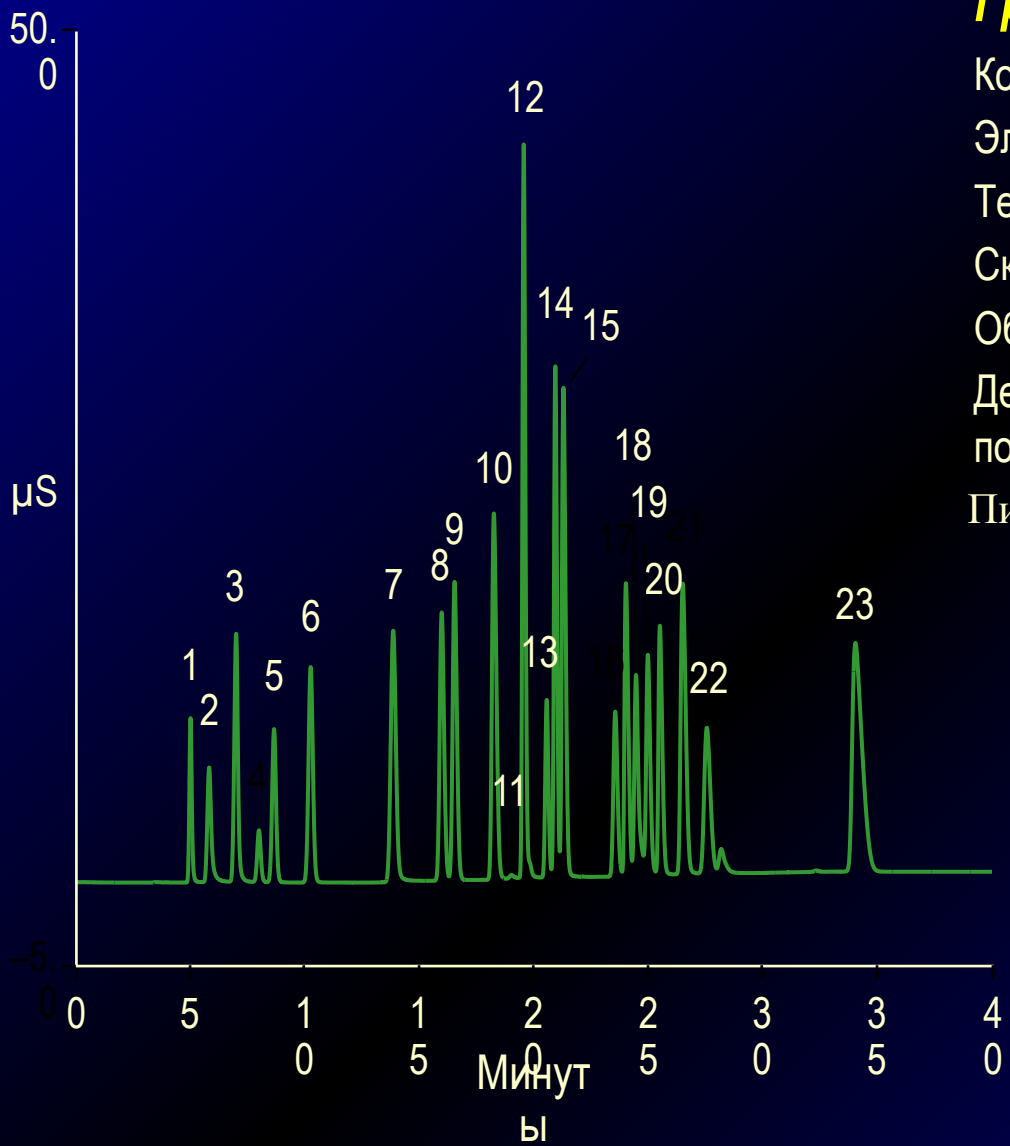
Ионная хроматография

- Весьма эффективный метод определения ионов
- Лучший метод определения анионов, особенно неорганических
- Наиболее распространенные детекторы – кондуктометрический и спектрофотометрический
- Пределы обнаружения на уровне 1-10 нг/мл без концентрирования
- Воспроизводимость по высотам и площадям пиков
 $Sr \leq 0.05$

Потенциал современной ионной хроматографии

Градиентное элюирование

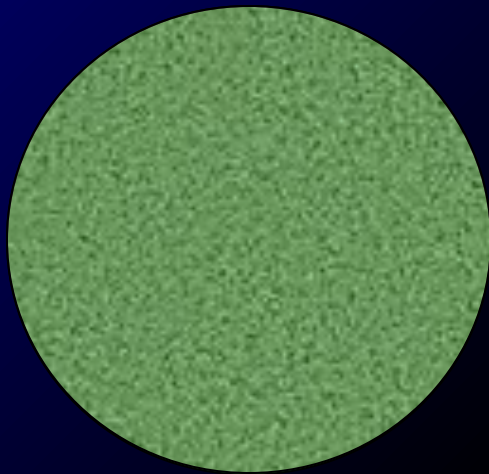
Колонка: IonPac® AS19
Элюент: градиент KOH (генератор элюента)
Температура: 30 °C
Скорость потока: 1.0 мл/мин
Объем пробы: 25 мкл
Детектирование: кондуктометрическое, с подавлением



- Пики:
- | | | | |
|-----|----------|-----|------------|
| 1. | Фторид | 13. | Фосфат |
| 2. | Ацетат | 14. | Оксалат |
| 3. | Формиат | 15. | Селенат |
| 4. | Хлорит | 16. | Фталат |
| 5. | Бромат | 17. | Фосфат |
| 6. | Хлорид | 18. | Тиосульфат |
| 7. | Нитрит | 19. | Хромат |
| 8. | Хлорат | 20. | Арсенат |
| 9. | Бромид | 21. | Фумарат |
| 10. | Нитрат | 22. | Йодид |
| 11. | Карбонат | 23. | Роданид |
| 12. | Сульфат | | |

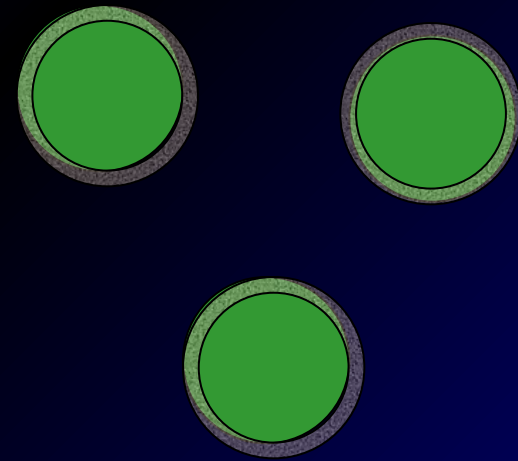
Строение сорбентов

Ионообменная хр-фия



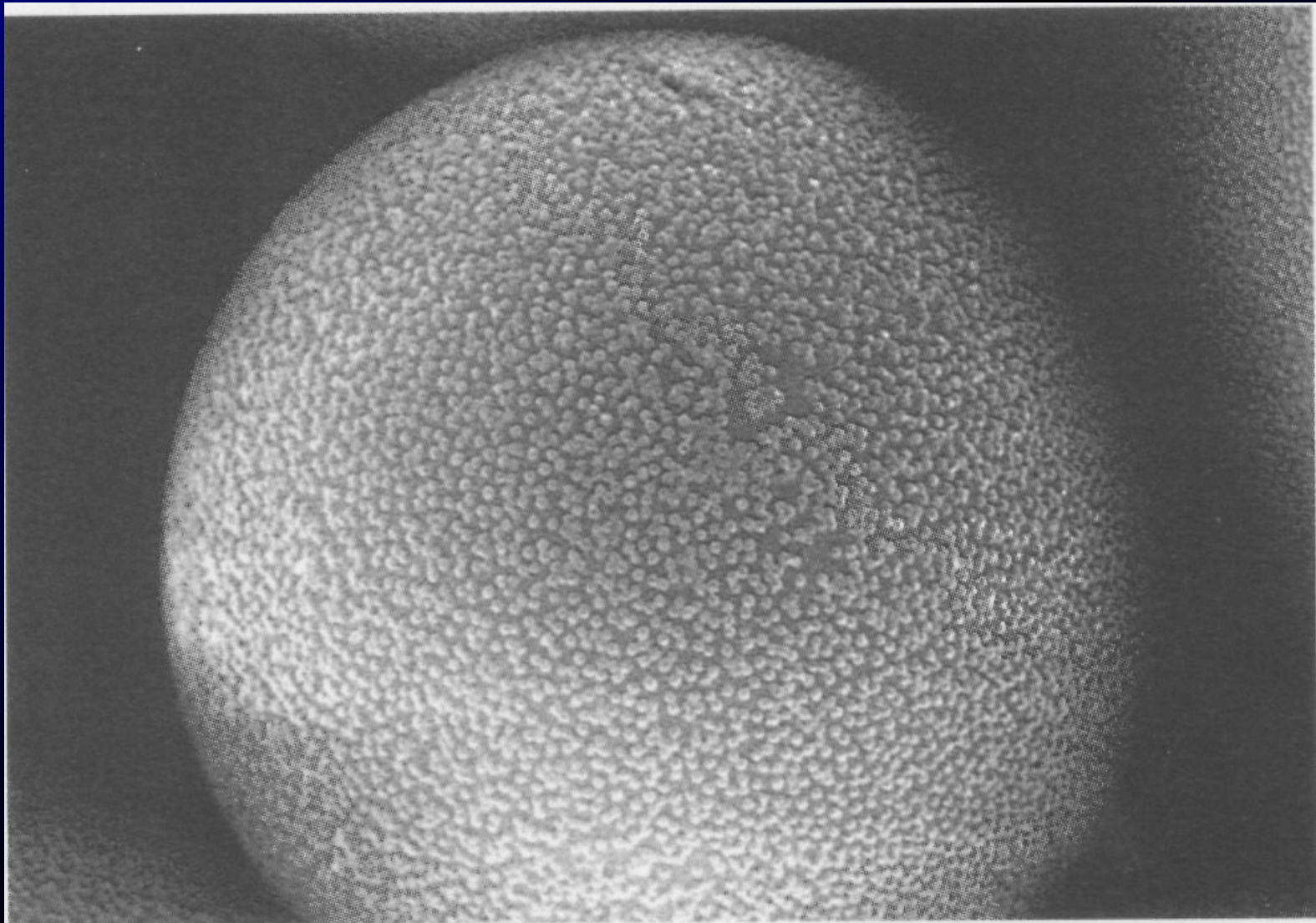
- Объемно-модифицированные
- Емкость до 10 мМ/г
- Диаметр 200-2000 мкм

Ионная хр-фия



- Поверхностно-модифицированные
- Емкость 0.01-0.05 мМ/г
- Диаметр 5-10 мкм

Микрофотография латексного анионообменника




Матрица сорбентов

Тип	Гидрофобность	pH диапазон
Силикагель	Низкая	2-7(9)
Полиметакрилат	Средняя	3-10(12)
Сополимер стирола и дивинилбензола	Высокая	1-14


Влияние матрицы

Силикагель



ClO_4^- 7-15 мин

Полиметакрилат



ClO_4^- 15-25 мин

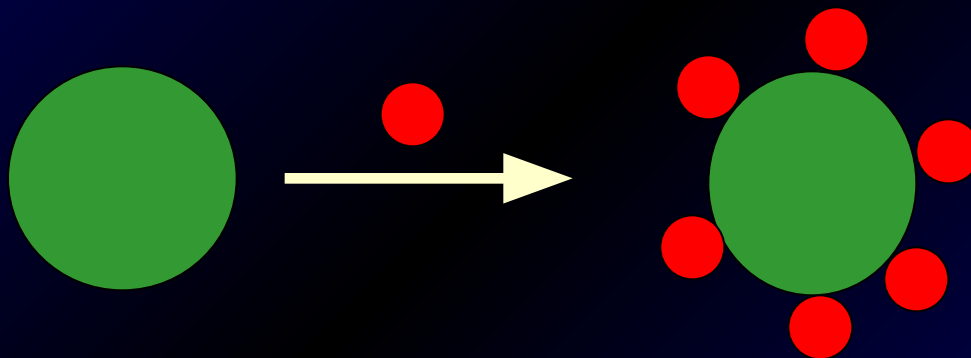
Стирол-
дивинилбензол



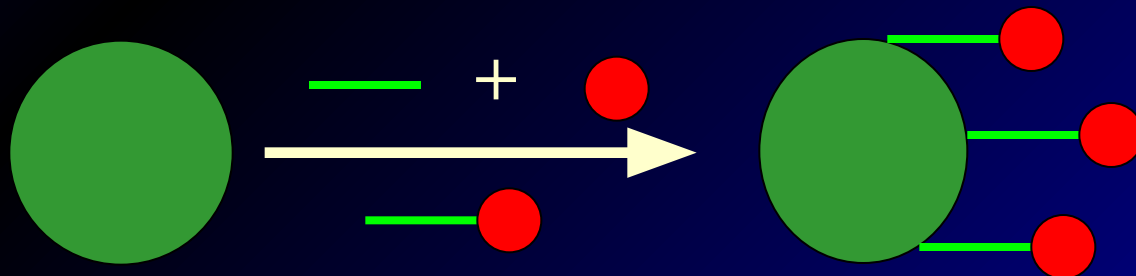
25-60 мин ClO_4^-

Способы синтеза сульфокатионообменников

“Традиционный”



“Современный”



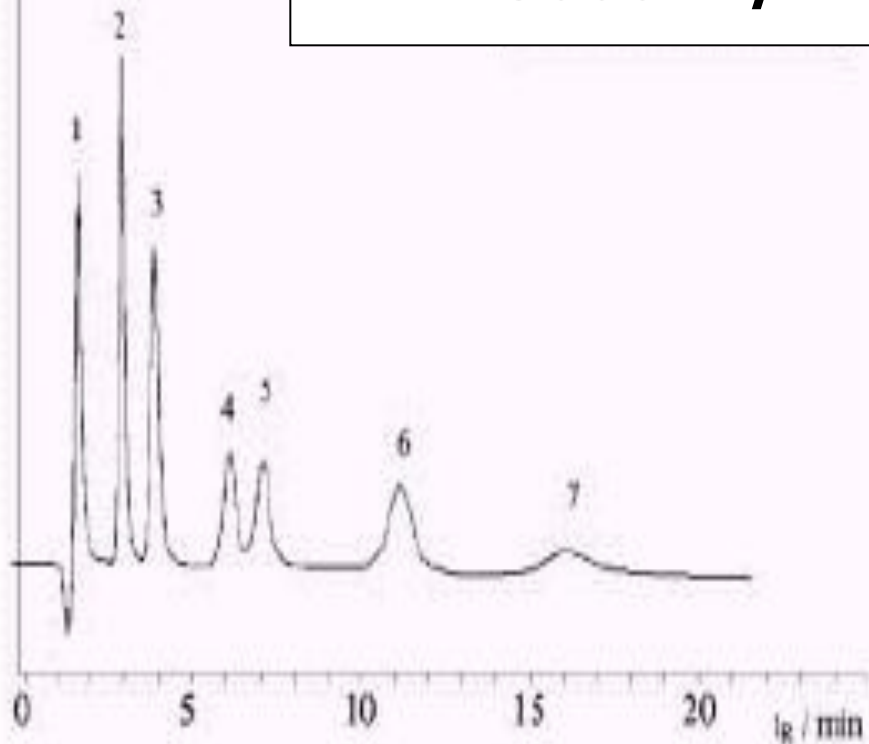
Сравнение эффективности сорбентов

Неподвижная $-SO_3H$ группа

Подвижная $-SO_3H$ группа

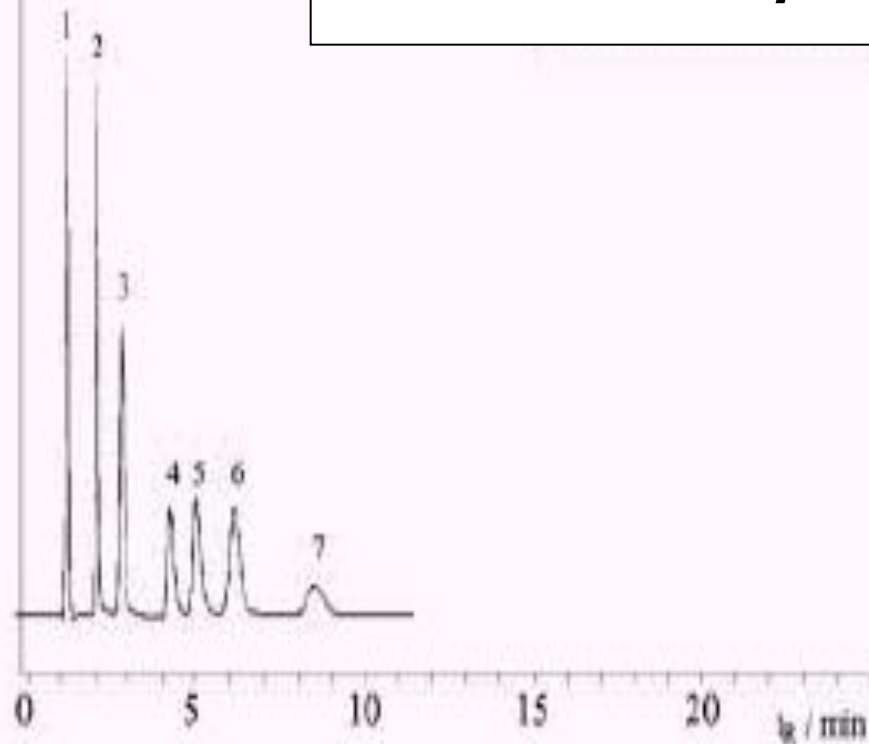
Conductivity

N = 13000 тт/м



Conductivity

N = 22000 тт/м



Особенности подвижных фаз в ионной хроматографии

- Практически всегда только водные растворы электролитов (солей или кислот)
- Элюирующая сила зависит от типа используемого электролита
- Сильное влияние pH
- «Совместимость» с кондуктометрическим детектированием

Схема ионного хроматографа

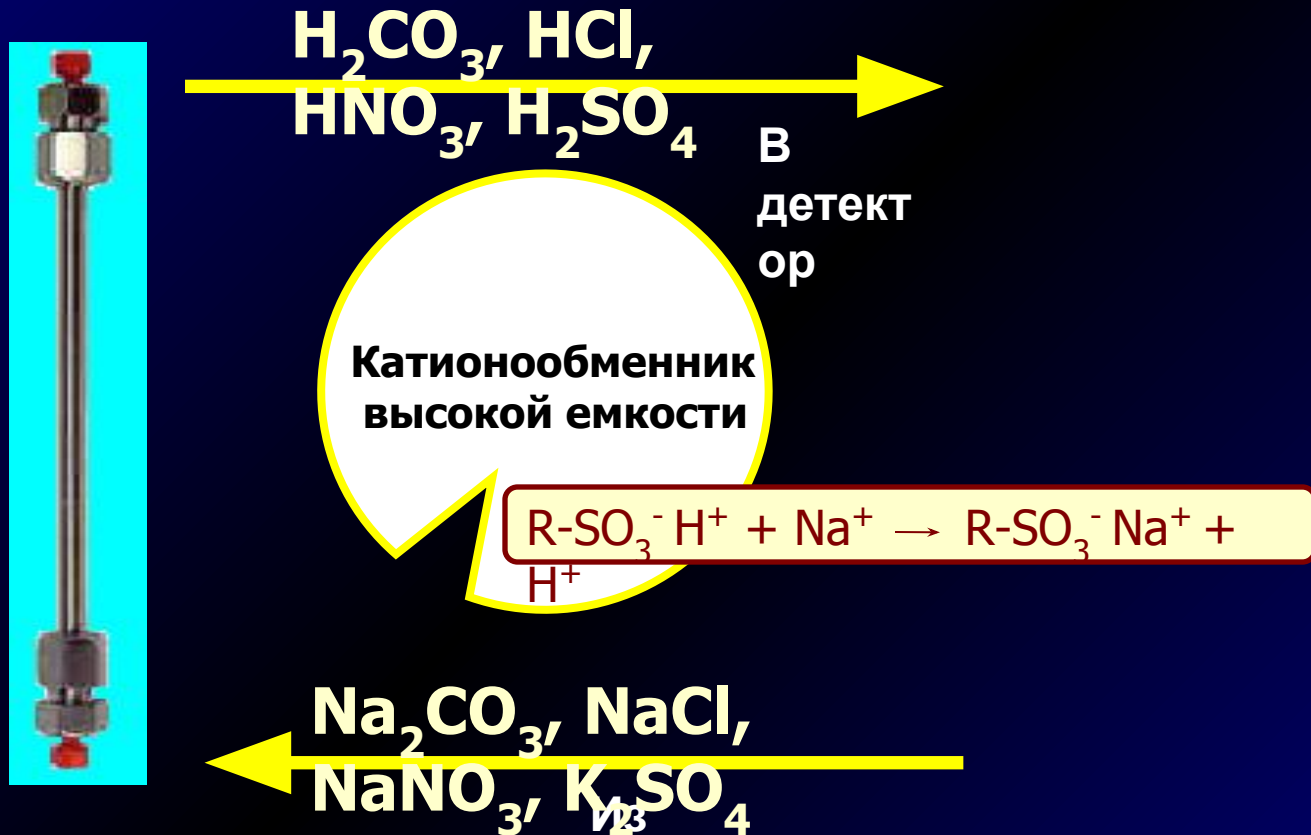


Варианты ионной хроматографии

Одноколоночный вариант (без подавления фонового сигнала)

Двухколоночный вариант (с подавлением фонового сигнала)

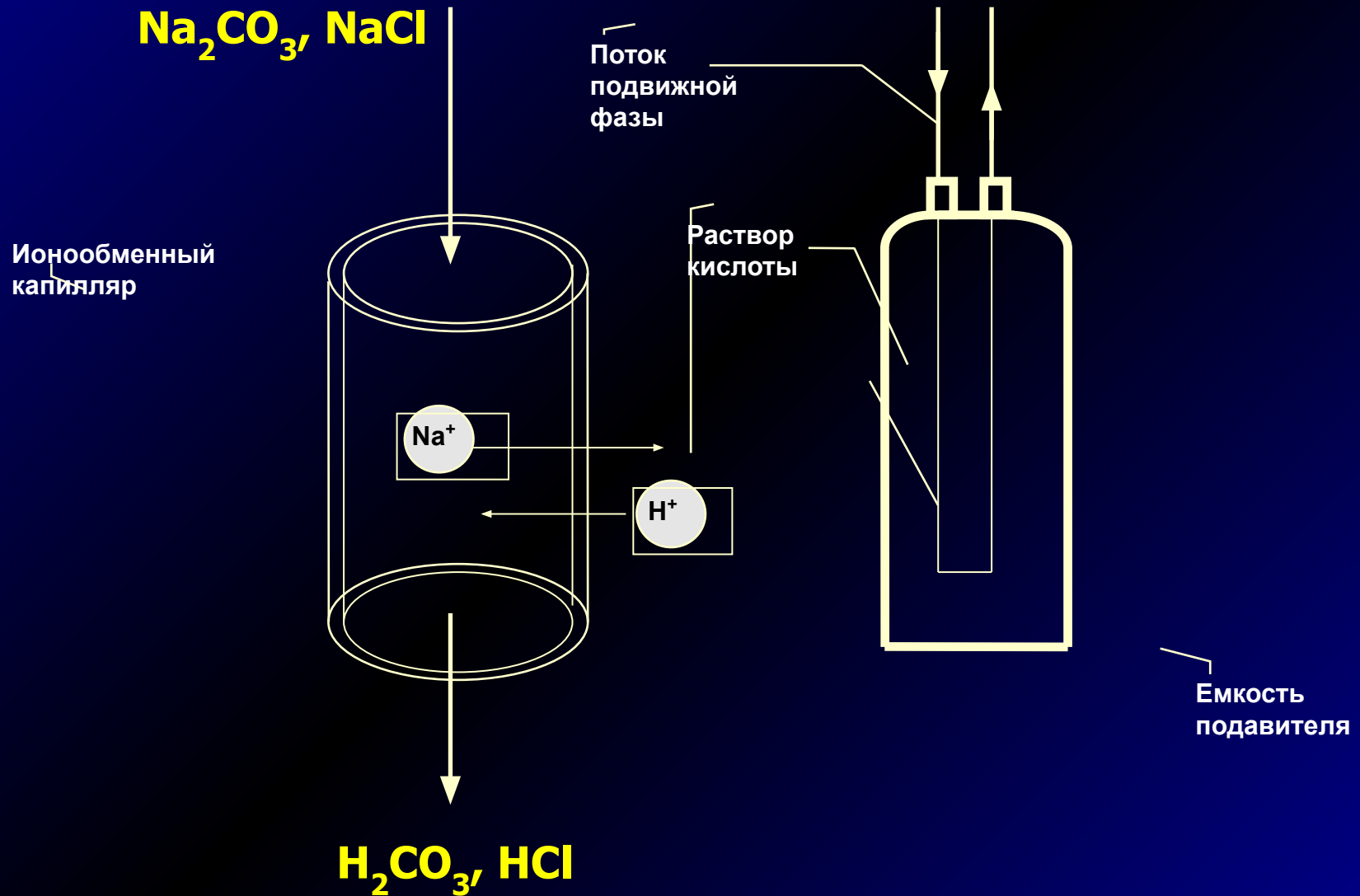
Колоночное подавление (1975 г)



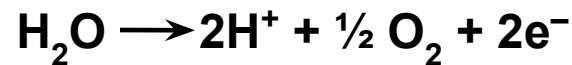
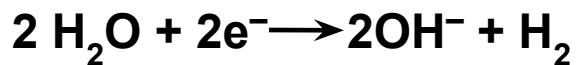
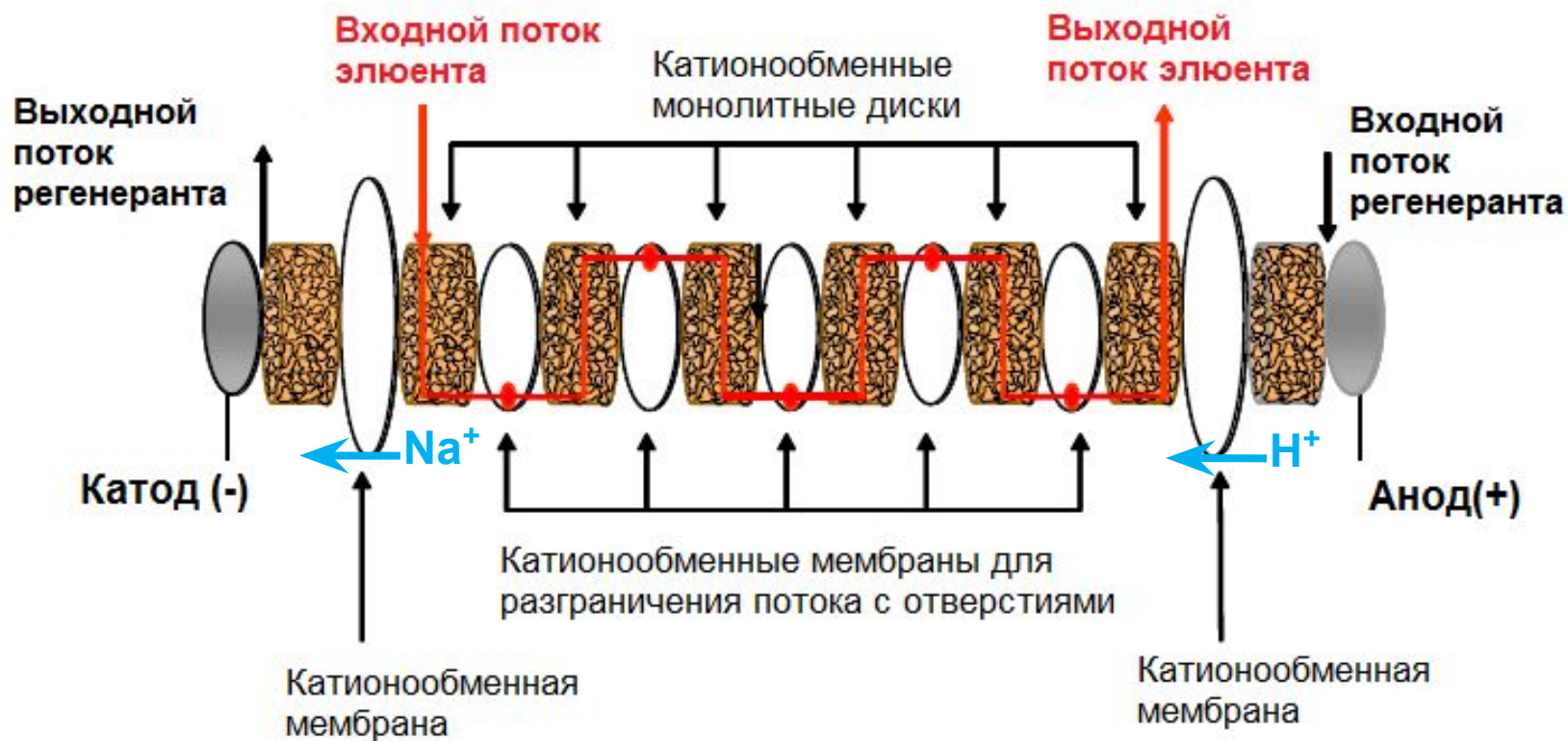
Роль подавителя в улучшении чувствительности: разделяющей колонки

- Минимизировать электропроводность элюента (Примеры: $\text{NaOH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$)
- Увеличить проводимость в зоне хроматографических пиков (Пример: хлорид натрия превращается в соляную кислоту)

Мембранное подавление



Устройство мембранного электролитического подавителя AAES (Anion Atlas Electrolytic Suppressor, производитель-Dionex)



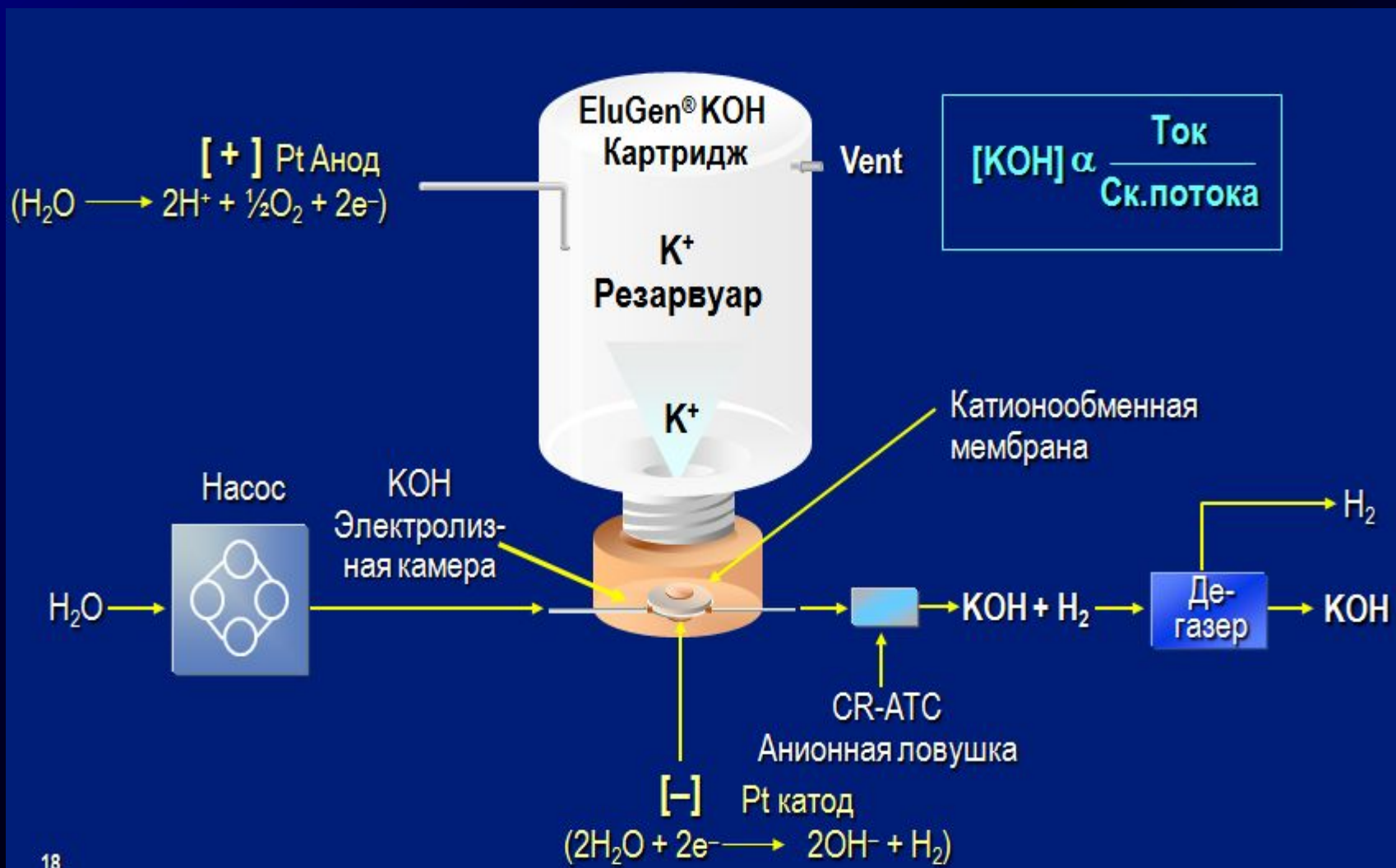
Мертвый объем систем подавления

Колоночная:	2 мл
Мембранная:	0.2 мл
Микромембранная:	0.05 мл

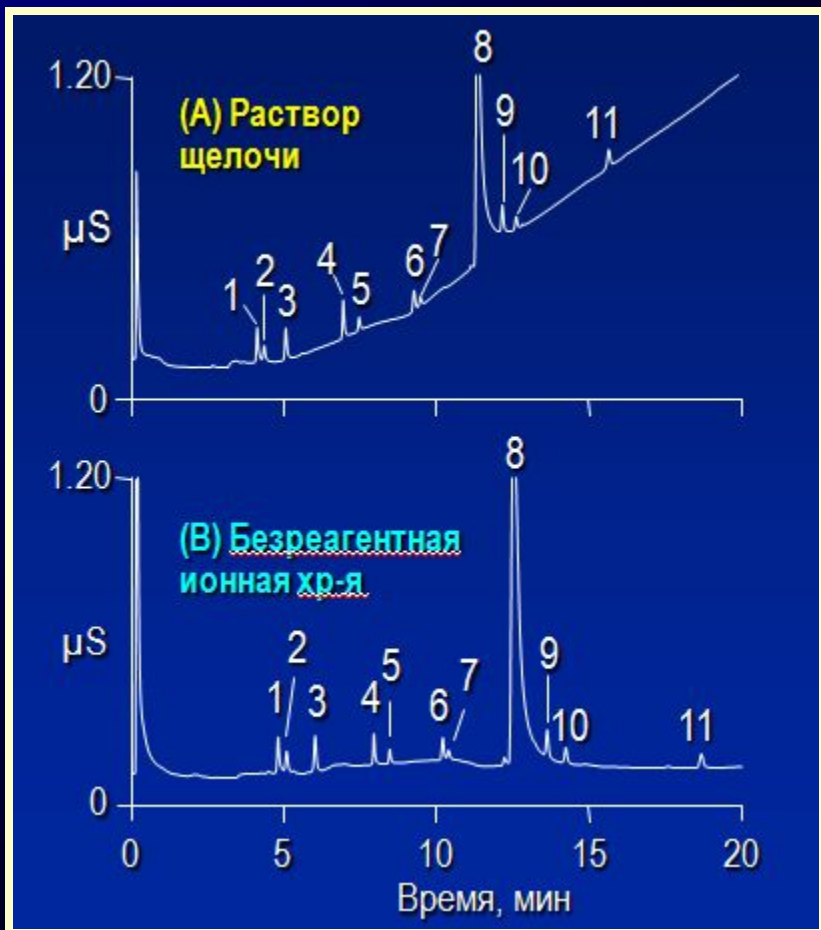
Рост эффективности



Принцип работы генератора элюента (KOH)



Улучшение характеристик определения следовых количеств анионов в режиме безреагентной ИХ



Колонка: IonPac® AG11, AS11, 2 mm

Элюент: (A) NaOH

(B) KOH (EGC-KOH cartridge)

0.5 mM до 2.5 мин, к 5.0 mM на 6 мин,
к 26 mM на 20 мин

Скорость подачи элюента: 0.5 мл/мин

Объем пробы: 1.0 mL

Подавитель: ASRS®

Детектирование: кондуктометрическое с
подавлением фоновой электропроводности

Пики: 1. Фторид 0.37 мкг/л (ppb)

2. Ацетат 1.0

3. Формиат 0.93

4. Хлорид 0.44

5. Нитрит 0.27

6. Бромид 1.0

7. Нитрат 0.33

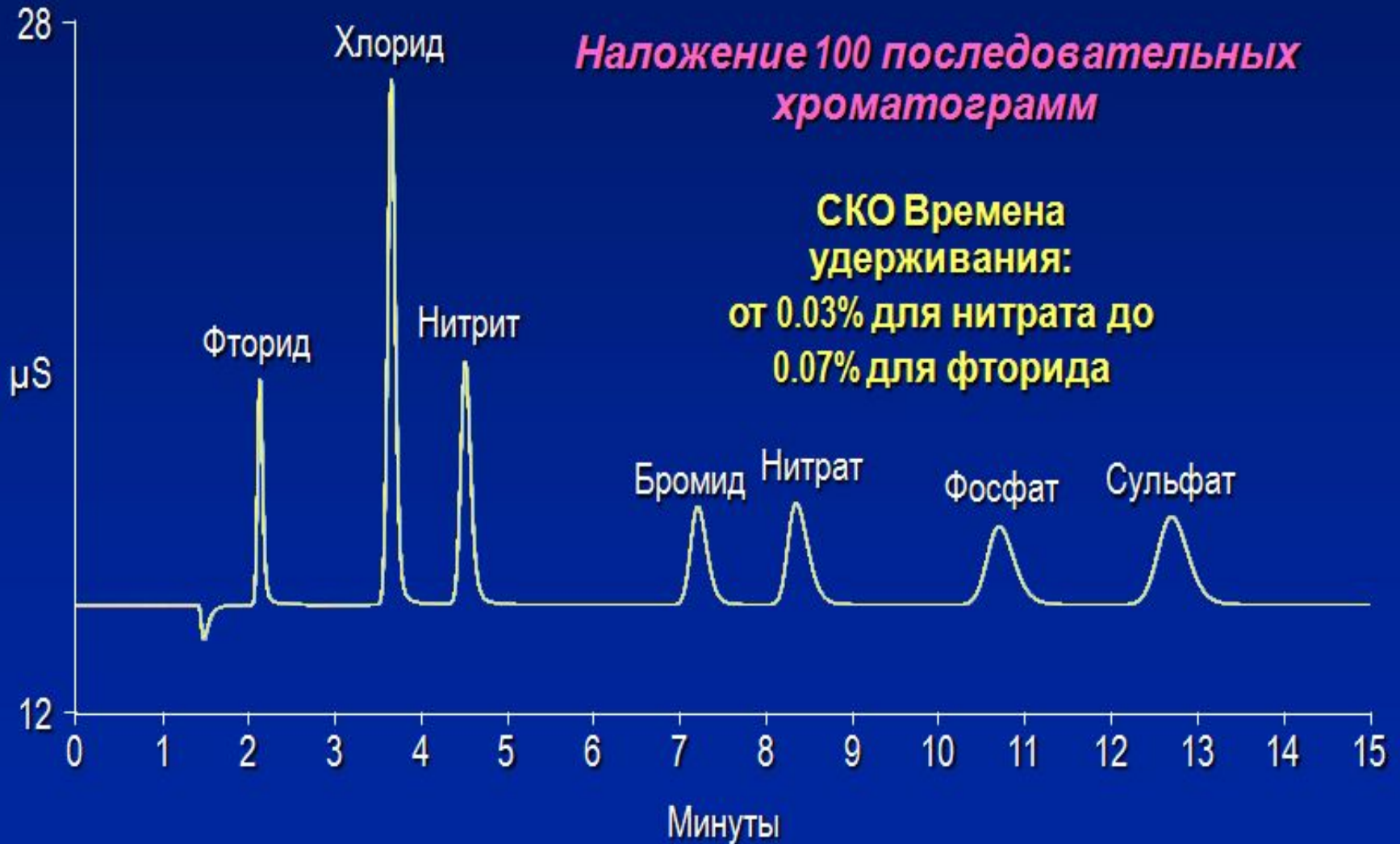
8. Карбонат —

9. Сульфат 0.64

10. Оксалат 0.39

11. Фосфат 1.1

Превосходная воспроизводимость анализа на системе ICS-3000 с генерацией элюента



Наиболее часто используемые элюенты при определении анионов с подавлением

Элюент	Элюирующий ион	Сила	Продукт подавит. р-ции
$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$	BO_3^-	Слабый	H_3BO_3
NaOH	OH^-	Слабый	H_2O
$\text{NaHCO}_3 /$ Na_2CO_3	$\text{HCO}_3^- / \text{CO}_3^{2-}$	Средний / сильный	H_2CO_3

Сравнение двухколоночной (ДК) и одноколоночной (ОК) ионной хроматографии

- Пределы обнаружения в ДК ниже на 1-2 порядка
- Эффективность разделения выше в ОК
- В ОК шире выбор элюентов и сорбентов

Детектирование в ионной хроматографии

Детектирование в ионной хроматографии

- Кондуктометрическое
- Спектрофотометрическое
- Электрохимическое
- Рефрактометрическое (в ионоэкслюзионной хр-фии)
- Другие

Эквивалентная электропроводность некоторых анионов и катионов

Анионы	Λ [S cm ² / (V*A*I)]	Катионы	Λ [S cm ² / (V*A*I)]
ОН ⁻	198	H ⁺	350
F ⁻	54	Li ⁺	39
Cl ⁻	76	Na ⁺	50
Br ⁻	78	NH ₄ ⁺	73
I ⁻	77	K ⁺	74
NO ₃ ⁻	71	Mg ²⁺	53
SO ₄ ²⁻	80	Ca ²⁺	60
Бензоат	32	Sr ²⁺	59
Фталат	38	Ba ²⁺	64

Оптимальные длины волн при СФ-детектировании некоторых анионов

Анионы	Измеряемая длина волны, нм
Бромид	200
Нитрат	215
Нитрит	207
Иодид	230
Хромат	365
Роданид	215
Тиосульфат	215
[MeCl]	215
[MeCN]	215

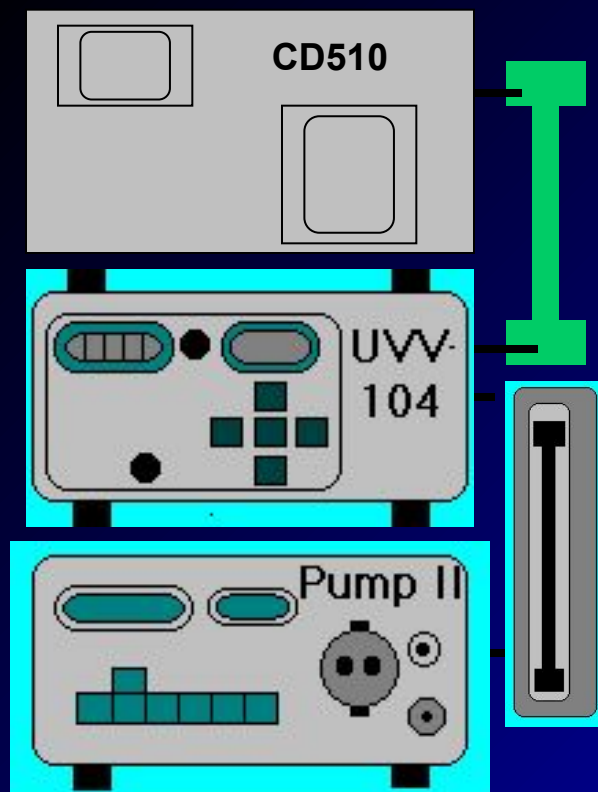
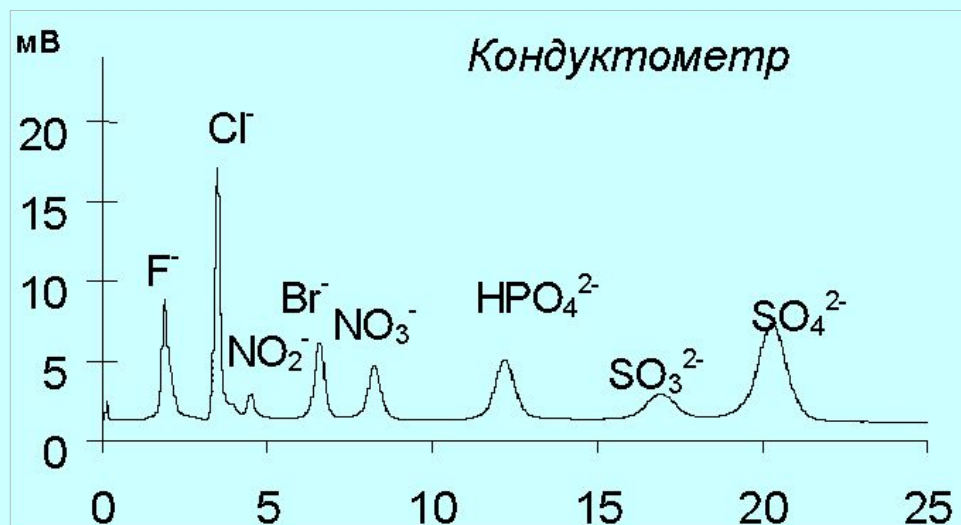
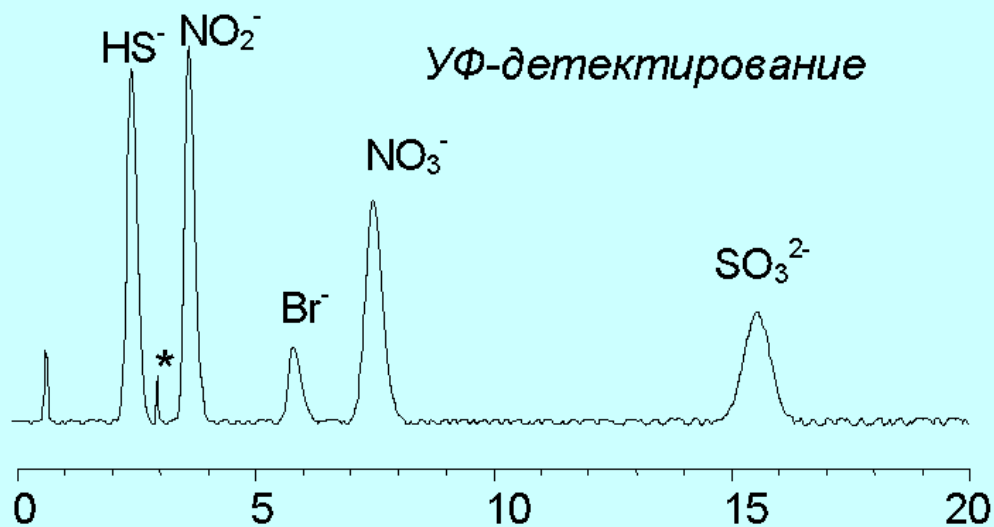
Основные соединения, определяемые амперометрическим детектором

- Нитрофенолы, аминафенолы
- Гидразин, метилгидразин, диметилгидразин,
- Цианид, роданид
- Основные типы сахаров
- Бромид, гидросульфид, арсенит, иодид, тиосульфат, сульфит, нитрит на уровне мкг/л
- Биогенные амины (тирамин)

Вещества, определяемые с флуоресцентным детектором

Соединение	Модифицирующий агент	Δ возб., , нм	Δ эмис., нм
Аминокислоты	Флуорескамин	275	370
Аминокислоты	Фталевый альдегид	310	450-600
Катехоламины	Фталевый альдегид	355	418
Биогенные амины	Флуорескамин	275	370

Определение анионов



Определение переходных металлов с постколоночной реакцией и спектрофотометрическим детектором

В элюент добавляют комплексообразующие добавки (различные органические кислоты)

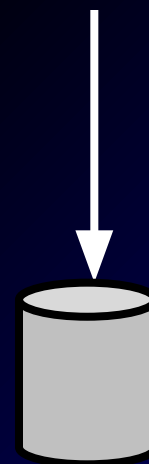
Применяет постколоночную реакцию с

пиридилазорезорцином,

пиридилазонафтолом,

Арсеназо-III и др.

Из колонки

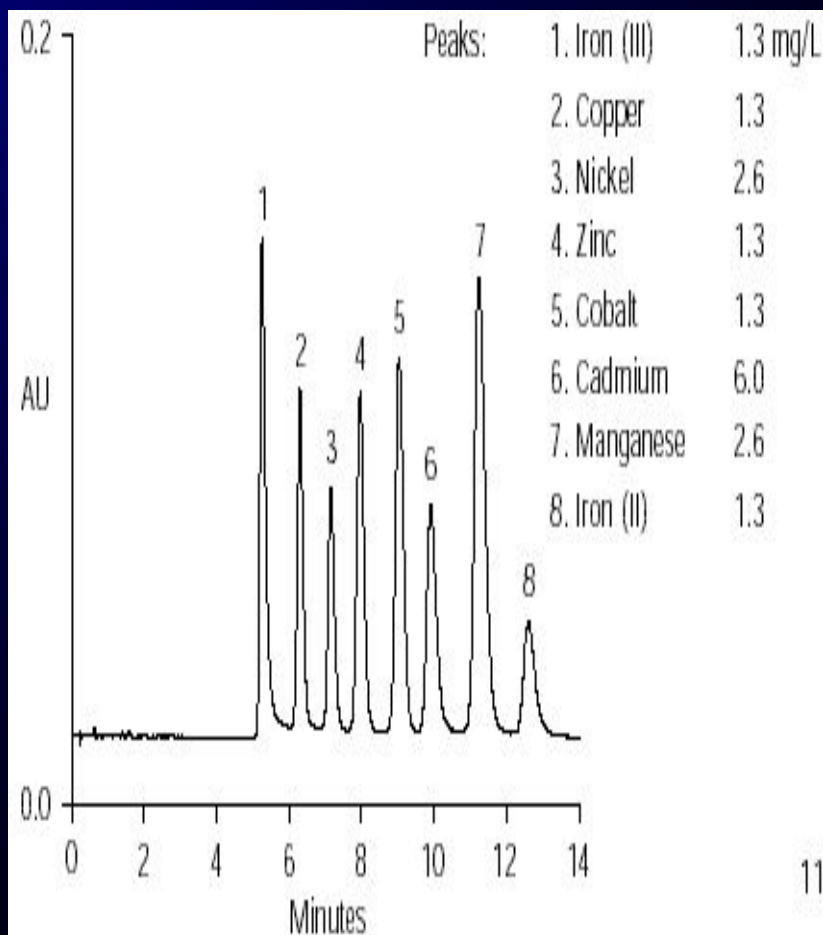


реагент

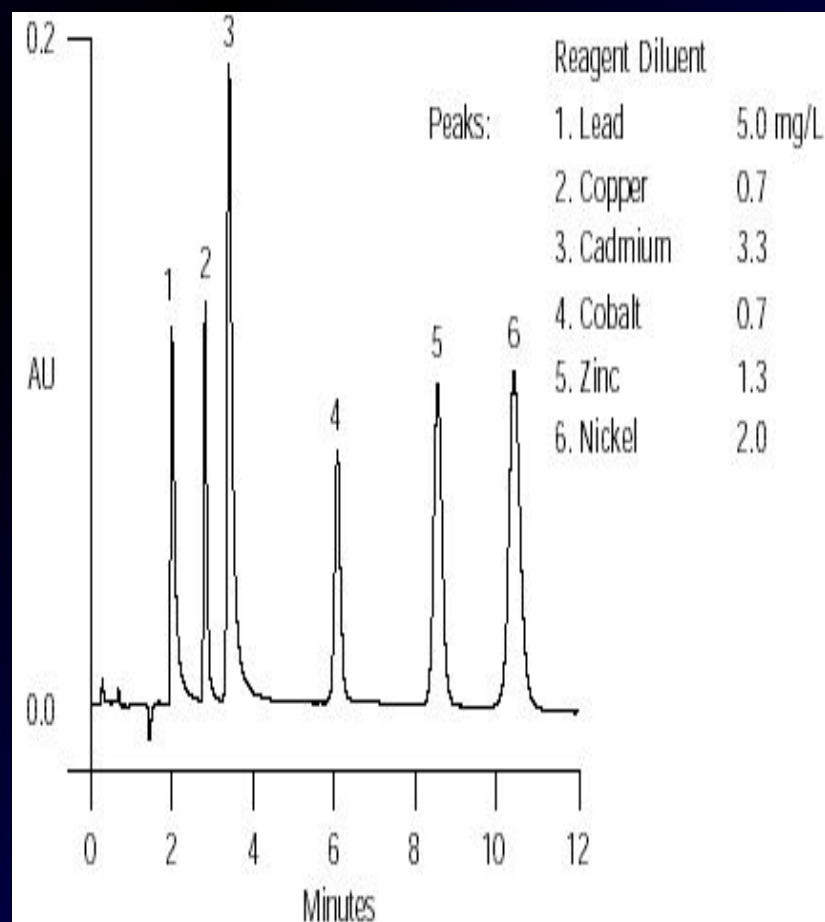
Детектирование при 520 нм

Определение переходных металлов с послеколоночной реакцией и спектрофотометрическим детектором

6 mM PDCA

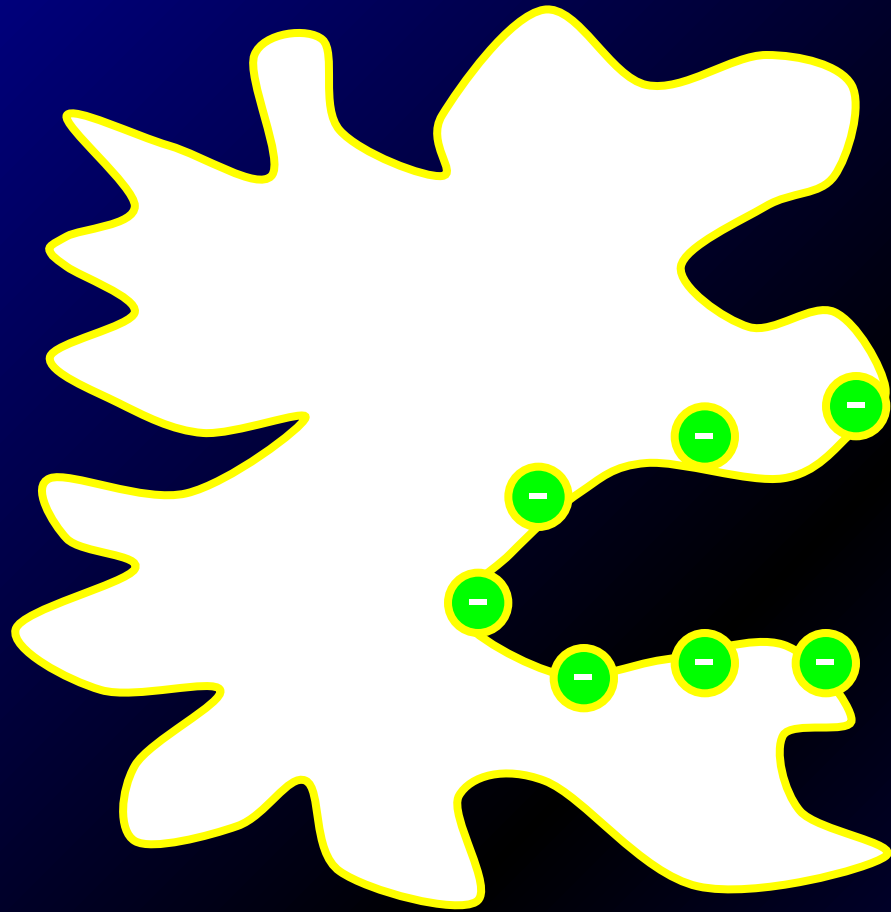


50 mM Щавелевая к-та

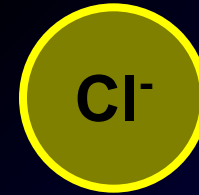


Ион-экслюзионная хроматография

Принцип ион-эксклюзионной хроматографии



$\text{pH} < 3$



Характеристики сорбента

Сорбент: сульфированный СДВБ

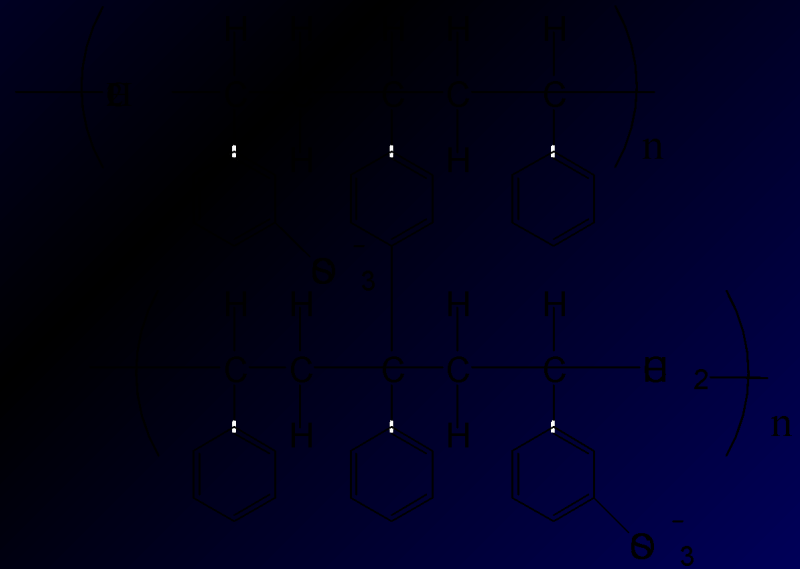
Степень сшивки: 4 и 8%

Емкость: 1 мэкв/г

Размер частиц: 8 мкм

Формы: Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Ag^{2+} , Pb^{2+} , H^+

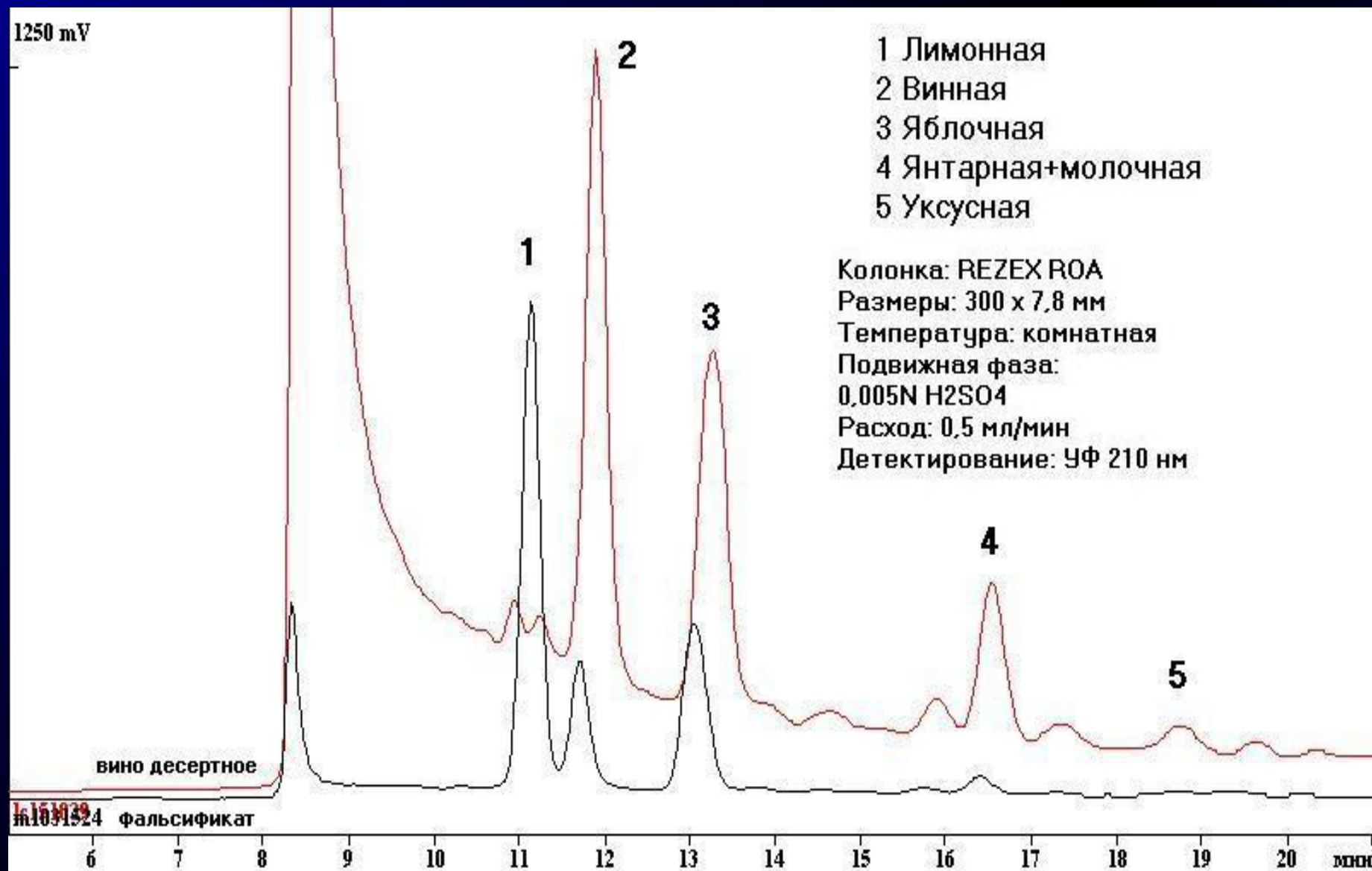
Геометрические размеры: 300x7,8; 200x10; 250x4,6; 100x7,8;



Закономерности удерживания органических кислот

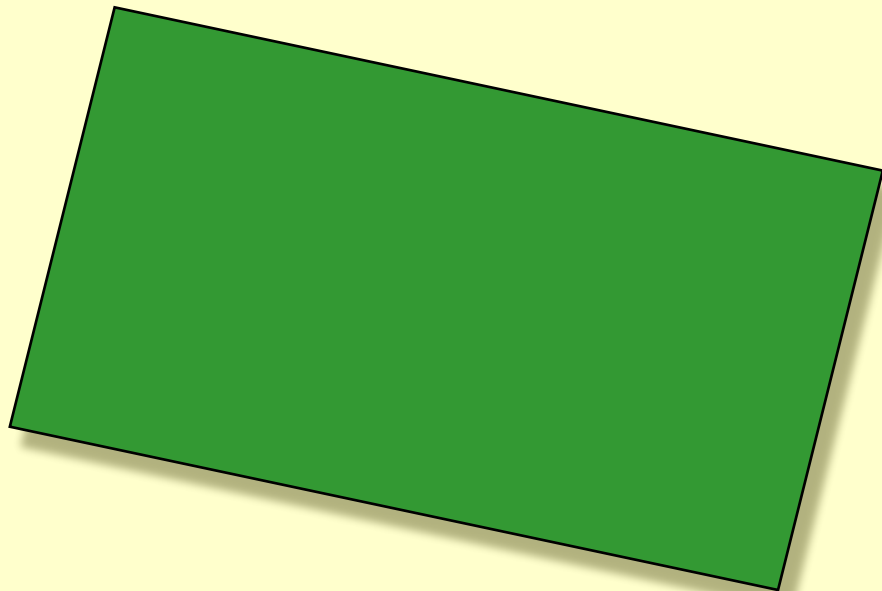
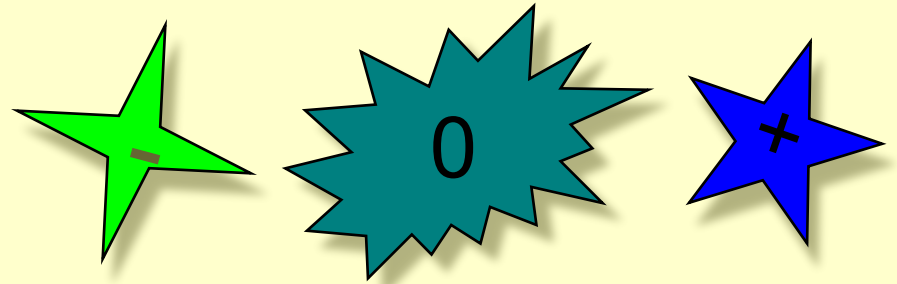
1. Увеличение pK_a ведет к возрастанию удерживания
2. Для кислот равной силы удерживание увеличивается с возрастанием гидрофобности молекулы (уменьшением растворимости в воде)
3. Двухосновные кислоты удерживаются слабее одноосновных
4. Кислоты изомерного строения удерживаются слабее соответствующих кислот нормального строения
5. Наличие двойных связей или бензольных колец в молекуле кислоты увеличивает удерживание

Контроль качества напитков

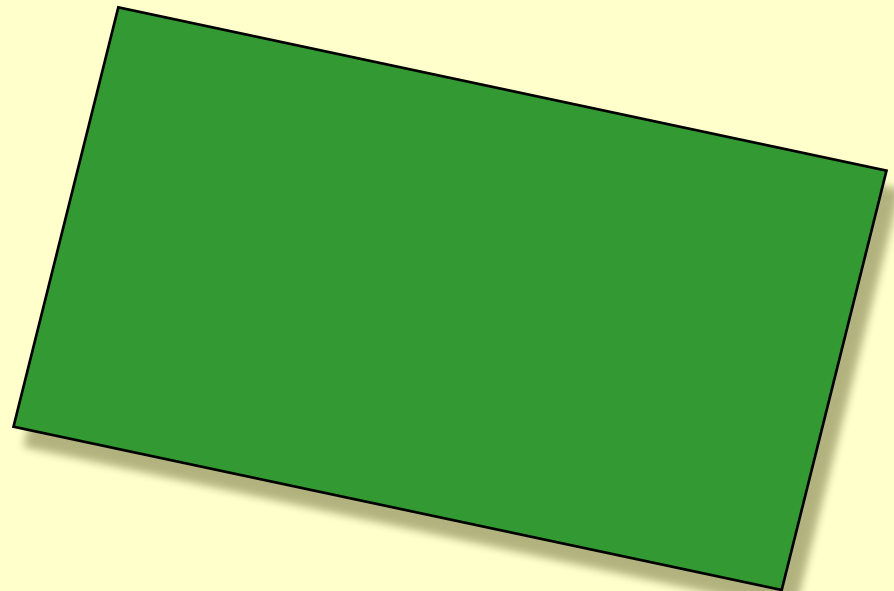


Ион-парная хроматография

Механизм (I) ион-парной хроматографии

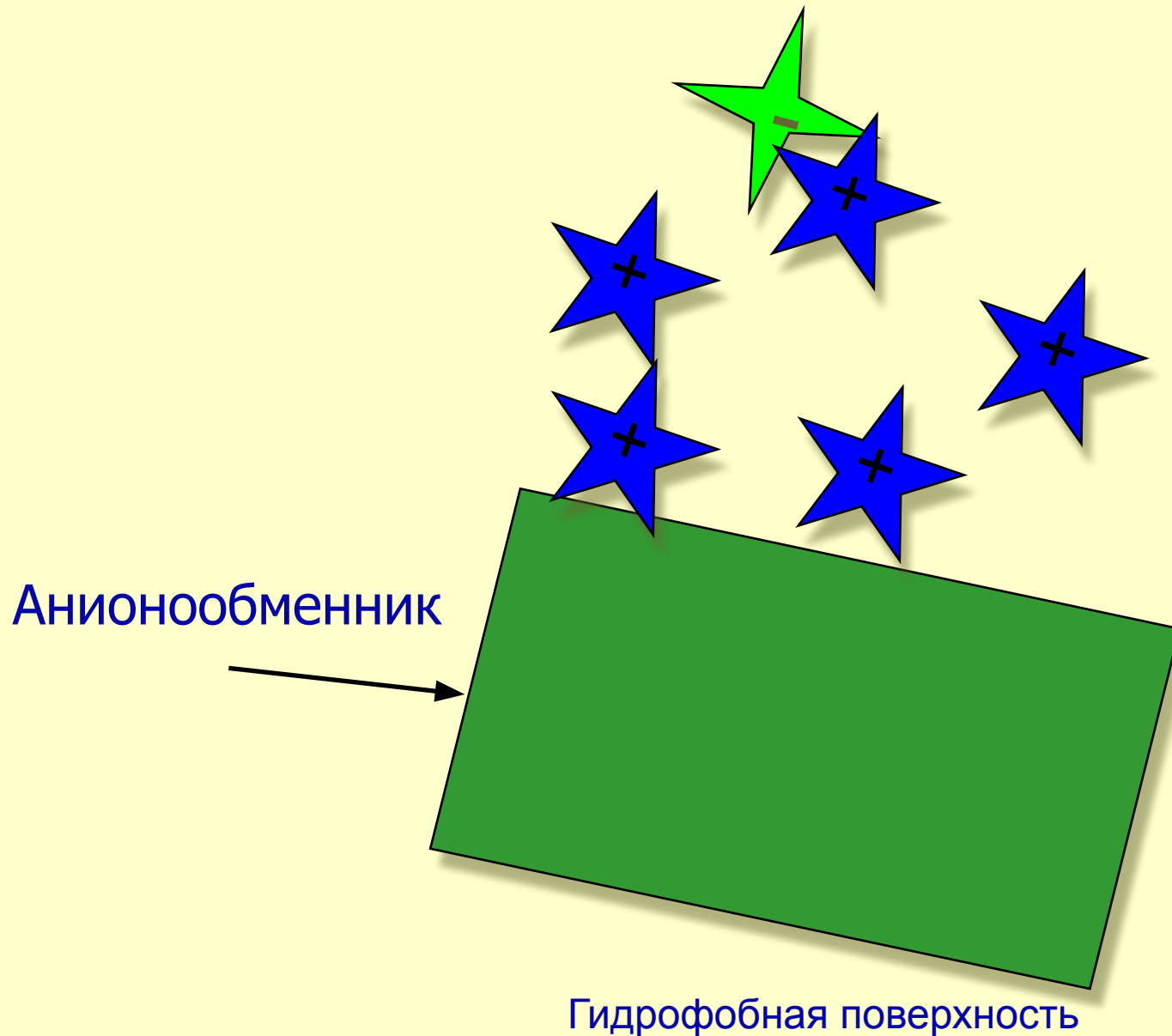


Гидрофобная поверхность



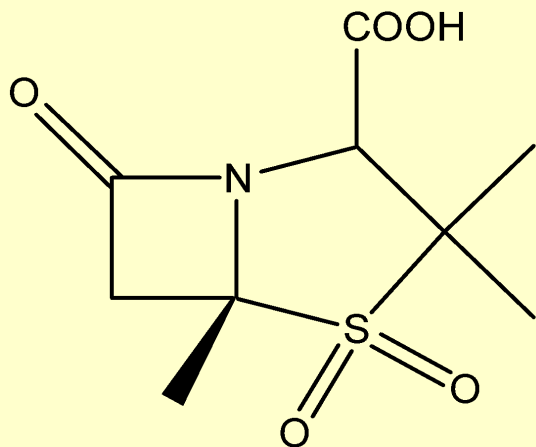
Гидрофобная поверхность

Механизм (II) ион-парной хроматографии

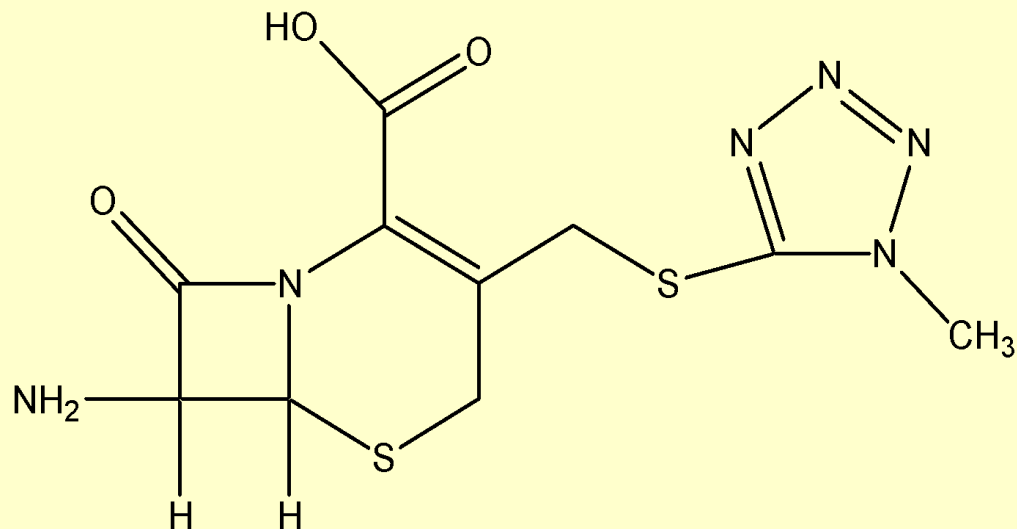


Ион-парная хроматография

Сульбактам

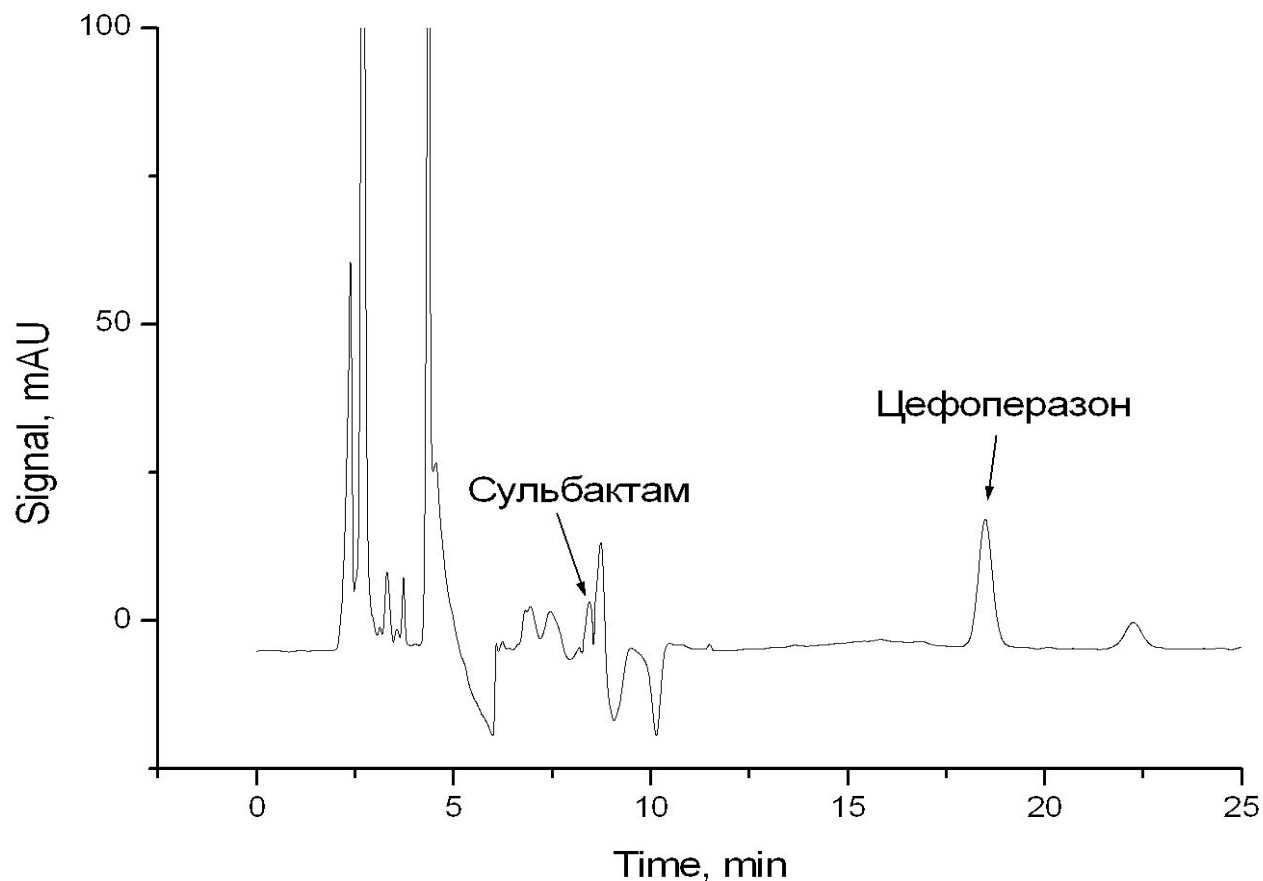


Цефоперазон



Хроматограмма образца плазмы крови содержащей сульбактам и цефоперазон

Предел обнаружения 4 мг/л



В элюенте – добавка бромида тетрабутиламмония

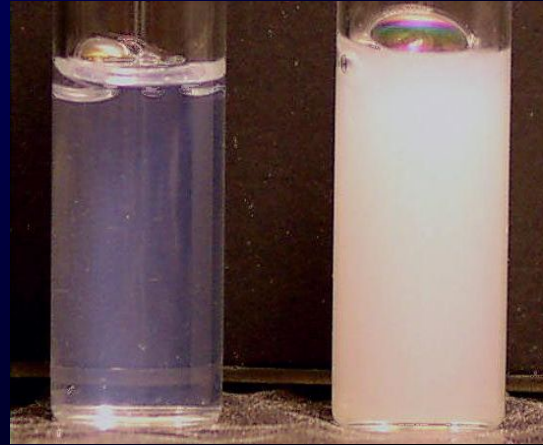
Нано (микроэмульсии)

Микроэмульсии — **термодинамически стабильные, оптически прозрачные** коллоидные системы, состоящие из двух жидкостей с ограниченной взаимной растворимостью, стабилизированных пленкой молекул поверхностно-активного вещества.

Микроэмульсии состоят из сферических капель (**диаметр ~ 20-100 нм**) воды в «масле» либо «масла» в воде, в зависимости от количества отдельных компонентов и от природы ПАВ.

Микроэмульсии и Макроэмульсии

Микроэмульсия →



Макроэмульсия
(молоко)

Микроэмульсии

Макроэмульсии

Термодинамически стабильны

Размер капель 20 - 100 нм
(прозрачна)

Площадь поверхности: $> 200 \text{ м}^2/\text{г}$

Поверхностное натяжение
($10^{-2} - 10^{-3} \text{ мН/м}$)

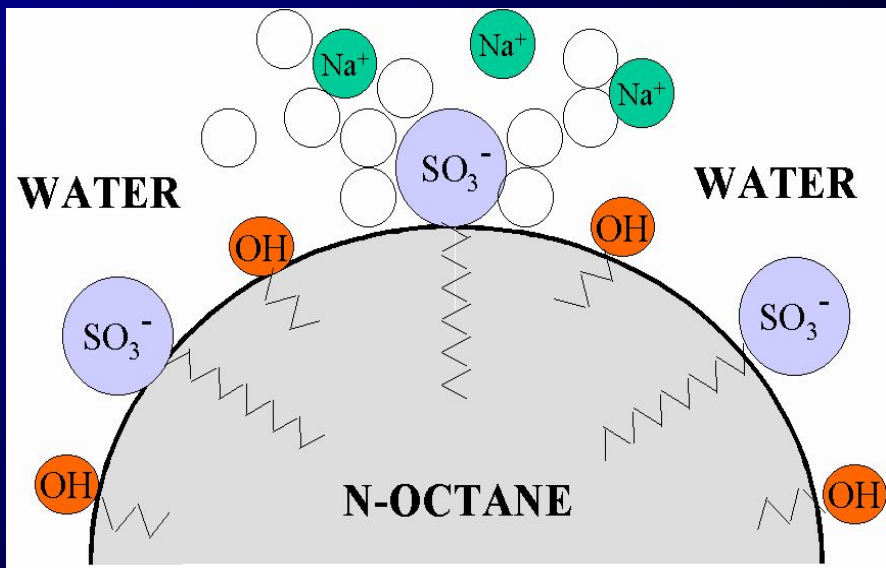
Кинетически стабильны

Размер капель 1-10 мкм
(непрозрачна)

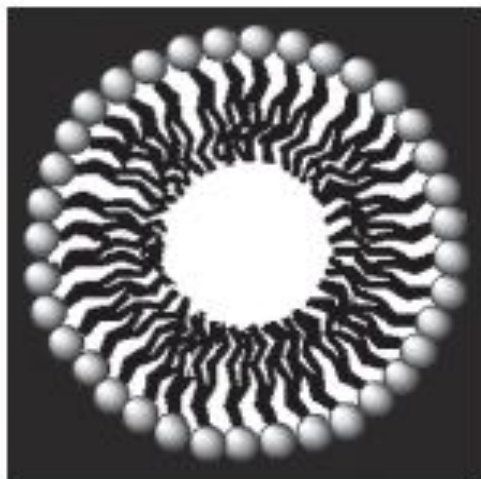
Площадь поверхности: $15 \text{ м}^2/\text{г}$

Поверхностное натяжение
(1-10 мН/м)

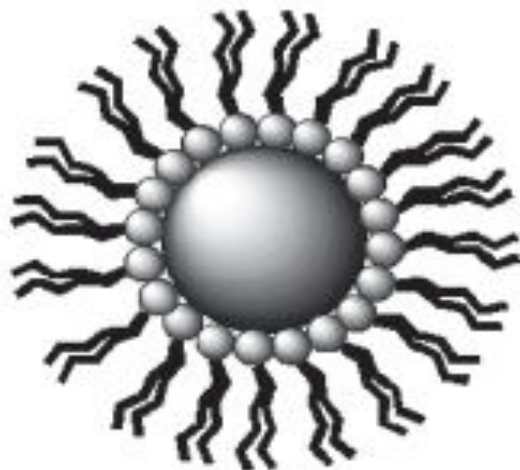
Структура микроэмульсии



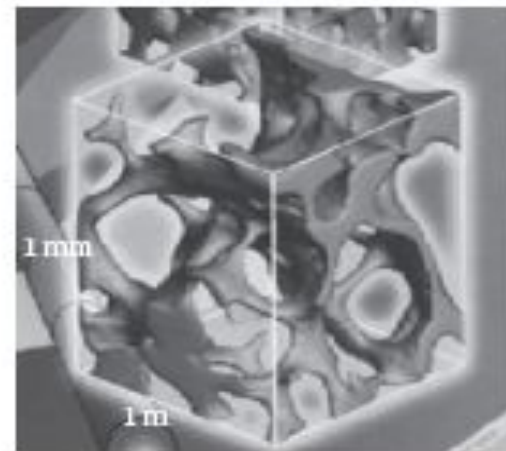
Типы микроэмульсий:
А – «масло в воде»
В – «вода в масле»
С – биконтинуальная микроэмульсия



(A)



(B)



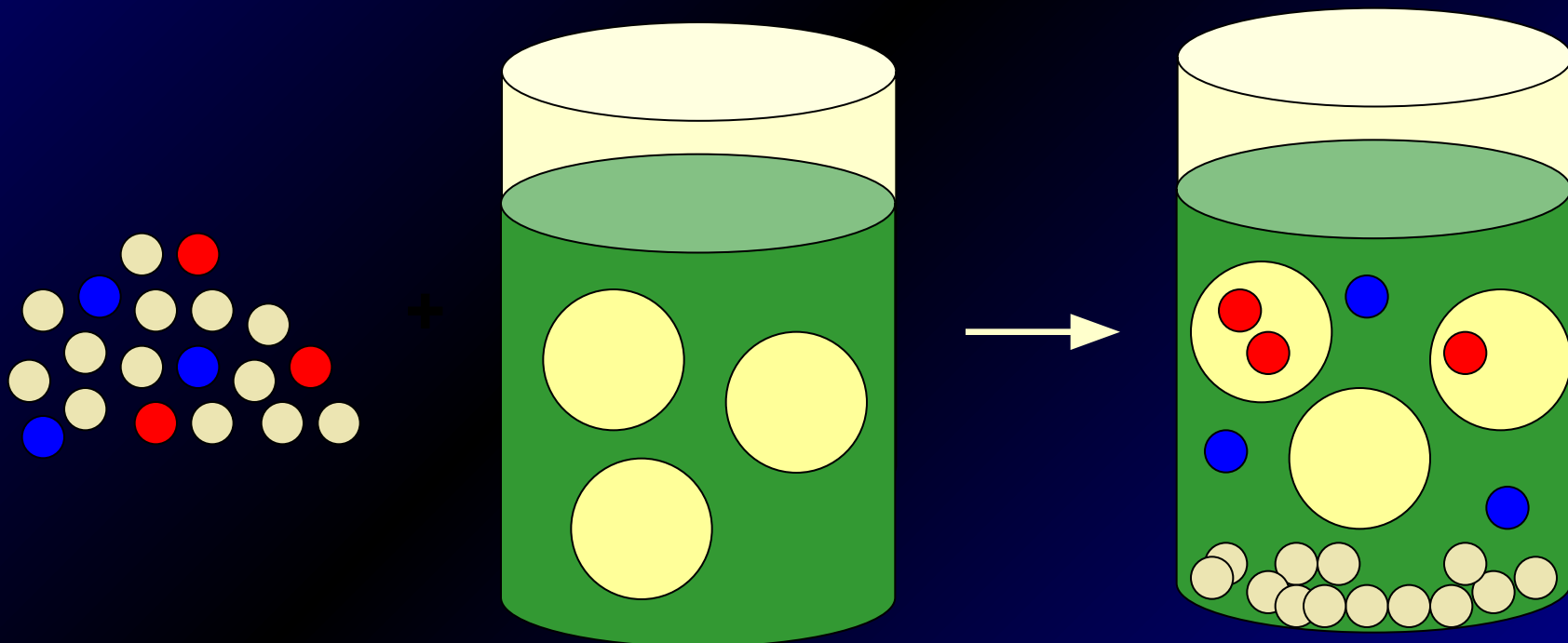
(C)

Достоинства микроэмульсий

- Макрогетомогенны
- Оптически прозрачны и устойчивы
- Большая площадь поверхности
- Участки с повышенной энергией
- Каталитические и стабилизационные свойства
- Размер, сопоставимый с размером клеточных органел и стенок
- Относительно легко получаютя
- Приемлемая вязкость и биосовместимость
- Много параметров варьирования (разнообразие свойств)

Микроэмульсии как экстрагирующий реагент

Благодаря наличию водной и органической фазы,
часто достигается количественное извлечение
гидрофильных и гидрофобных веществ



Использование наноэмульсий для пробоподготовки

Косметические и лекарственные средства в кремовой, гелевой и мазевой формах

Особенность: сложная матрица с высоким содержанием жира

Сравнение различных методов пробоподготовки. Тестовые соединения:
капсаицин, коэнзим Q₁₀. (n=3, P=0.95)

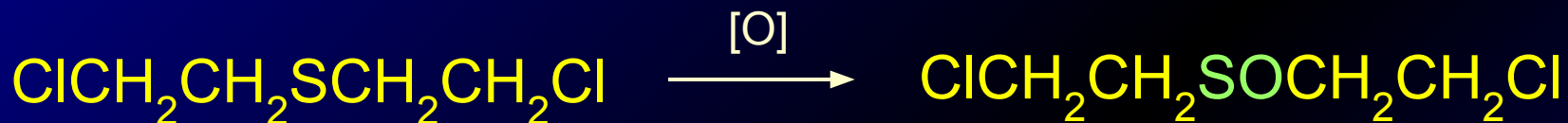
Метод пробоподготовки	Степень извлечения, %	
	Капсаицин	Q ₁₀
Экстракция бутанолом	86 ± 2	10 ± 3
Экстракция водой	30 ± 1	-
Экстракция гексаном с последующим упариванием и перерастворением в подвижной фазе	8 ± 2	44 ± 9
Экстракция гексаном в аппарате Сокслета с последующим упариванием и перерастворением	14 ± 6	68 ± 11
Экстракция метанолом в аппарате Сокслета	90 ± 10	17 ± 6
Растворение образца в наноэмульсии	100 ± 2	97 ± 4

Микроэмульсии как «катализатор» целевых процессов

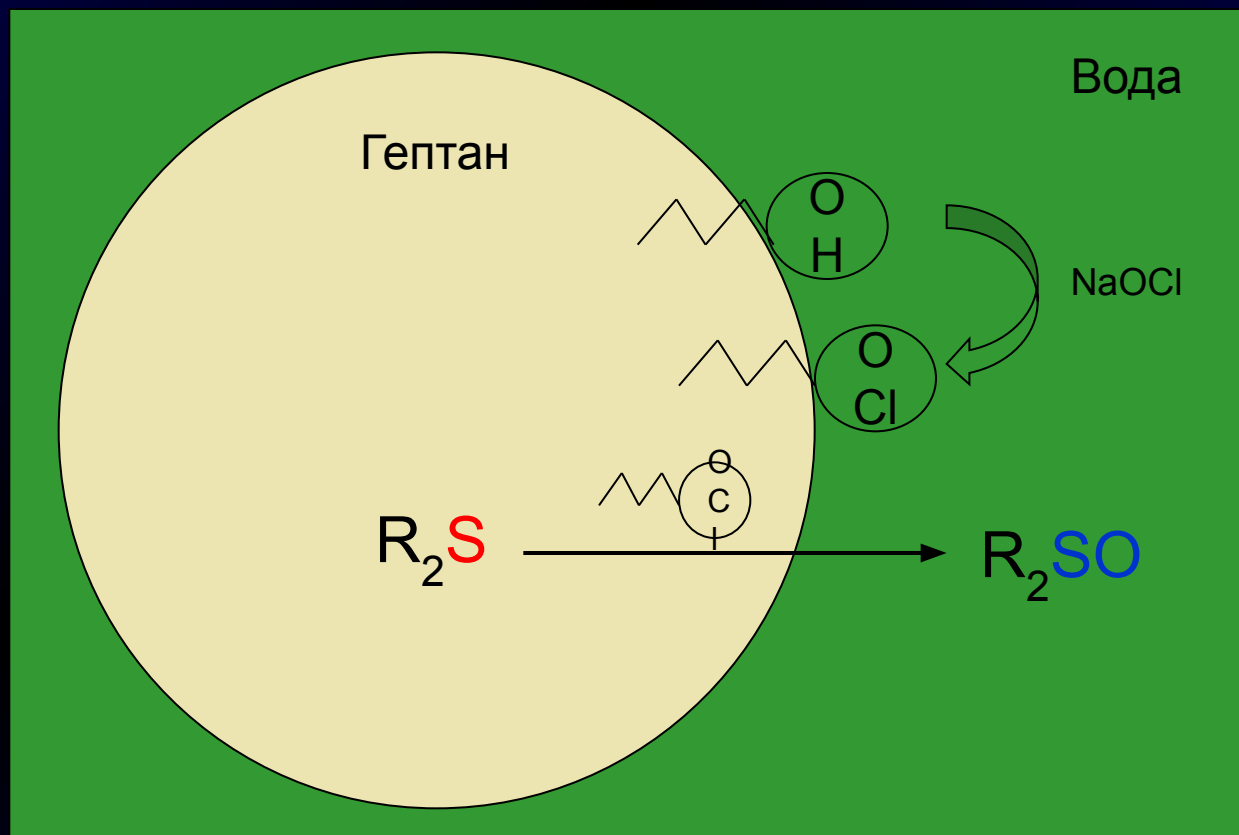
Поверхность капли микроэмульсии постоянно обновляется. Возникают области с повышенной энергией, которые могут играть роль катализационно-активных сайтов.

Возможное применение – ускорение реакций, проведение реакций при комнатных температурах и т.п.

Окисление «горчичного газа» гипохлоритом натрия



Система	Время реакции
Вода	> 6 ч
Вода- ДДСН- гептан- бутанол	< 15 с



Проблемы современной ВЭЖХ

Трудоемкость и ресурсоемкость пробоподготовки

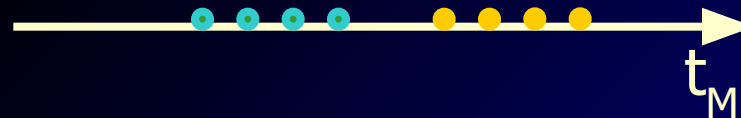
Трудности одновременного изократического
определения при значительной разнице в
гидрофобности

 Гидрофильное в-во

 Гидрофобное в-во



Надо



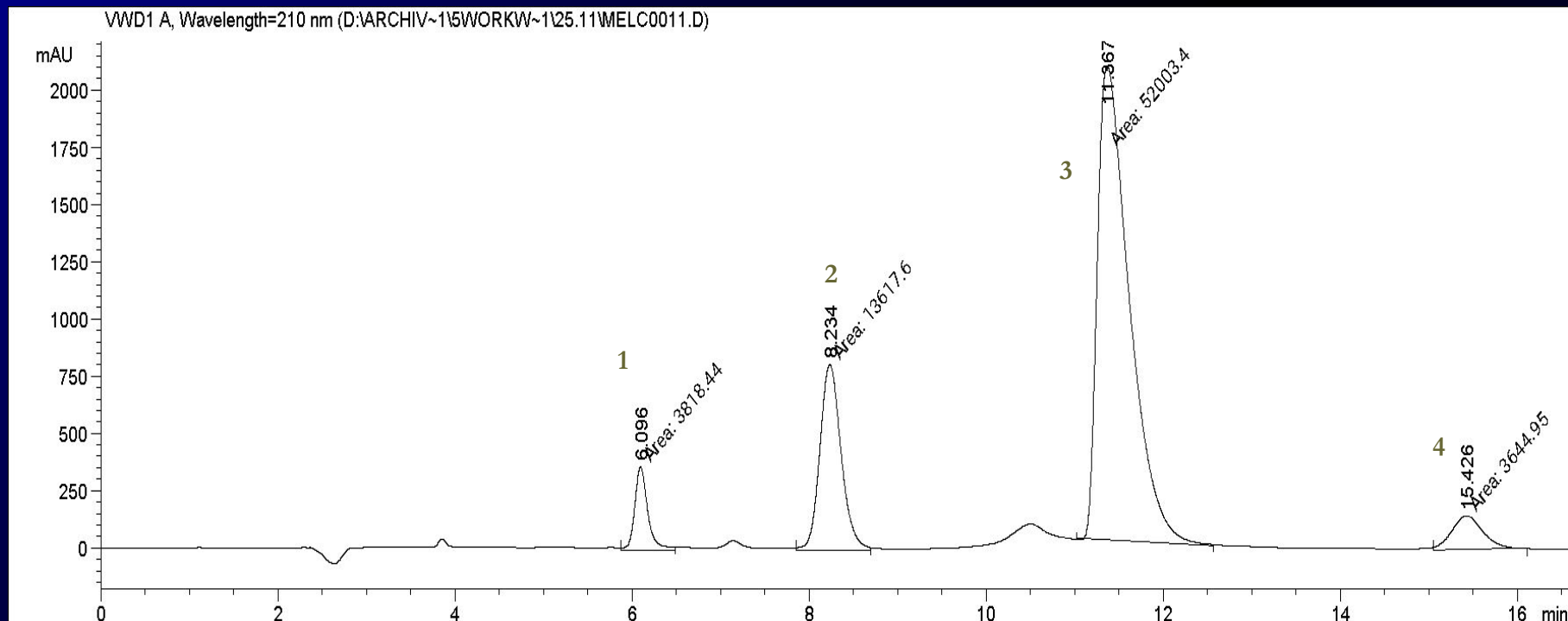
Особенности при использовании микроэмульсий в качестве подвижных фаз в хроматографии

- Высокое давление в хроматографической системе
- Эмульсии типа «вода в масле» плохо совместимы в градиентном режиме с водными растворами

Возможные способы снижения давления

1. Снижение скорости потока подвижной фазы
2. Повышение температуры элюента
3. Использование монолитных неподвижных фаз

Использование монокристаллических неподвижных фаз в микроэмульсионной жидкостной хроматографии



Хроматограмма экстракта из препарата Финалгон.

1 – сорбиновая кислота, 2 – нонилваниламид, 3 – никобоксил, 4 – диэтоксипропиладипат

Колонка Grace Smart RP C18 4.6×150 мм, 3 мкм.

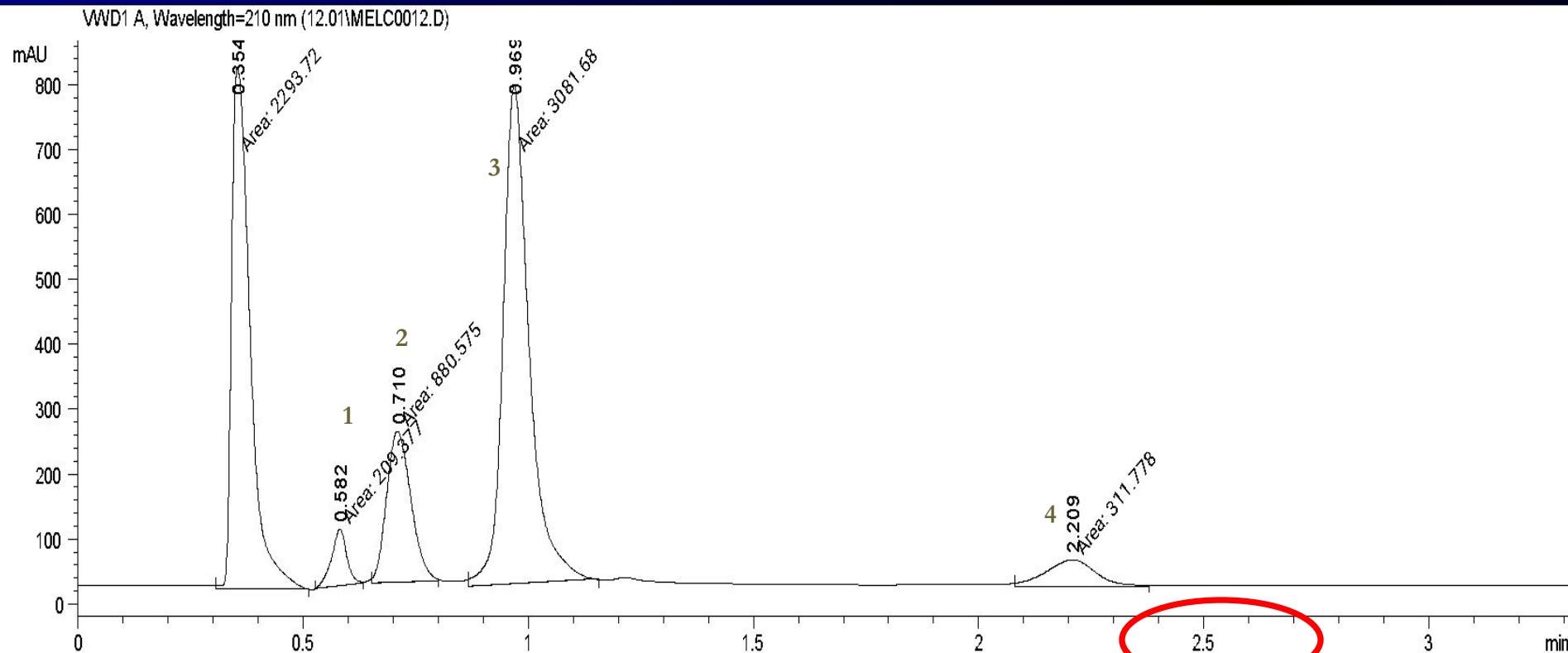
Микроэмульсия: 3,3% ДДСН; 1% *n*-гептан; 8% *n*-бутанол; 0,05% ТФУ.

Скорость потока **0,5 мл/мин**. Температура разделения 40°C.

Спектрофотометрическое детектирование при 210 нм.

Давление в системе **100 бар**.

Использование монокристаллических неподвижных фаз в микроэмульсионной жидкостной хроматографии



Хроматограмма экстракта из препарата Финалгон.

1 – сорбиновая кислота, 2 – нонилваниламид, 3 – никобоксил, 4 – диэтоксипропиладипат

Колонка Onyx Monolithic C18 3×100 мм.

Микроэмульсия: 3,3% ДДСН; 1% *n*-гептан; 8% *n*-бутанол; 0,05% ТФУ.

Скорость потока **1,5 мл/мин**. Температура разделения 30°C.

Спектрофотометрическое детектирование при 210 нм.

Давление в системе **40 бар**

**Выбор
варианта хроматографии
в зависимости от задачи**

Определяемое
вещество

М.м. < 2000

М.м. > 2000

М.м. ?

Летучее в-во?

Варианты
эксклюзивной
хроматографии

Да

Нет

Неорган. газы?

Можно ли перевести
в летучее ?

Нет

Да

ГАХ

Нет

ГЖХ

Да



Основные преимущества хроматографии

- Высочайшая селективность
- Правильность и воспроизводимость результатов химического анализа
- Многокомпонентность анализа
- Низкие пределы обнаружения (*0.1 мкг/л*)
- Широкий диапазон линейности (*1-1000 мкг/л*)
- Малый расход пробы (*1 мл*)
- Экспрессность анализа
- Простота эксплуатации и возможность полной автоматизации