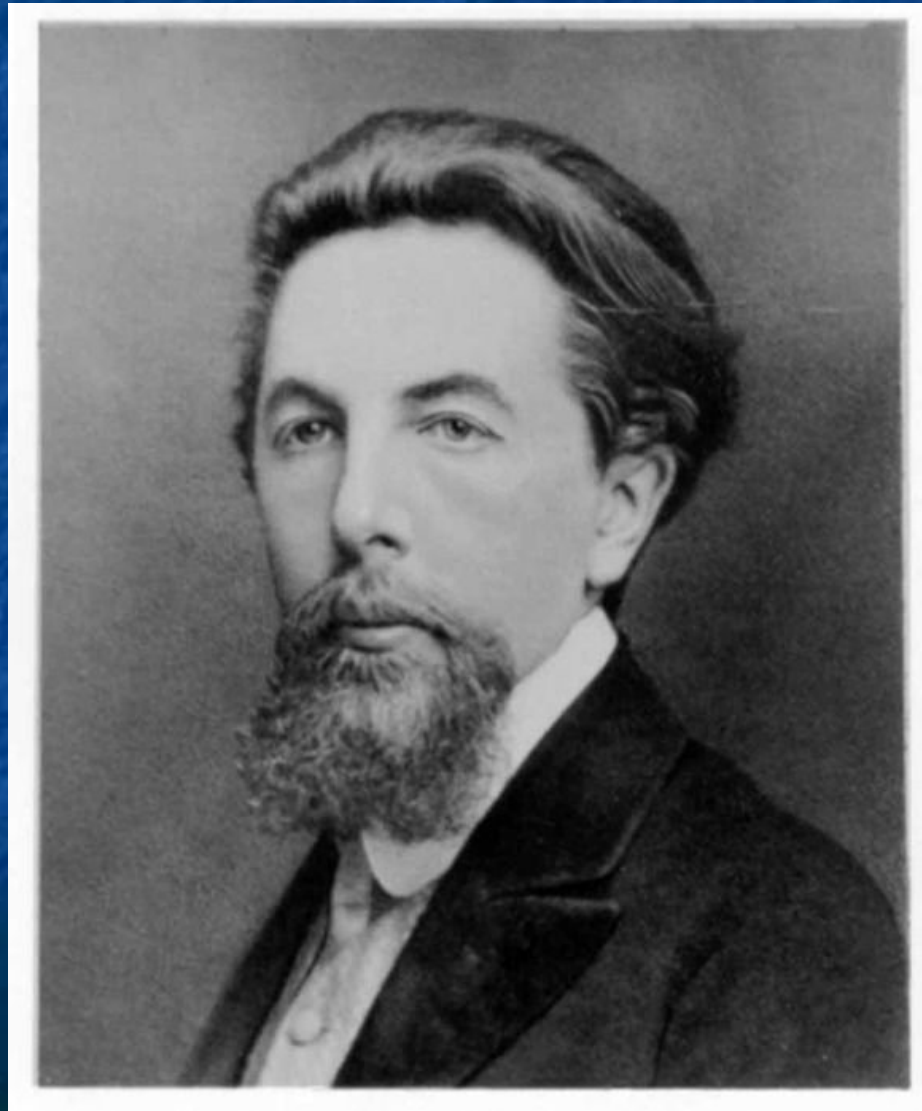


***ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ
МЕТОДЫ АНАЛИЗА***

Хроматография –

физико – химический метод
разделения и анализа смеси
веществ, основанный на раз-
личном распределении компо-
нентов между двумя несме-
шивающимися фазами.

Создатель метода –
Михаил Семенович Цвет



Основные понятия

Сорбция – поглощение газов, паров и растворенных веществ твердыми или жидкими поглотителями (сорбентами);

Сорбтив – вещество, молекулы которого способны сорбироваться;

Сорбат – вещество в адсорбированном состоянии;

Элюирование – процесс перемещения веществ вместе с подвижной фазой через слой неподвижной фазы

Элюент – растворитель или газ, проходящий через слой неподвижной фазы – **подвижная фаза**;

Элюат – подвижная фаза, выходящая из колонки и содержащая разделенные компоненты

Классификация по агрегатному составу фаз

Газовая
хроматография

Газо-твёрдофазная
хроматография

Газо-жидкостная
хроматография

Сверхкритическая
флюидная
хроматография

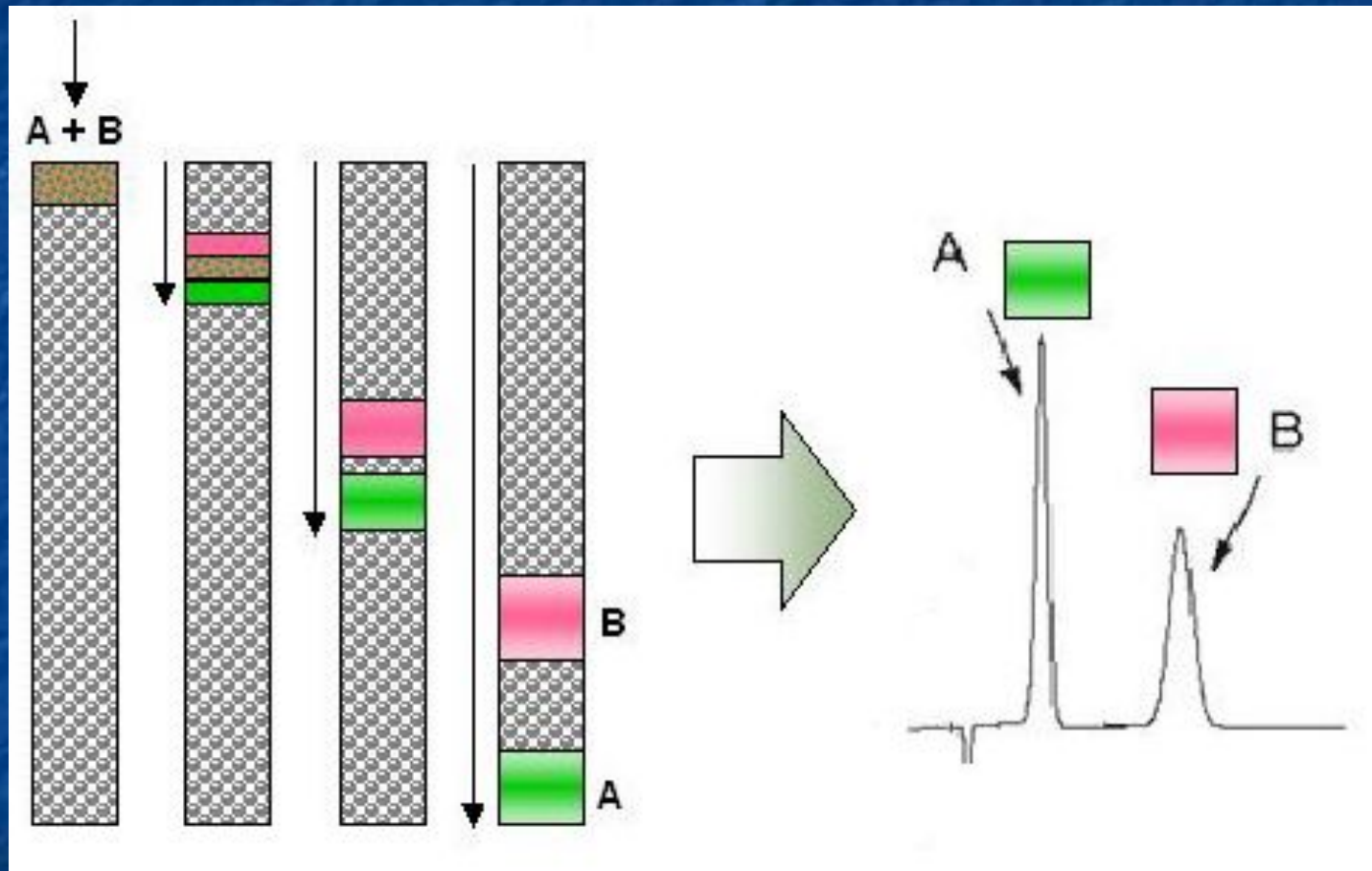
Жидкостная
хроматография

Жидкостно-
жидкостная
хроматография

Жидкостно-твёрдофазная
хроматография

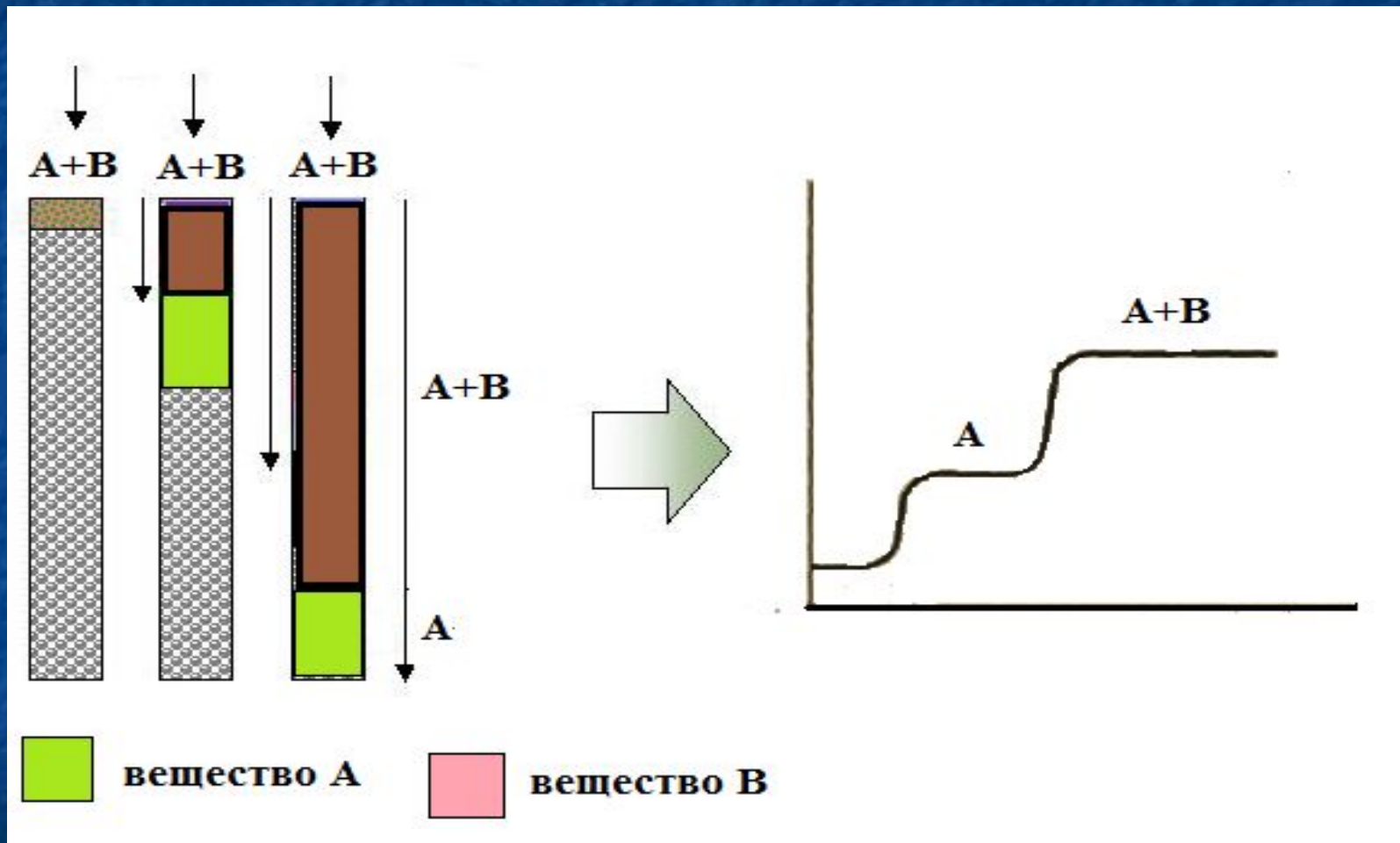
Жидкостно-гелевая
хроматография

По способу перемещения сорбатов вдоль слоя сорбента



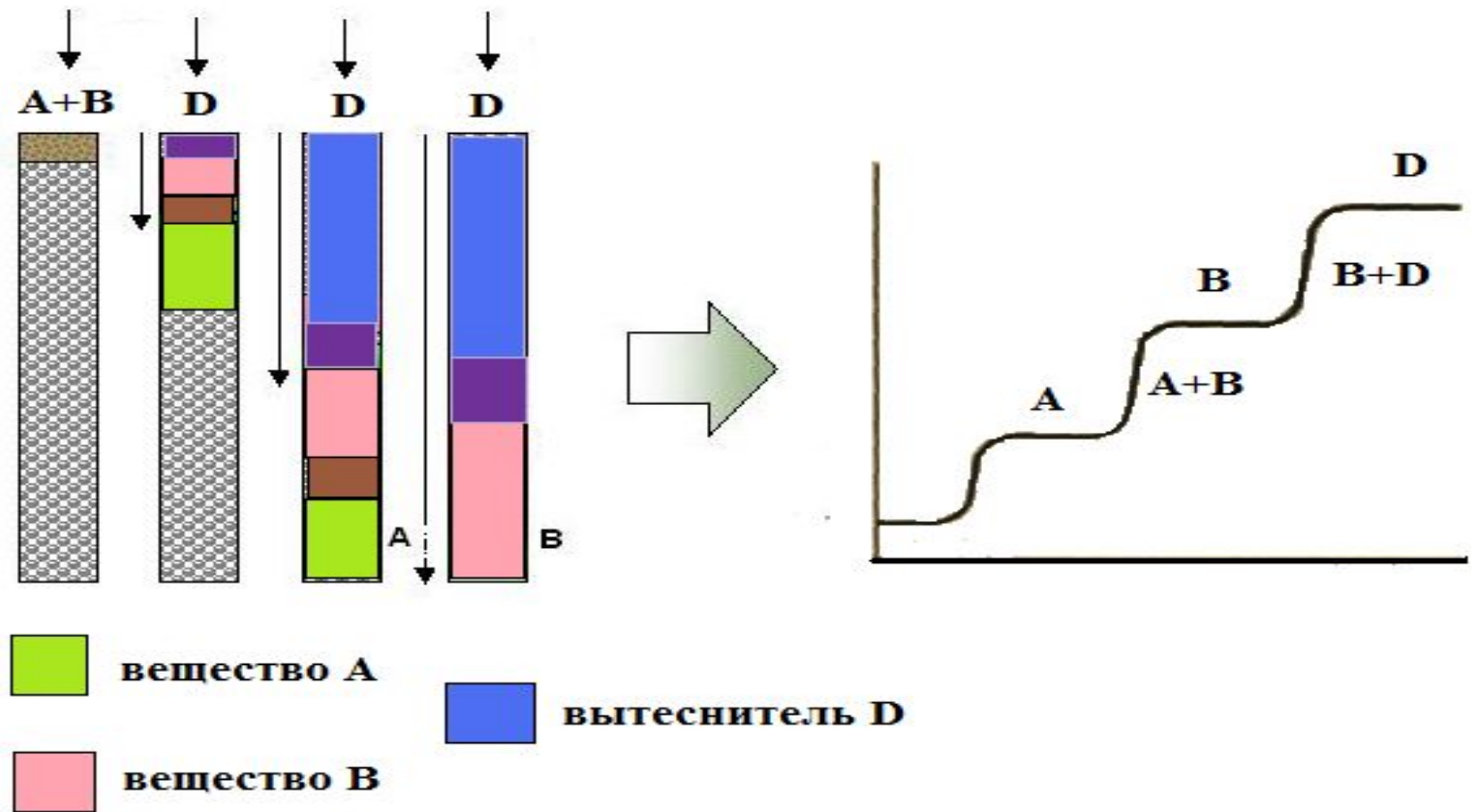
элюентная (проявительная)

По способу перемещения сорбатов вдоль слоя сорбента



фронтальная

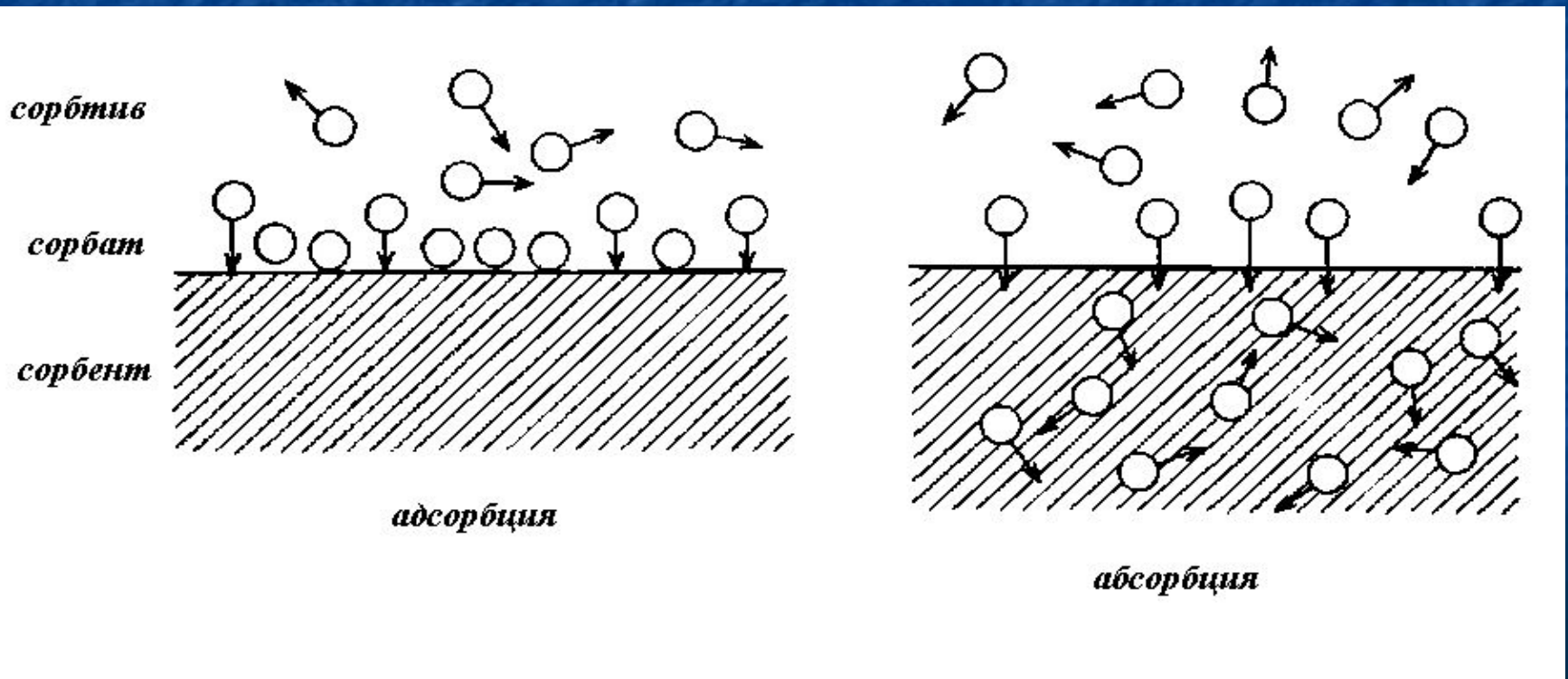
По способу перемещения сорбатов вдоль слоя сорбента



ВЫТЕСНИТЕЛЬНАЯ

В зависимости от природы процесса:

Адсорбционная — основана на различной *адсорбции* веществ *твёрдой неподвижной фазой*;



Распределительная – основана на различной *растворимости* сорбатов в *жидкой* неподвижной фазе;

Ионообменная - основана на различной способности к *ионному* обмену веществ с *ионогенными* группами неподвижной фазы;

Осадочная – основана на различной *растворимости осадков*, получающихся после реакции взаимодействия с осадителем, содержащимся в неподвижной фазе;

Эксклюзионная (*молекулярно – ситовая* или *гелевая*) – основана на различии в размерах и формах молекул разделяемых веществ;

Аффинная — основана на *специфических* *взаимодействиях* биологических объектов (ферментов, и т.д.) с группами на поверхности твердой фазы.

В зависимости от способа оформления процесса:

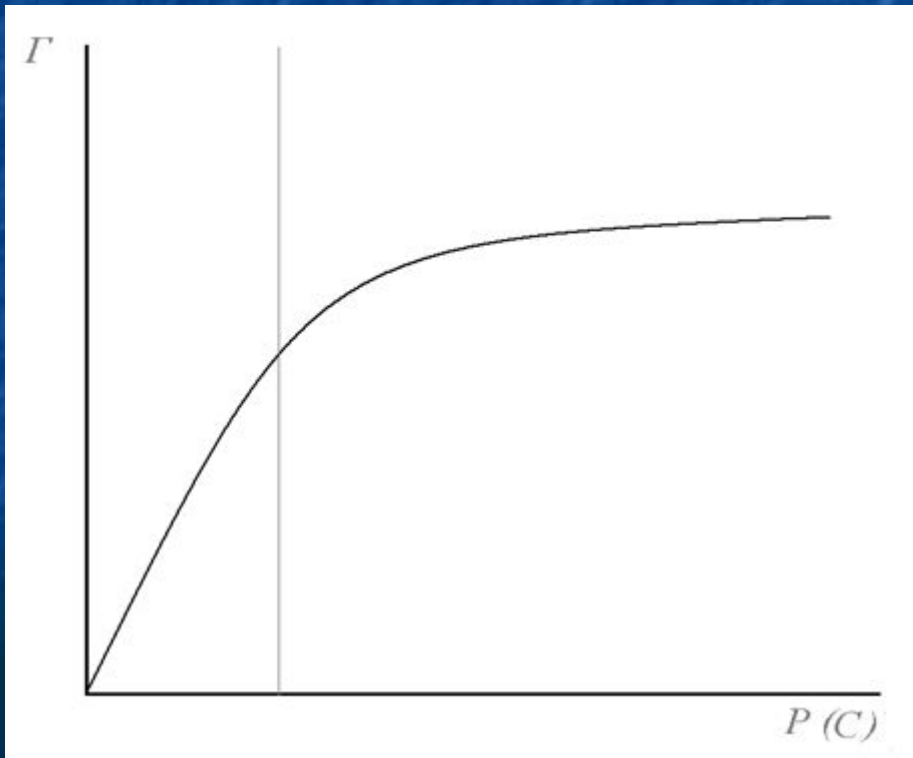
Колоночная – процесс разделения проводят в *колонках*, заполненных неподвижной фазой;

Плоскостная – процесс разделения проводят на *хроматографической бумаге (бумажная)* или *тонком слое сорбента*, нанесенном на подложку (**тонкослойная**).

Основа процесса хроматографии –
неравновесная адсорбция

Изотерма адсорбции Ленгмюра

$$\Gamma = \Gamma_{\max} kC / (1 + kC)$$



В области *низких давлений (концентраций)*:

$$\Gamma = \Gamma_{\max} kC$$

уравнение Генри

Эффективность разделения компонентов определяется числом теоретических тарелок (N).

! Чем больше N и уже их высота (H), тем эффективнее колонка

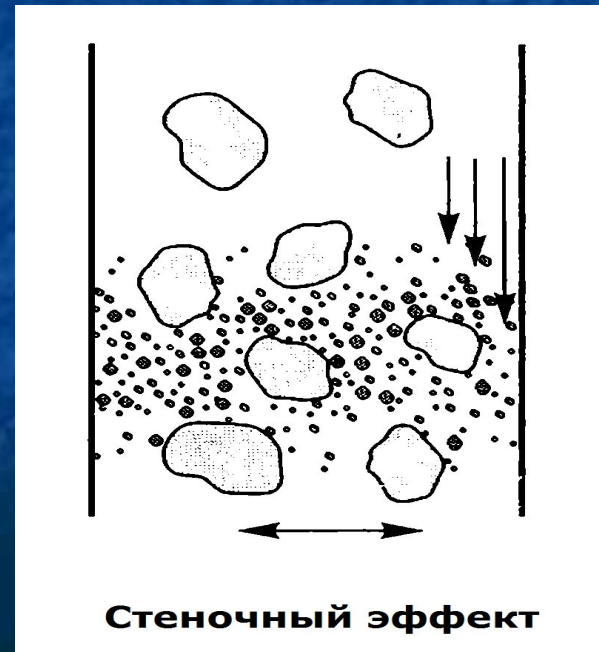
Высота, эквивалентная теоретической тарелке – ВЭТТ – (H) определяется:

$$H = A + \frac{B}{\bar{u}} + C\bar{u}$$

A – вихревая диффузия:

$$A = 2\lambda d_p$$

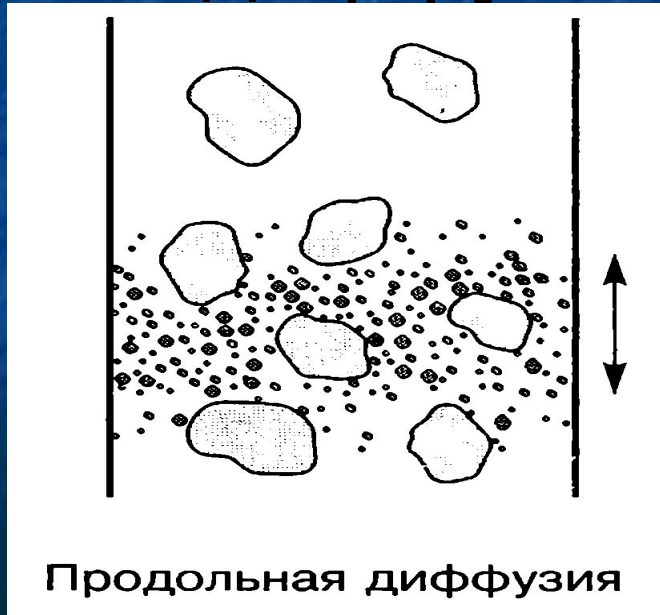
где λ – характеристика набивки колонки, d_p – диаметр зерна сорбента



B – продольная (осевая) диффузия –
диффузия компонентов в подвижной
фазе:

$$B = 2\gamma D_M$$

где γ – эмпирический коэффициент, D_M
– коэффициент диффузии



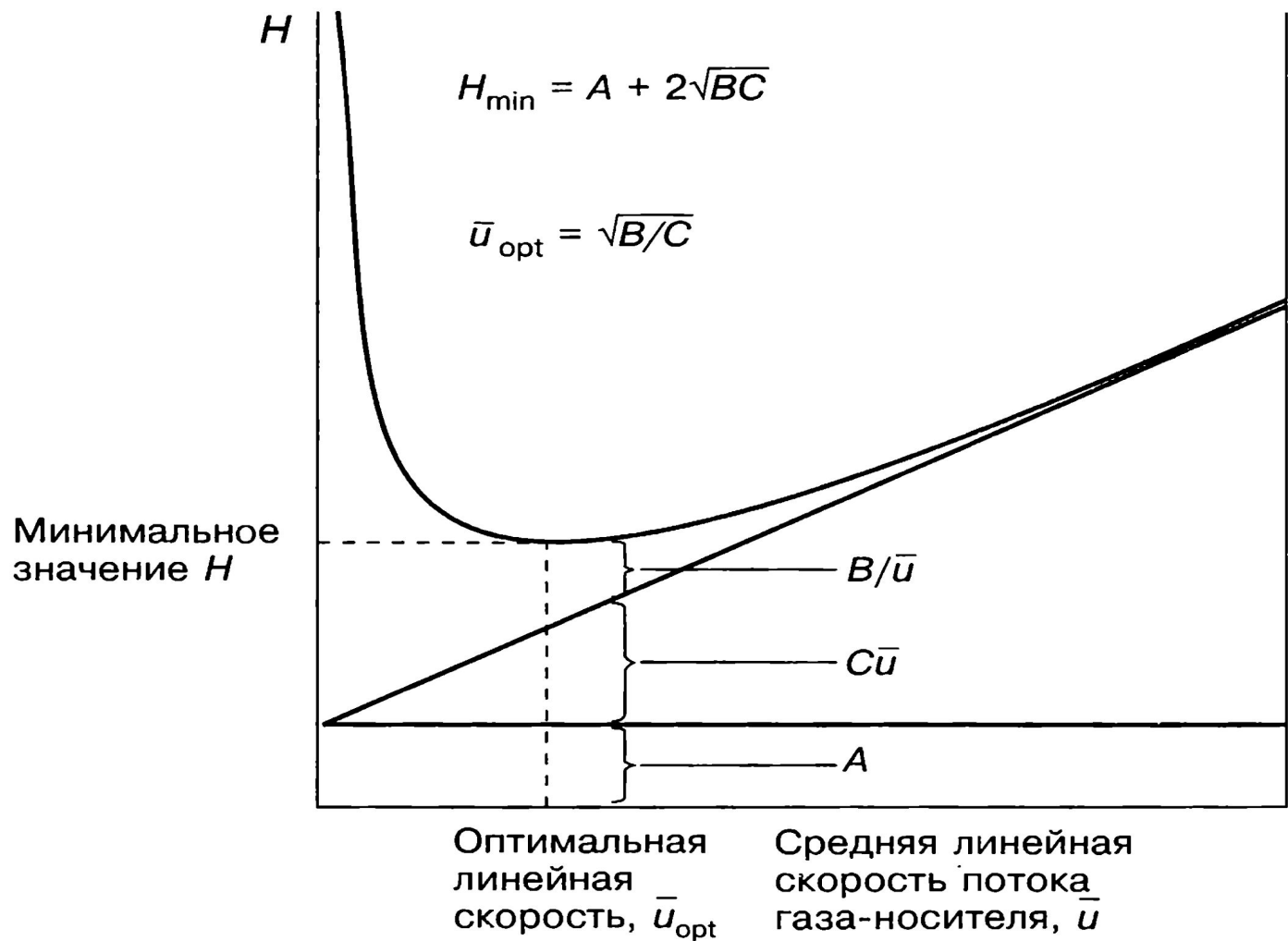
C – внутренняя диффузия – зависит от способности адсорбироваться на неподвижной фазе;

u – линейная скорость потока

$$\bar{u} = \frac{L}{t_M}$$

L – длина колонки, **t_M** – время удерживания несорбируемого компонента.

Зависимость ВЭТТ от линейной скорости потока:



Газовая хроматография - это метод
разделения *летучих соединений*,
основанный на распределении
веществ между *подвижной фазой (ПФ)*
- **газом** и *неподвижной фазой (НФ)* с
сорбентом с большой площадью
поверхности

Подвижная фаза - инертный газ
(азот, гелий, водород, аргон,
углекислый газ), протекающий через
НФ;

! ПФ выполняет только *транспорт-*
ную функцию

! ПФ должна обеспечивать мак-
симальную чувствительность детек-
тора

Неподвижная фаза

В газо-адсорбционной хроматографии - твердый сорбент с развитой мелкопористой поверхностью; *размер зерен 0.1-0.5 мм*



силикагель



активный уголь



**полимерные
адсорбенты**



алюмосиликаты

В газо-жидкостной хроматографии -
пленка жидкости, нанесенная на
поверхность твердого носителя

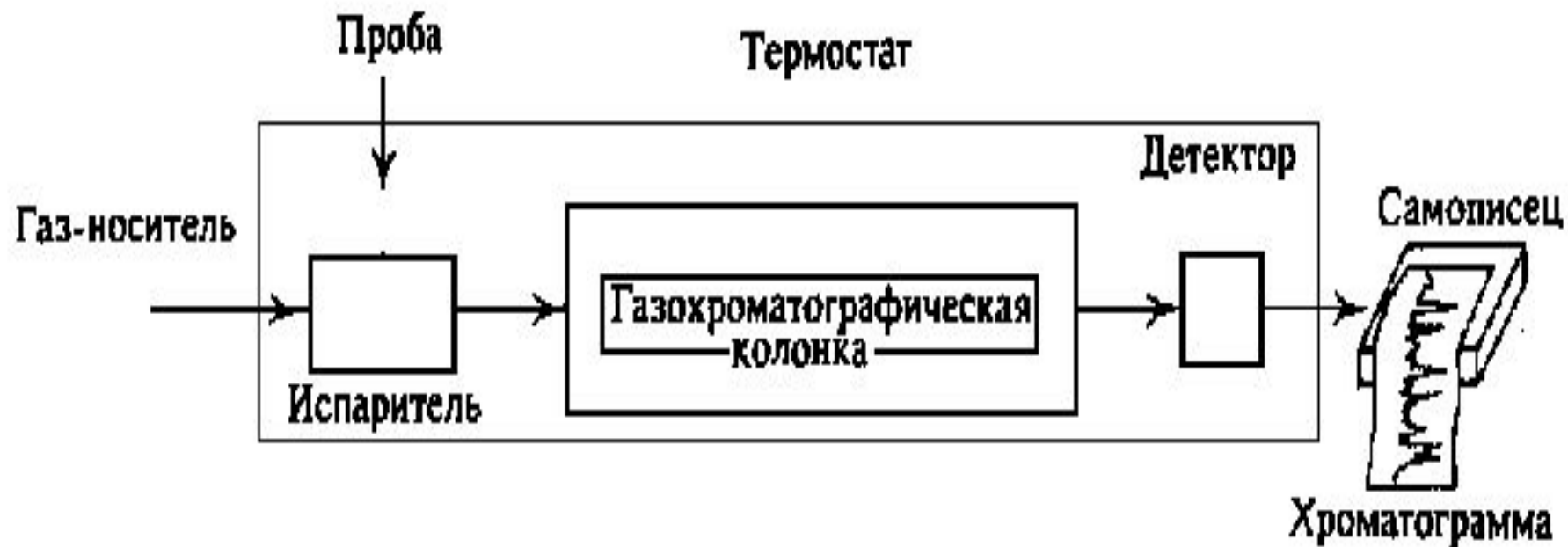
Типы жидкой НФ:

- *Неполярные* (насыщенные углеводороды);
 - *Умеренно полярные* (сложные эфиры, нитрилы);
 - *Полярные* (многоатомные спирты, гликоли)
- !** *Полярность НФ должна быть близка к полярности веществ анализируемой пробы*

Требования к жидкой НФ :

- 1) хорошо растворять компоненты смеси;
- 2) прочно удерживаться на твердом носителе;
- 3) быть термически устойчивой;
- 4) быть нелетучей при данной температуре;
- 5) обладать высокой селективностью;
- 6) быть химически инертной.

Схема газового хроматографа



Блок подготовки газов



Газ-носитель



Фильтр
влаги



Фильтр
углеводородов



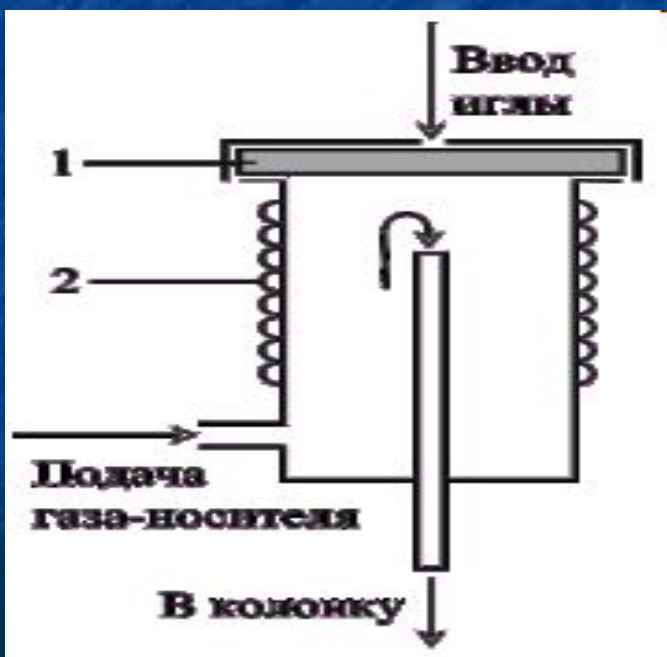
Фильтр
кислорода



регулятор
расхода газов
хроматографа

Узел ввода пробы

испаритель

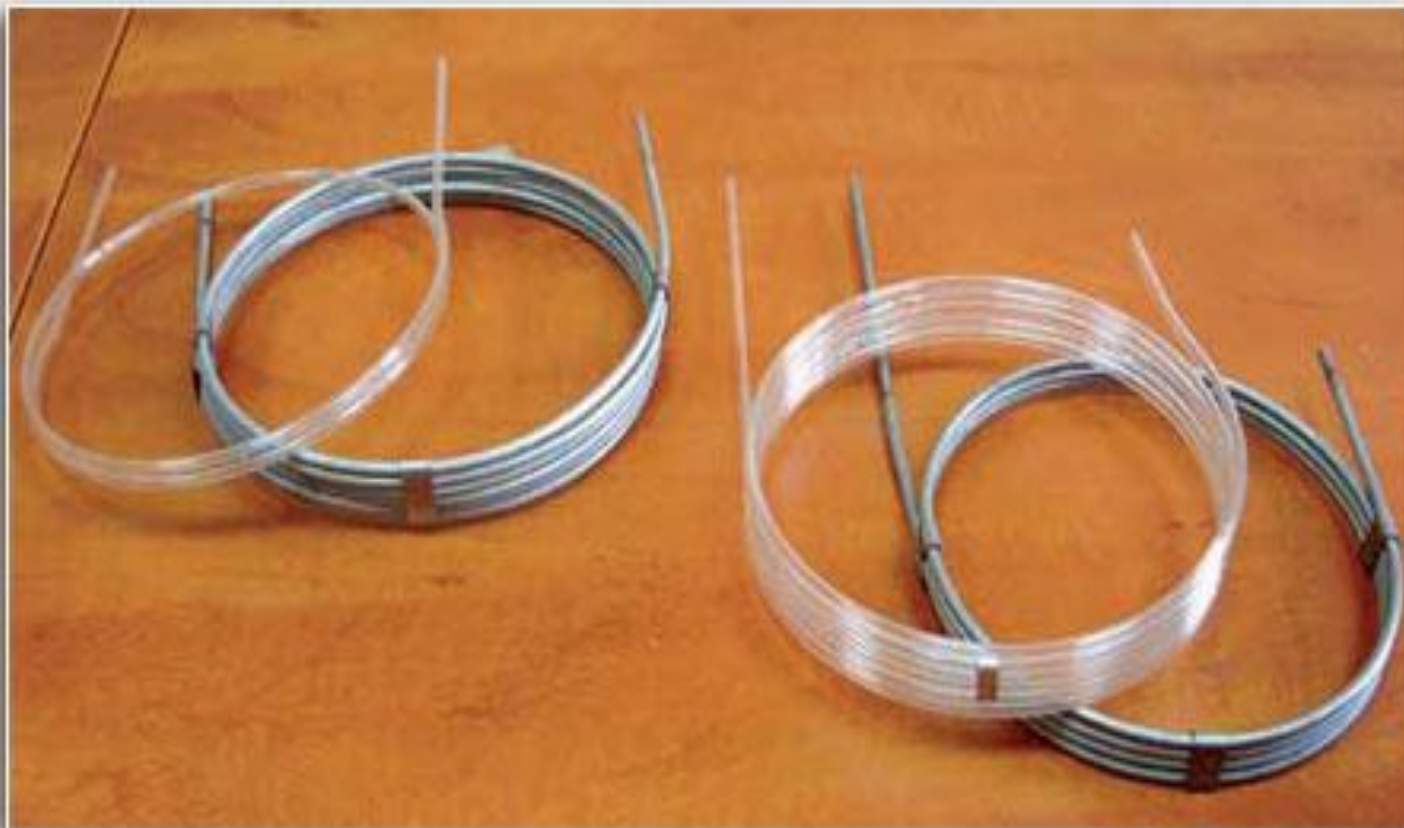


шприцы - дозаторы

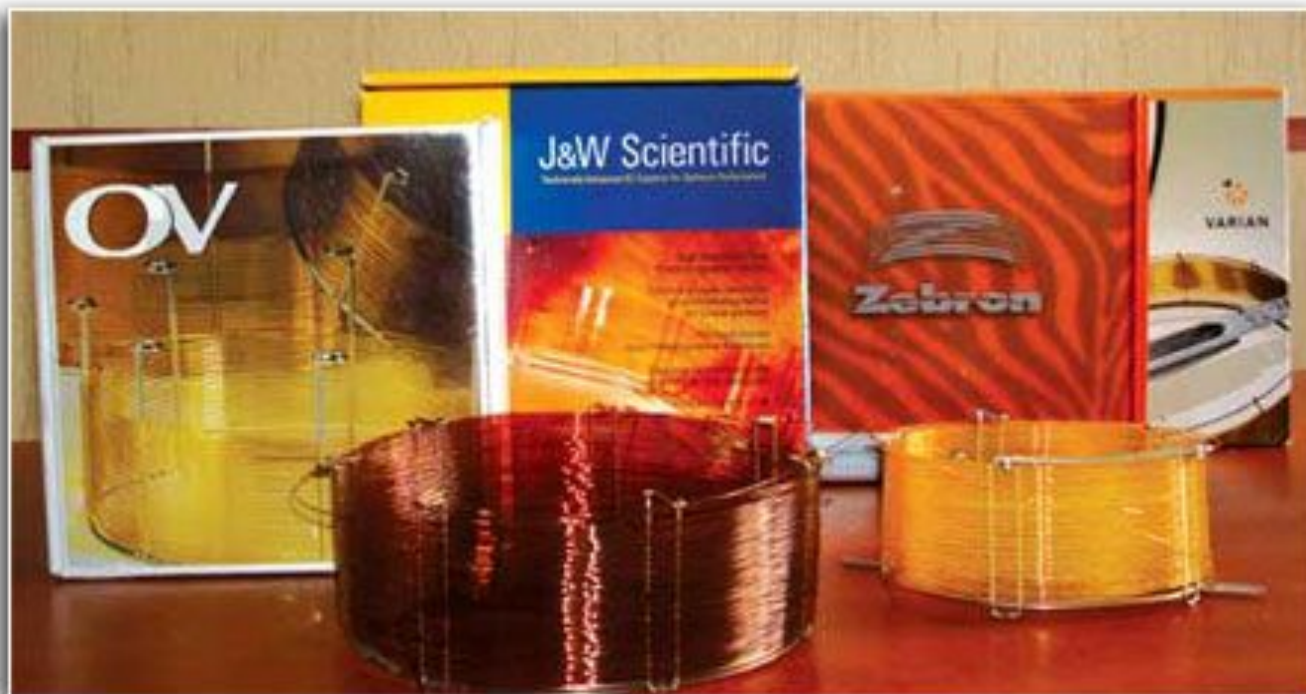


автосамплеры

Хроматографические колонки



колонки насадочные



колонки капиллярные

Пленка жидкости

Внутр. диам.
- 0,2 мм



Капиллярная
колонка

Капиллярная трубка

Внутр. диам.
- 2 мм



Насадочная колонка

Твердый носитель, покрытый жидкой фазой

Детекторы

Пламенно-ионизационный детектор (ПИД) - детектор, используемый, в основном, для обнаружения *органических соединений*.

Принцип работы - ионизация молекул в водородном пламени

Чувствительность тем выше, чем больше атомное соотношение H/C

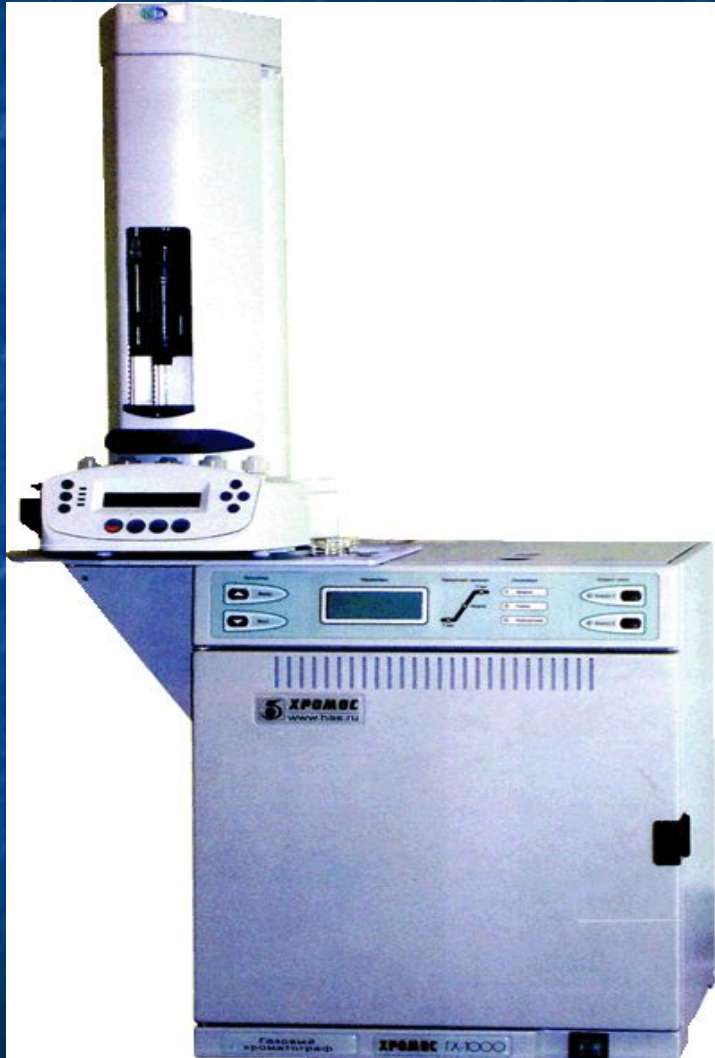
Катарометр, или детектор по теплопроводности (ДТП) - это универсальный *малоселективный* детектор.

Принцип действия - измерение разности сопротивления материалов в зависимости от температуры

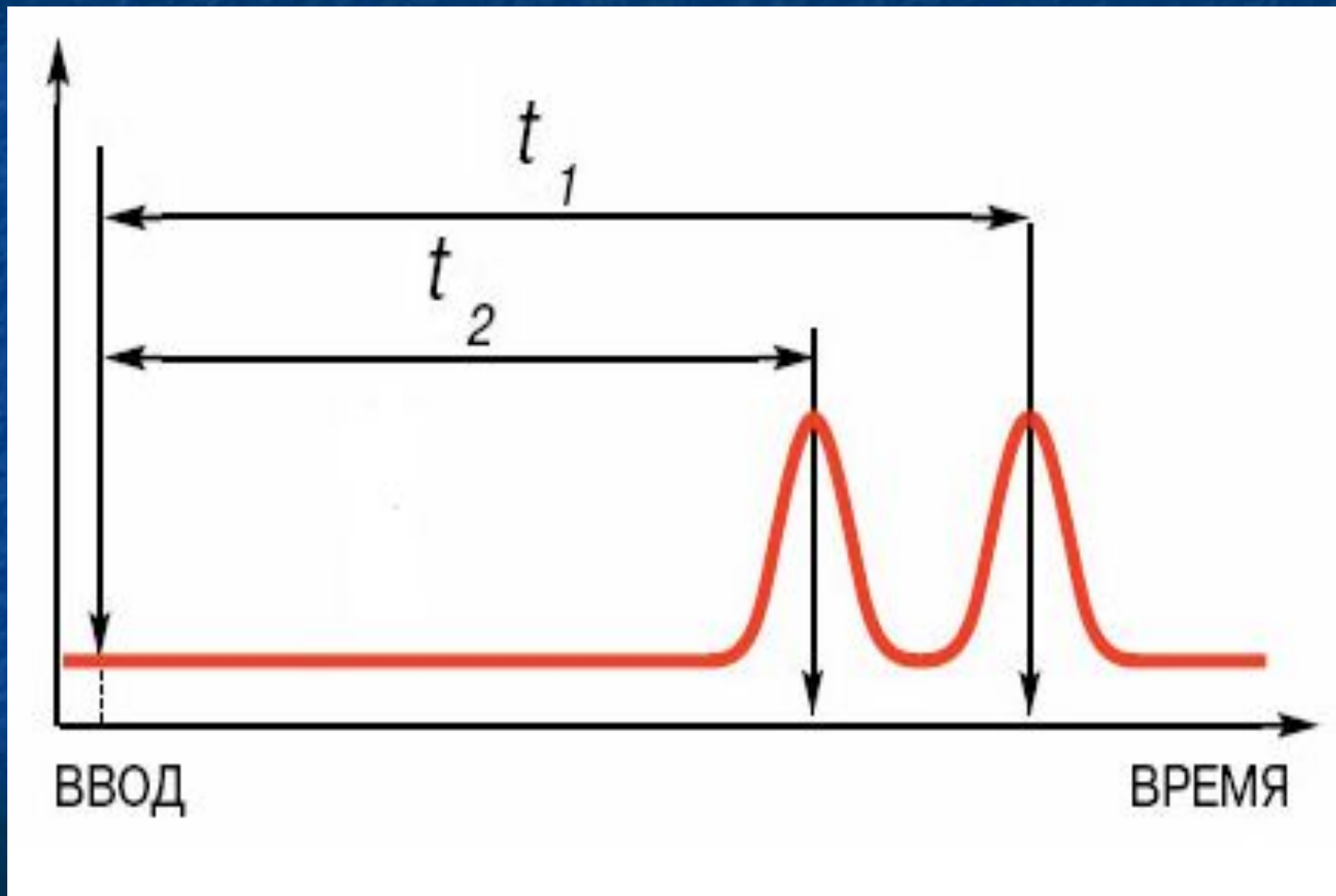
Электронно-захватный детектор (ДЭЗ) применяется для определения *галоген-, кислород- и азотсодержащих* веществ

Принцип действия – снижение фонового тока детектора при попадании в него веществ с атомами, способными присоединить (захватить) электрон

Виды газовых хроматографов



Качественный анализ



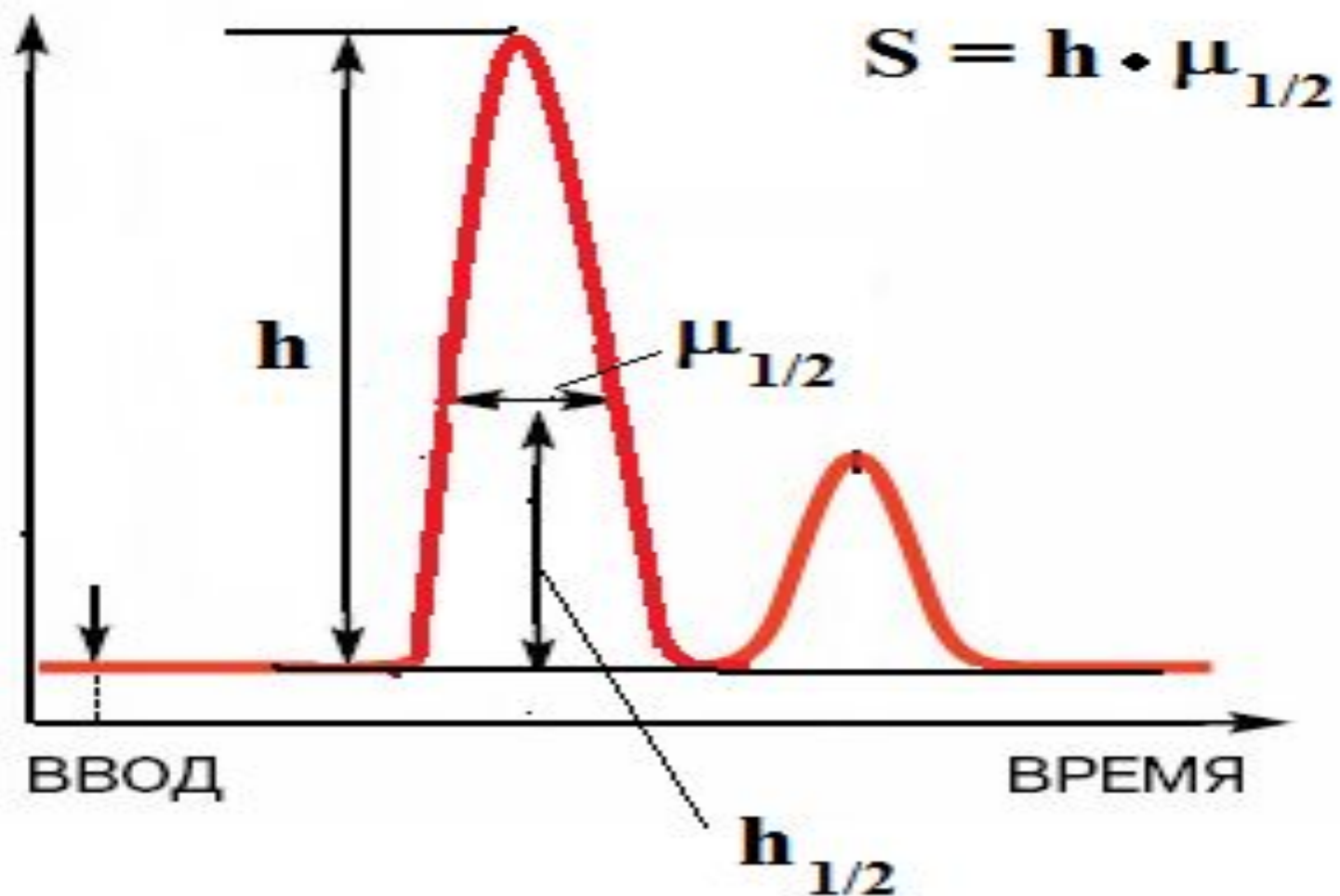
Качественный анализ

Время удерживания (t_r) - время от момента ввода пробы в колонку до момента регистрации максимума пика

Удерживаемый объем (V_r) – произведение времени удерживания на объемную скорость подвижной фазы

! Для качественного анализа сравнивают времена удерживания неизвестного вещества и эталона

Количественный анализ



S – площадь пика

h – высота пика

! Обычно *высоту пика* измеряют для *узких пиков*, а для *широких, размытых пиков*, измеряют *площадь*.

Для получения площади пика
рассчитывают:

- 1) $h \cdot \mu_{1/2}$ (произведение высоты пика на его ширину на половине высоты).
- 2) $h \cdot t_R$ (произведение высоты пика на время удерживания).

Методы расчета хроматограмм:

Метод простой нормировки.

! Чувствительность детектора ко всем компонентам пробы должна быть одинакова.

$$\omega_i = \frac{S_i}{\sum S_i} \cdot 100$$

Метод внутренней нормировки.

k - коэффициент чувствительности детектора к компонентам пробы

$$\omega_i = \frac{k_i S_i}{\sum k_i S_i} \cdot 100$$

Метод внутреннего стандарта

К анализируемой пробе добавляют точно известное количество вещества, называемого «внутренним стандартом».

$$\omega_i = \frac{k_i r S_i(x) \cdot 100}{S_{CT}(x)} \%$$

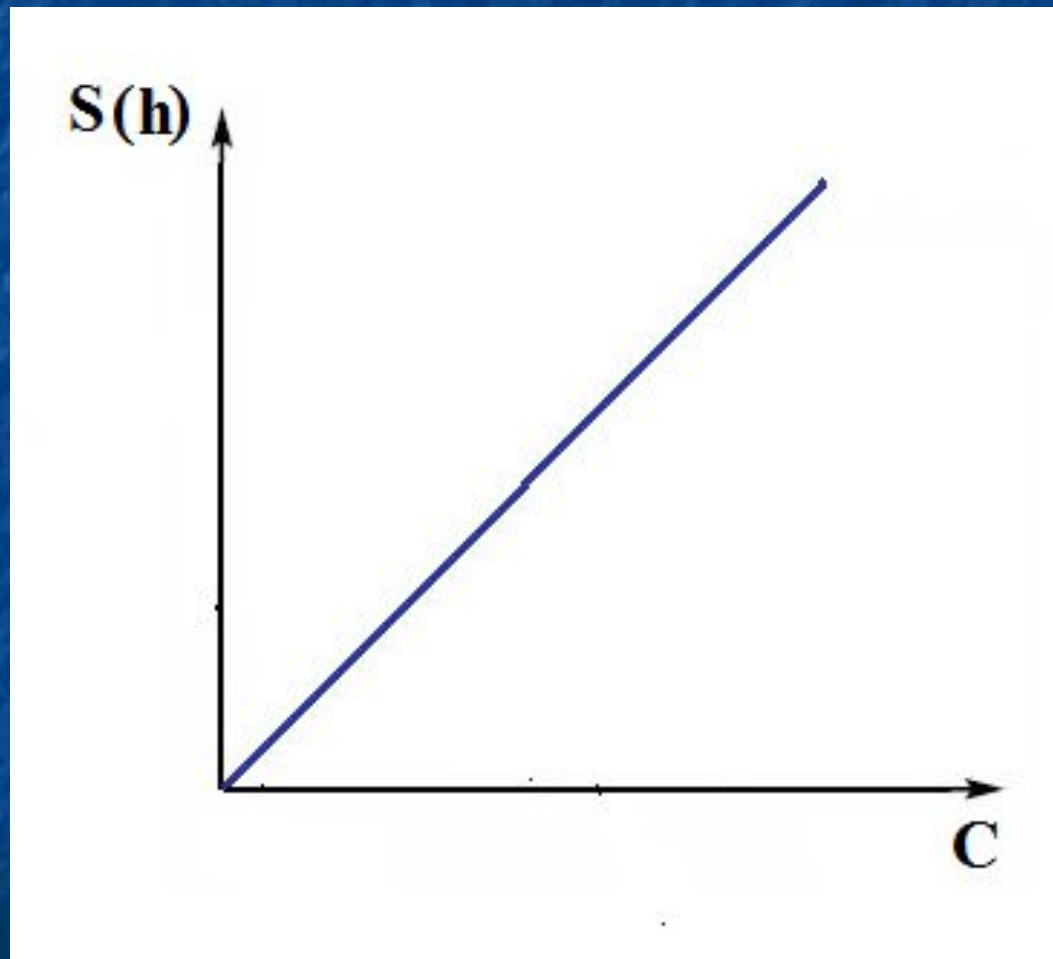
где $S_i(x)$, $S_{cm}(x)$ - площадь пиков компонента и стандарта в пробе соответственно,

r - отношение массы внутреннего стандарта к массе пробы,

k_i - поправочный коэффициент (рассчитывается предварительно):

$$k_i = \frac{S_{CT} C_i}{S_i C_{CT}}$$

Метод абсолютной калибровки



Жидкостная хроматография

Подвижная фаза в жидкостной хроматографии – чистый растворитель или смесь растворителей

Жидкостная хроматография в которой используют колонки малого размера и высокое давление *ПФ* (до 0.5 – 70 МПа) называют **высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ)**

Схема жидкостного хроматографа



Хроматографические колонки



Хроматограф



Фотометрический
УФ-детектор

Флуориметрический
детектор Флюорат®-02-2М

Базовый
блок

Спектрофлуориметрический
детектор Флюорат®-02-Панорама

Ионообменная хроматография

Неподвижная фаза

Иониты природного или синтетического происхождения:

- цеолиты, глинистые материалы (природные алюмосиликаты);
- сульфированные активные угли;
- синтетические ионообменные смолы

Неподвижная фаза

Катиониты — иониты, обменивающиеся с раствором катионами:

Сильнокислотные - $R-\underline{SO}_3H$

Среднекислотные - $R-\underline{PO}_3H_2$

Слабокислотные - $R-\underline{COOH}$

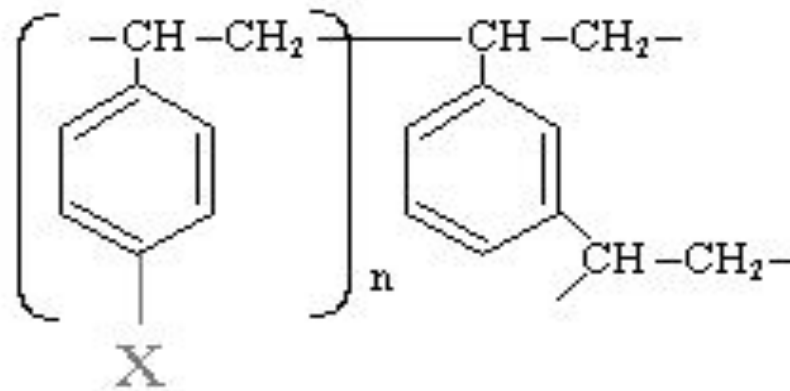
$R-\underline{OH}$



*полимерная
часть*

*противоион
ионогенная
группа*

Полимерная часть катионита



Неподвижная фаза

Аниониты – иониты, обменивающиеся с раствором анионами:

Сильноосновные - $\underline{R-[N(CH_3)_3]^+ OH^-}$

Среднеосновные - $\underline{R-[NH(CH_3)_2]^+ OH^-}$

Слабоосновные - $\underline{R-[NH_3]^+ OH^-}$

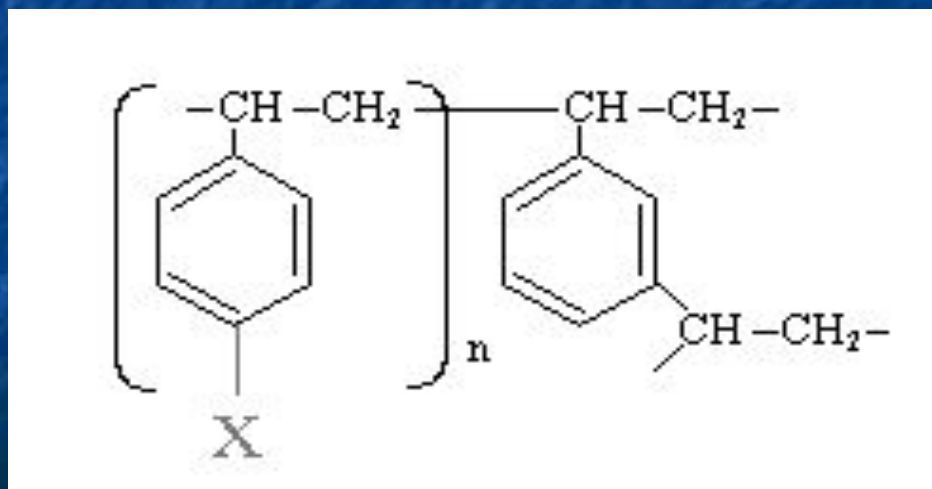


*полимерная
часть*

*ионогенная
группа*

противоион

Полимерная часть анионита



Уравнение анионного обмена



OH- форма

Cl- форма

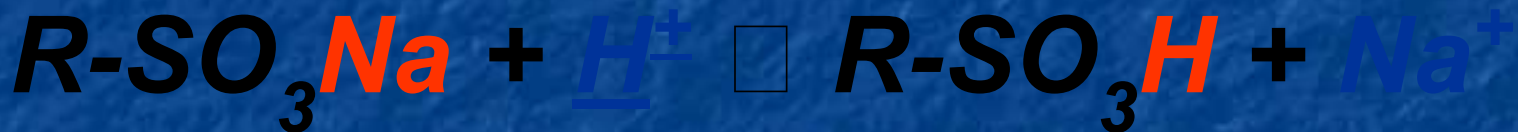
Амфолиты – иониты, содержащие как катиногенные, так и аниногенные группы

Регенерация ионитов

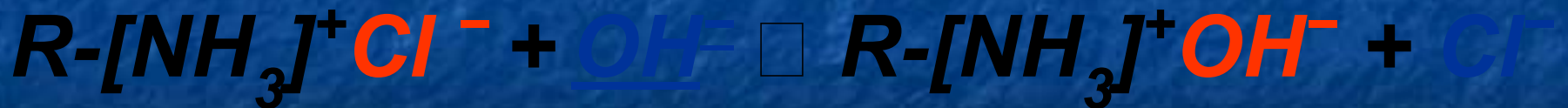
!Ионный обмен обратим

Регенерация — восстановление свойств ионита

Регенерация катионита:



Регенерация анионита:



Емкость ионитов

Обменная емкость ионитов – количество ионогенных групп в 1 грамме ионита

Статическая обменная емкость (СОЕ) – емкость, измеренная при достижении равновесия

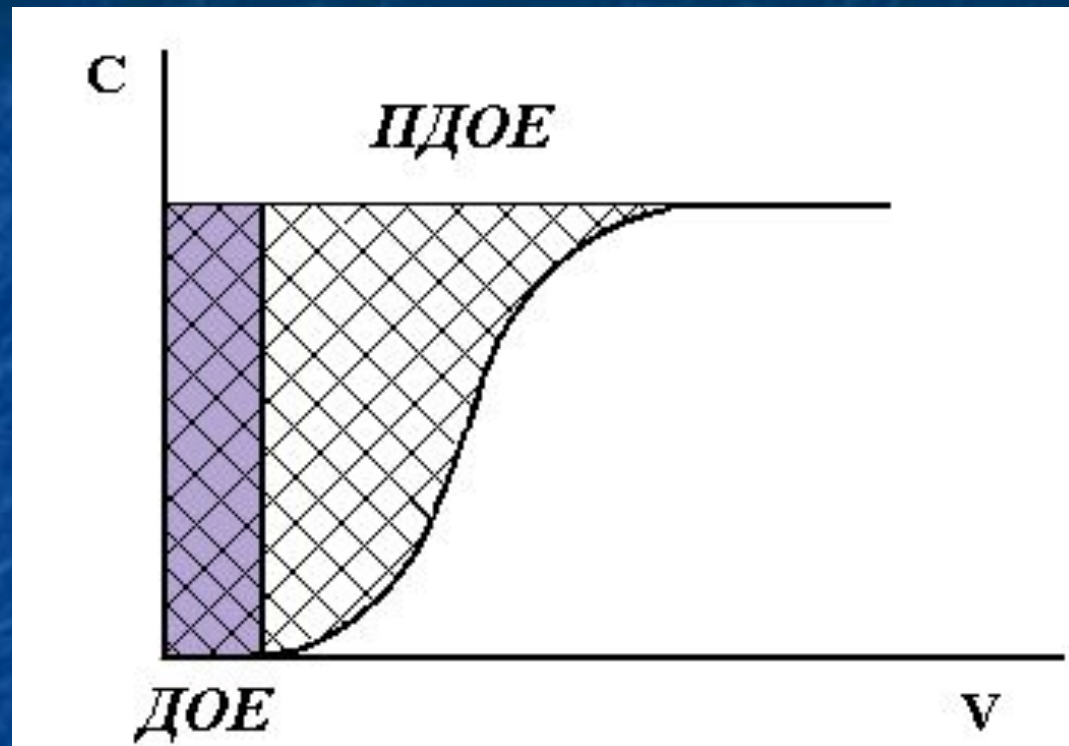
Динамическая обменная емкость (ДОЕ) – емкость, измеренная при непрерывном пропускании раствора через слой ионита

Динамическая емкость ионитов

Емкость до проскока (ДДЕ) – емкость ионита до появления первой порции обмениваемого иона в элюате

Полная динамическая емкость (ПДДЕ) – емкость, измеренная при полном насыщении ионита

Динамическая емкость ионитов



! Емкость слабокислотных (слабо-основных) ионитов зависит от pH: катиониты работают в щелочной среде, аниониты – в кислой

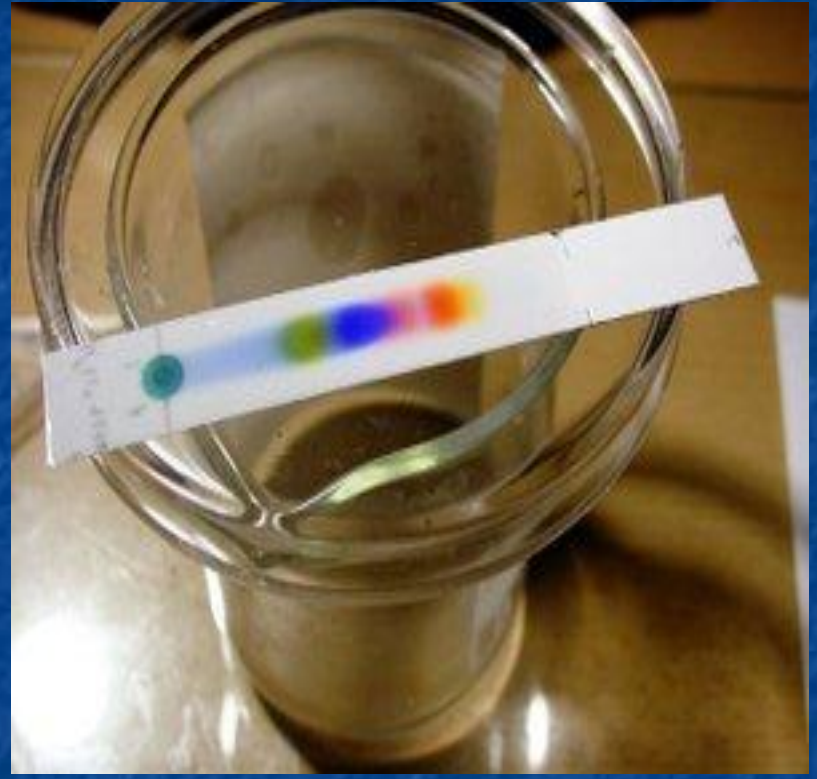
Плоскостная хроматография

Неподвижная фаза

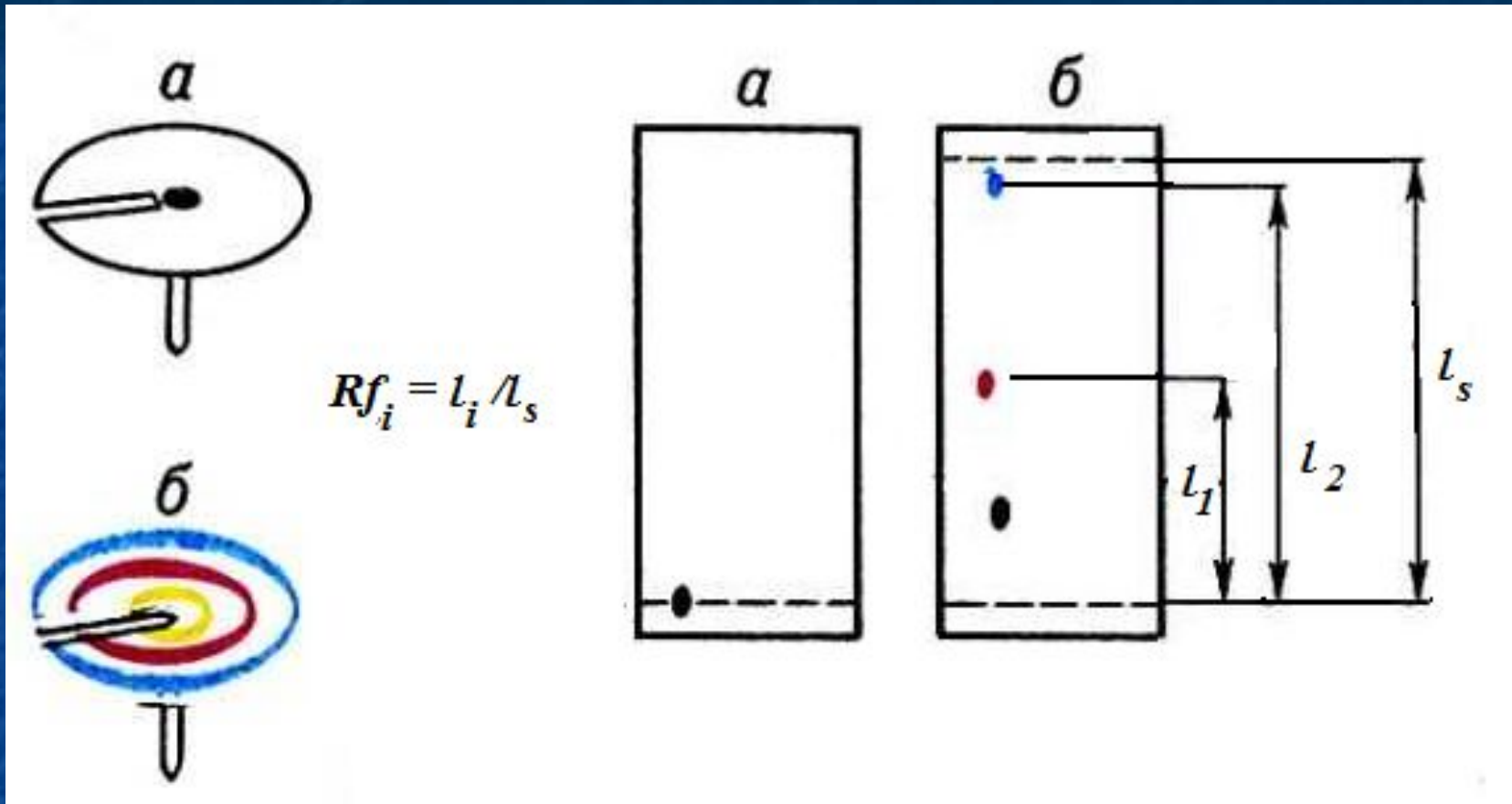


Неподвижная фаза – хроматографическая бумага или пластинки, покрытые тонким слоем сорбента

Подвижная фаза – смесь растворителей



Качественный анализ



l_i - расстояние от точки старта до центра пятна, l_s - расстояние от точки старта до границы растворителя

Количественный анализ

Измеряется *площадь пятна*

или

вещество *извлекается* из неподвижной фазы и анализируется *любым доступным методом*