

"Хроматография - физический метод разделения, в котором разделяемые компоненты распределены между двумя фазами, одна из которых неподвижна (неподвижная фаза), в то время как другая (подвижная фаза) движется в определенном направлении"
(терминология ИЮПАК, 1993г. [14,15]).

«**Хроматография** - наука о межмолекулярных взаимодействиях и переносе молекул или частиц в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз»

"**Хроматография** - это процесс дифференцированного многократного перераспределения веществ или частиц между несмешивающимися и движущимися относительно друг друга фазами, приводящий к обособлению концентрационных зон индивидуальных компонентов исходных смесей этих веществ или частиц"

"**Хроматография** - метод разделения смесей веществ или частиц, основанный на различии в скоростях их перемещения в системе несмешивающихся и движущихся! относительно друг друга фаз"

Товий Егорович Ловиц (1757 –
1804)

в 1785 г - сорбционные свойства
угля,

Уэй и Томпсон - удерживание в почве катионов.
1850 г. основные законы ионного обмена.

Ф.Ф.Рунге. В 1840-50 гг. - капельного анализа на
бумаге, тканях, и тонких деревянных дощечках.

Семен Кузмич Квитке
1900 г. - авторское свидетельство по сорбционной очистке
нефти с использованием сорбента

М. С. ЦВѢТА

О новой категоріи адсорбціонныхъ явленій и о приложеніи ихъ къ биохимическому анализу.

Предварительное сообщеніе.

(Сообщено въ биологическомъ отдѣленіи Варшавскаго Общ. Естествоиспытателей
9/21 Марта 1903 г.)

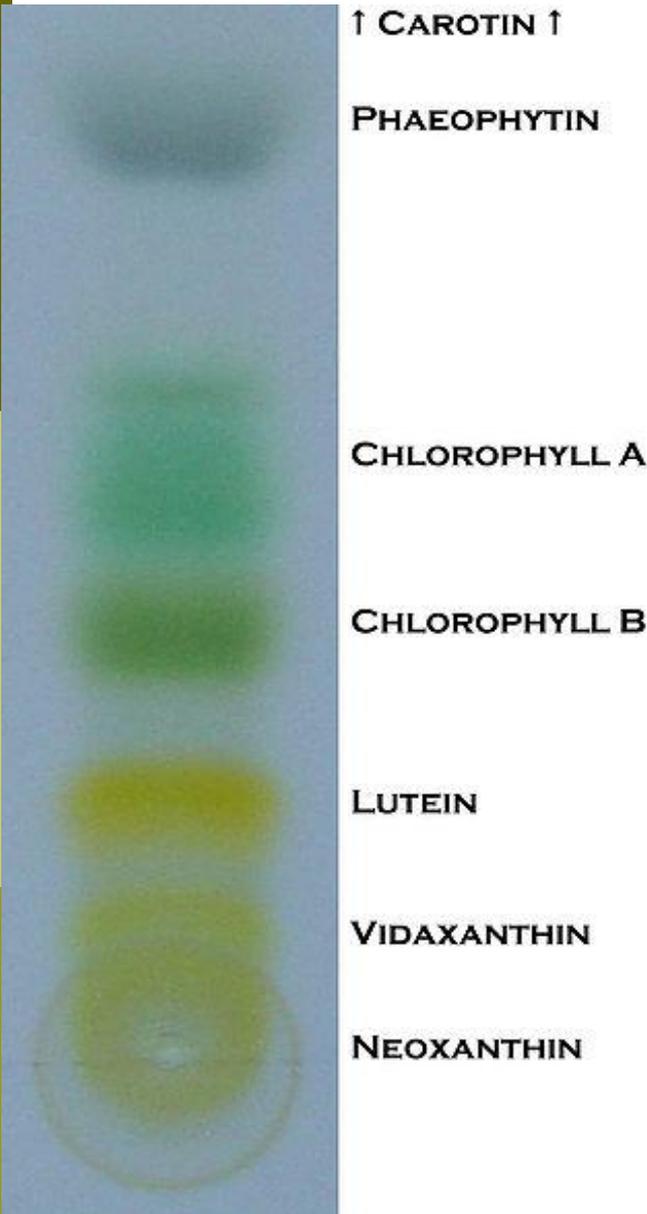
Введеніе.

Подъ названіемъ *адсорбціи* соединяются въ настоящее время явленія отчасти въ своей сущности, могутъ быть, разнородныя, но отвѣчающія слѣдующему общему опредѣленію: сгущеніе на поверхности тѣлъ окружающихъ ихъ газовъ, паровъ, жидкостей или растворенныхъ въ послѣднихъ веществъ.

Поглощеніе животнымъ и древеснымъ углемъ не только красящихъ веществъ, но общераспространенному мѣлкію, но и вообще всевозможныхъ растворенныхъ веществъ, и также газовъ; поглотительная способность почвы, огромная поглотительная способность для газовъ палладіевой и платиновой черни; сгущеніе водяныхъ паровъ и газовъ на стекляннхъ и металлическихъ поверхностяхъ (образованіе такъ называемыхъ „Wasserhaut” или „Lufthaut”); поглощеніе водяныхъ паровъ мелко-порошкообразными и коллоидальными металлическими окислами; поглощеніе воды гидрогелемъ кремнистаго ангидрида; поглощеніе солей целлюлозой и животными черепками; имбибиціонныя свойства целлюлозы, крахмала и пр.;

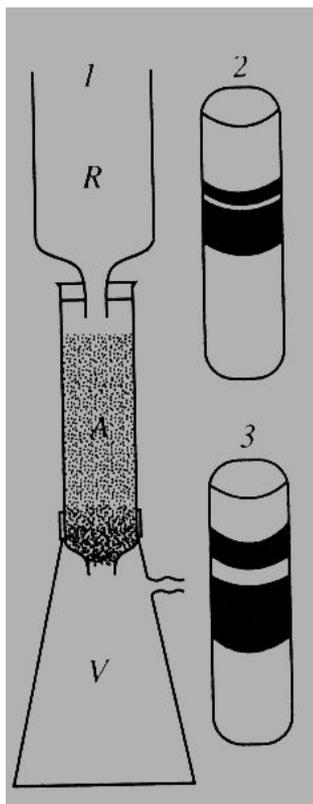
Первое обстоятельное сообщеніе М.С.Цвета в 1903 г. о разработанномъ имъ методѣ адсорбціонной хроматографіи.

О новой категоріи
адсорбціонныхъ явленій
и о приложеніи ихъ к
биохимическому
анализу»,



"Особенно поучительно наблюдение адсорбционных явлений при фильтрации через порошок. Из нижнего конца воронки вытекает сначала бесцветная, потом желтая (каротин) жидкость, между тем как в поверхностных слоях инулинового столба образуется интенсивное зеленое кольцо, на нижнем краю которого скоро дифференцируется желтая кайма. При последующем пропускании через инулиновый столб чистого лигроина оба кольца, зеленое и желтое, значительно расширяются и распространяются вниз.

Если фильтрация производится через столб порошка, недостаточный для адсорбционного удержания всего красящего вещества, то желтое кольцо в своем нисходящем движении может достигнуть бумаги, закрывающей нижнее отверстие воронки, и тогда лигроин начинает опять вытекать желтым. Спектроскопическое исследование вытекающего лигроина показывает, что пигмент желтого кольца есть ксантофилл а. В самой зеленой полосе тоже происходит дифференциация, а именно на сине-зеленую нижнюю и желто-зеленую верхнюю зоны".



Разделение методом адсорбционной хроматографии по М.С.Цвету.

а – адсорбент;

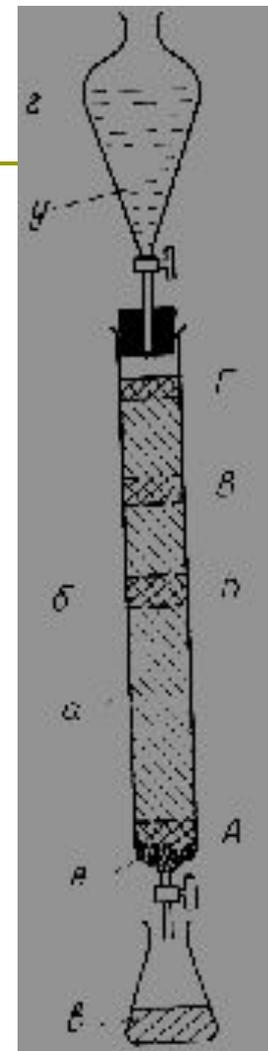
б – колонка; в – элюат;

г – делительная воронка;

д – элюент;

е – хлопковая вата.

Смесь веществ *А, Б, В* первоначально адсорбированных в зоне *Г*, разделяются при элюировании соответствующим растворителем *д (элюентом)* на независимые зоны, движущиеся по направлению к выходу из колонки



-
- 1. Создал основы процесса многоступенчатого сорбционного разделения сложных смесей,**
 - 2. Открыл проявительный вариант хроматографии,**
 3. Развил фронтальный анализ,
 4. Установил возможность проявительного варианта,
 5. Связал все варианты хроматографии единым подходом.

два существенных недостатка (по Вильштеттеру):

- 1) метод не является подходящим для препаративного использования
- 2) во время хроматографического эксперимента возможны химические превращения разделяемых веществ.

Николаем Аркадьевичем Измайлов и Марией Семеновной Шрайбер метод *хроматографии в тонком слое* (1938 г) названный капельно-хроматографическим методом анализа.

1940 г. - вариант *жидкостной распределительной хроматографии* Мартин и Синдж в 1952 году получили Нобелевскую премию.

В 1944 году Консден, Гордон и Мартин *бумажная хроматография*.

В 1952 г. Мартин и Джеймс предложили метод *газо-жидкостной хроматографии*,

в 1953 г чешский хроматографист Янак *газо-твёрдофазная хроматография*.

В 1956 году получила широкое распространение *тонкослойная хроматография*. В этом направлении сделал Шталь.

В 1959 году Порат и Флодин предложили новый тип хроматографирования- *гель-проникающую хроматографию*.

1967 г. отмечен появлением аффинной хроматографии.

В середине 80-х годов появляется свехкритическая флюидная хроматография.

В 70-е годы появляется ВЭТСХ.

В 80-е годы появляется видеоденситометрия, масс-спектроскопия поверхности.

В 70-2000-е годы происходит автоматизация процесса хроматографирования, обработки данных, создание баз данных

Классификация хроматографических методов

По агрегатному состоянию фаз

Газовая хроматография – подвижная фаза (ПФ) является газом; газотвердофазная (неподвижная фаза (НФ) - твердое вещество), газожидкостная хроматография (неподвижная фаза – жидкость).

Жидкостная хроматография – подвижная фаза - жидкость; жидкостно-твердофазная хроматография (неподвижная фаза – твердый сорбент), жидкостно-жидкостная хроматография (неподвижная фаза - жидкость).

По технике выполнения

Колоночная хроматография

Планарная хроматография – неподвижная фаза нанесена на плоскость (бумажная хроматография, хроматография в тонком слое сорбента).

По механизму сорбции

Адсорбционная – различие в адсорбируемости веществ на твердом сорбенте.

Распределительная – различная растворимость в подвижной и неподвижной фазах.

Ионообменная – различия в электростатическом взаимодействии ионов с ионогенными группами сорбентов.

Эксклюзионная – различия в размерах и формах молекул.

Афинная – за счет специфических взаимодействий некоторых биологически активных веществ.

Осадочная – различие в растворимости осадков разделяемых веществ.

Адсорбционно-комплексобразовательная – образование координационных соединений разной устойчивости.

По цели хроматографирования
Аналитическая – проведение качественного или количественного анализа.
Препаративная – для получения индивидуальных веществ.
Промышленная – как часть автоматизированного процесса производства.

По способам проведения хроматографического процесса
Фронтальная
Вытеснительная
Элюентная

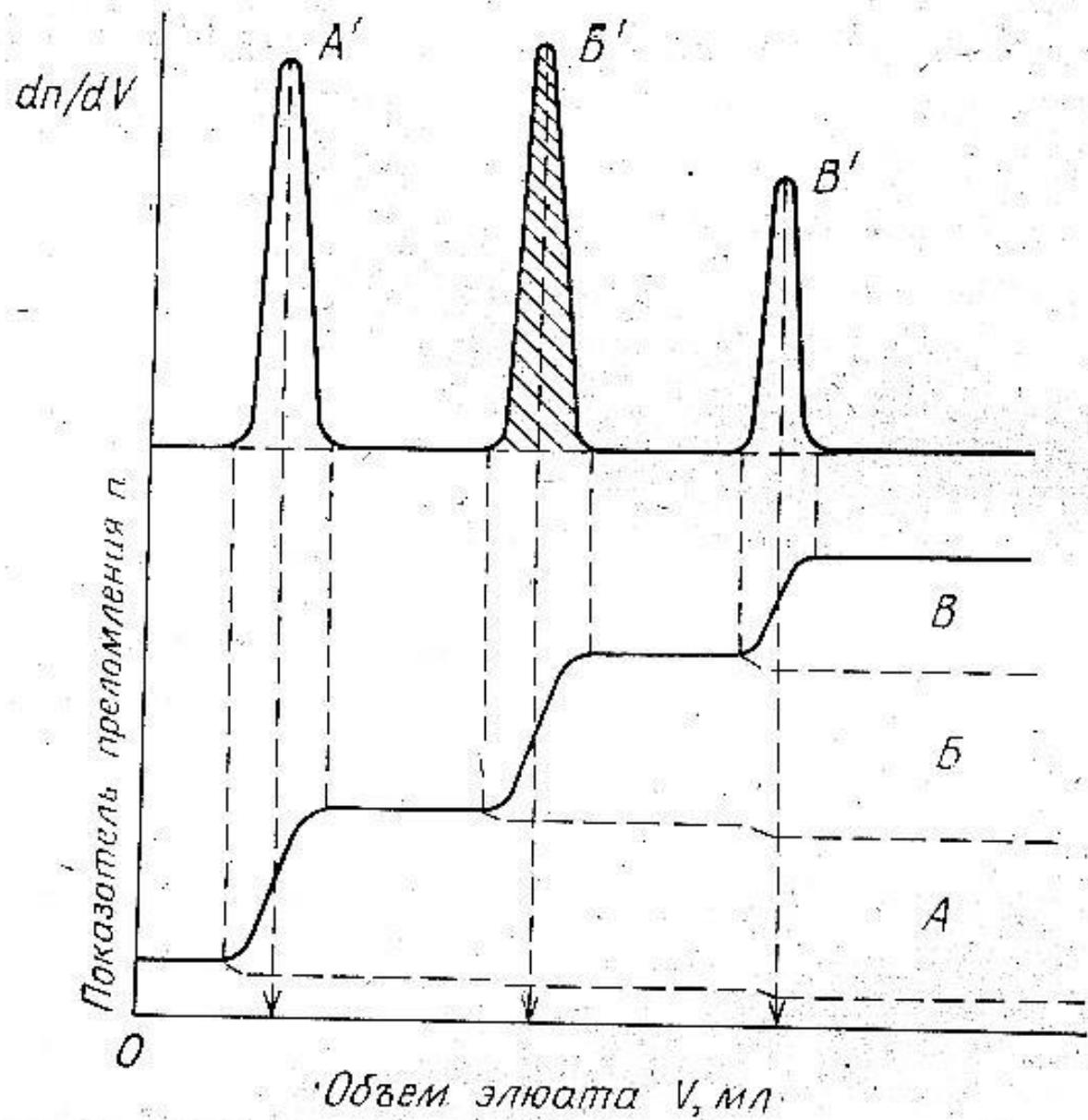


Рис. Разделение методом фронтального анализа.

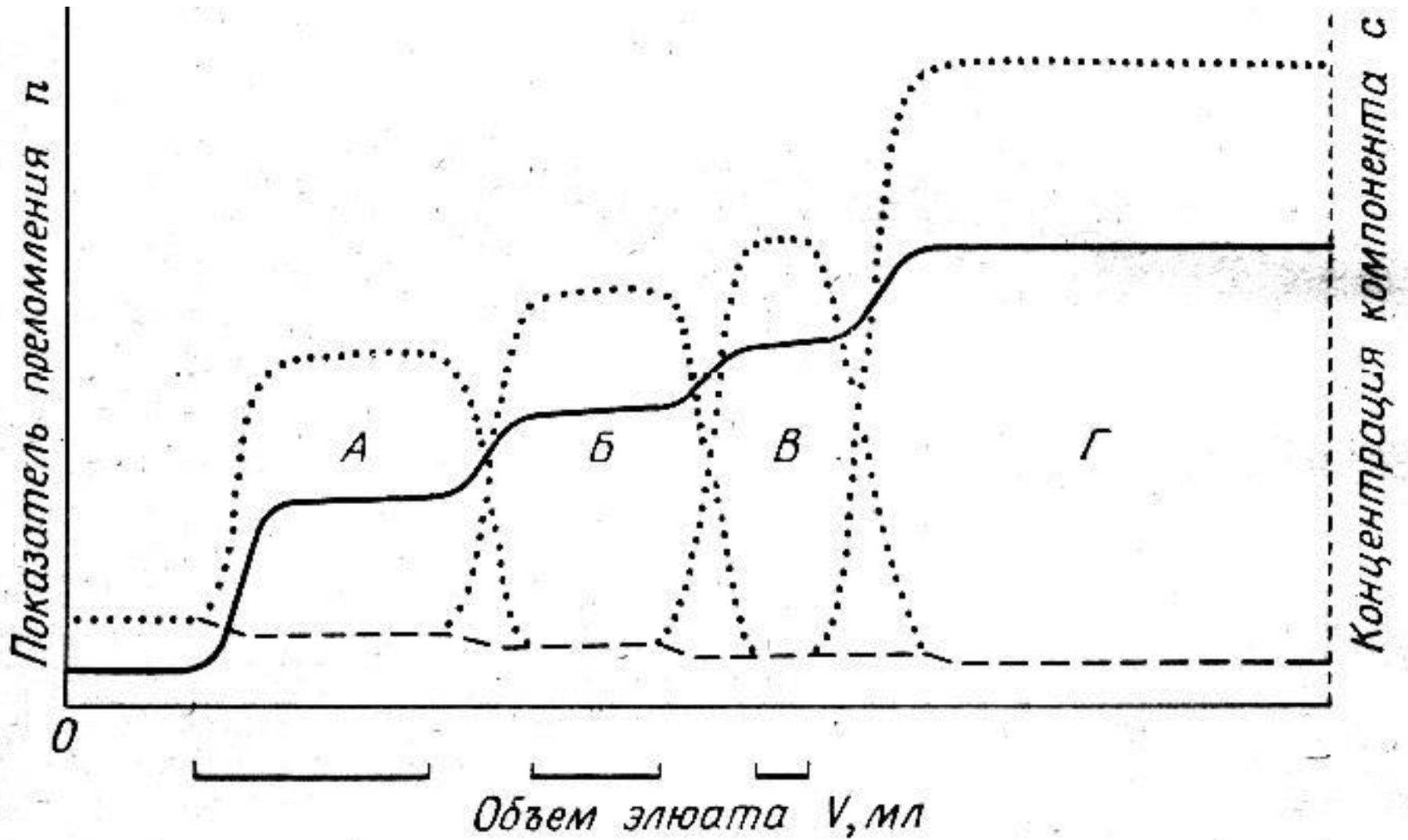


Рис. разделение методом вытеснительной хроматографии

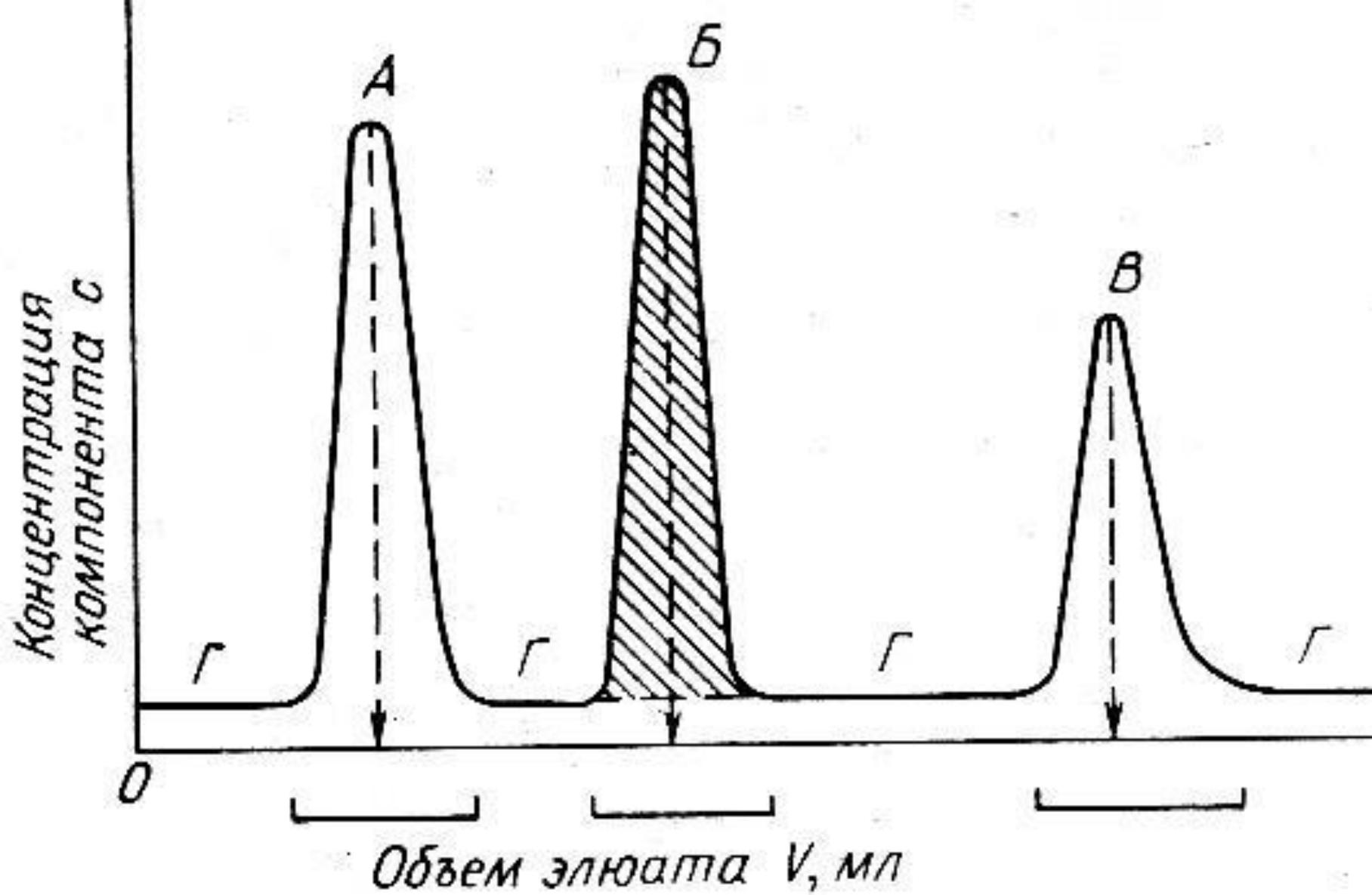
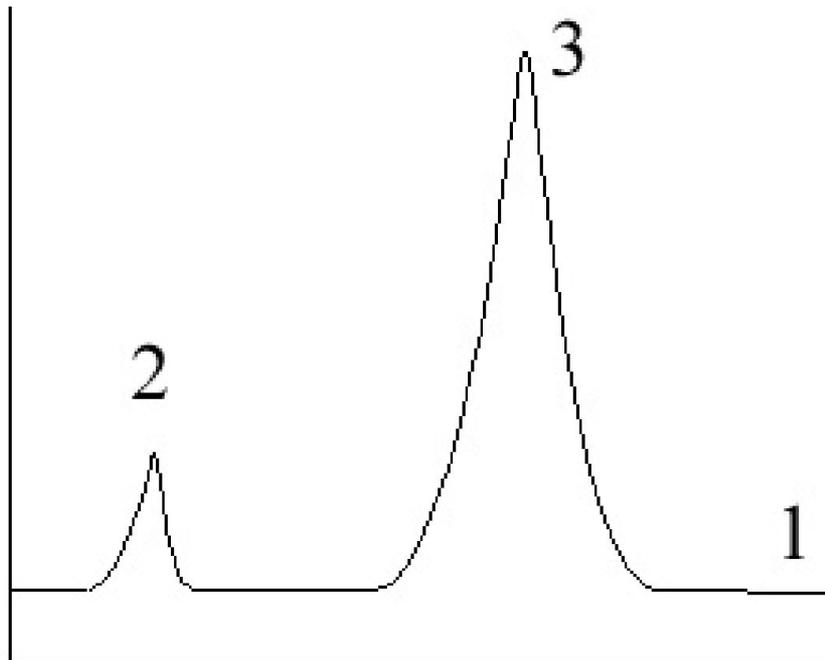


Рис. Проявительная хроматография.

Основные параметры, характеризующие движение вещества в колонке с сорбентом. Основные термины и определения.

Хроматограмма – кривая, отображающая зависимость концентрации вещества в потоке ПФ на выходе из колонки, от времени с момента начала процесса.

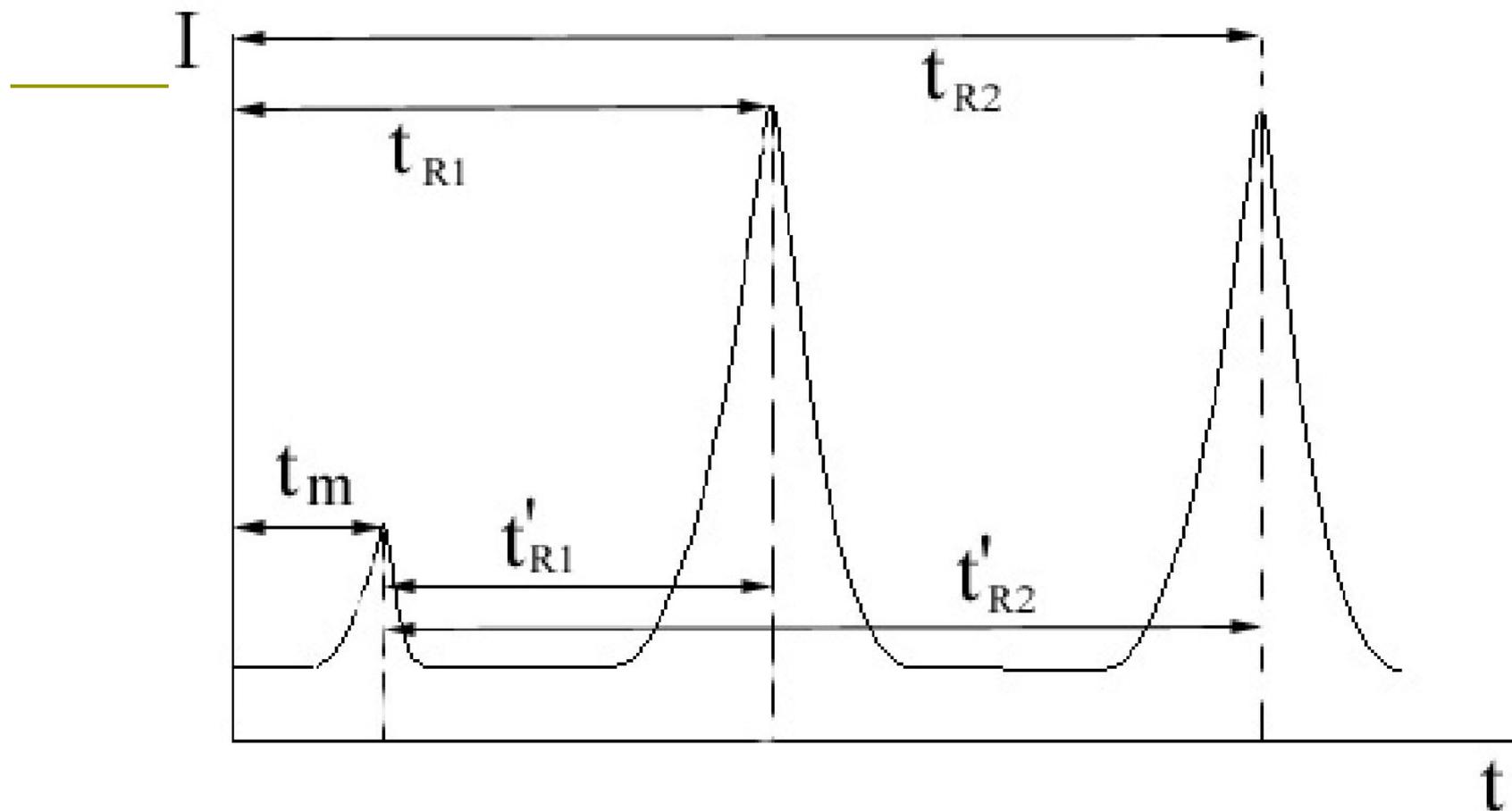


1- базовая (нулевая) линия – сигнал детектора, соответствующий подвижной фазе (элюенту). 2, 3 – хроматографические пики – кривые, в идеале приближенные к кривой Гауссова распределения

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left[-\frac{(x-a)^2}{2\sigma^2}\right]$$

$$f(t) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left[-\frac{(t-t_R)^2}{2\sigma^2}\right]$$

Параметры удерживания



t_m -

инертное время (мертвое время) время удерживания

~~t_R - время удерживания компонентов - это время от момента ввода пробы до момента появления на выходе из колонки максимальной концентрации зоны соответствующего вещества.~~

$$t'_{Ri} = t_{Ri} - t_m \quad (1)$$

- чистое (приведенное) время удерживания.

Полный объем удерживания V_R

$$V_R = t_R v_0, \quad (2)$$

Исправленный объем удерживания

$$V_R' = V_R - V_m \quad (3)$$

$$\beta = \frac{V_m}{V_s} - \quad (4)$$

Фактор удерживания (емкости) k_i или коэффициент

$$k_i = \frac{m_{i,S}}{m_{i,m}} \quad (5)$$

$$k_i = t_R' / t_m \quad (6)$$

$$k_i = \frac{t_R - t_m}{t_m} \cdot \quad (7)$$

$$t_{Ri} = (1 + k_i)t_m. \quad (8)$$

Для уменьшения длительности хроматографического процесса желательно иметь возможно меньшие значения k

$$K = \frac{C_{i,S}}{C_{i,m}} \quad (9)$$

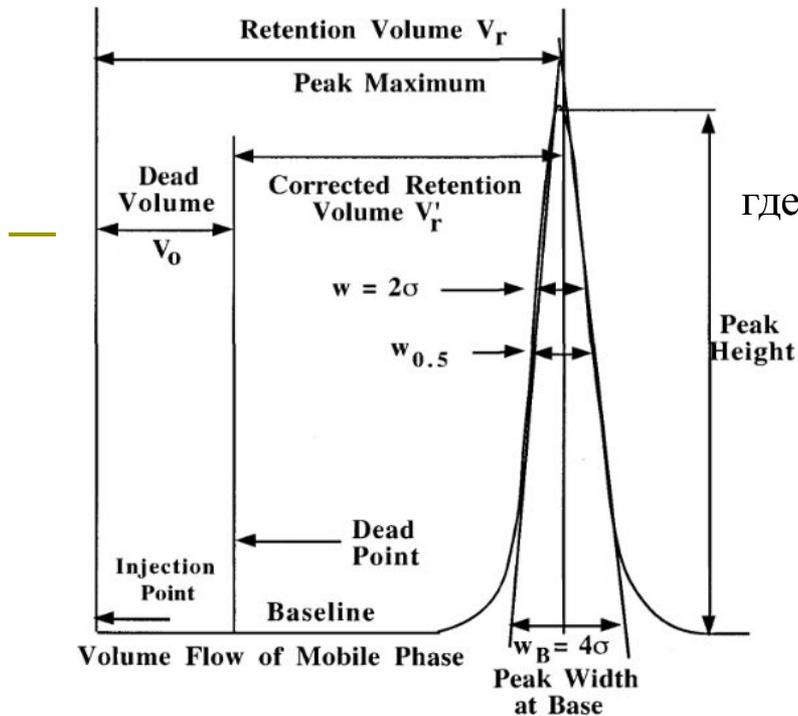
$$\Gamma = \frac{d\bar{C}}{dC} = \frac{\bar{C}_i}{C_i} \quad (10)$$

Характеристика эффективности хроматографической системы (колонки)

1.

В этой теории хроматографическая колонка разбивается на ряд последовательных элементарных участков – «тарелок».

В основе лежат предположения, что хроматографируемое вещество проходит каждую «тарелку» дискретными порциями и на каждой тарелке между неподвижной фазой (сорбентом) и подвижной фазой устанавливается равновесие и происходит перераспределение вещества между фазами и перенос на следующую «тарелку».



$$n = \left(\frac{\sigma}{\sigma_m} \right)^2 = \left(\frac{x}{\sigma_m} \right)^2, \quad (5)$$

где x – путь пройденный частицей.

$$x = t_R; \quad (6)$$

$$4\sigma = W; \quad (7)$$

$$\sigma = W/4. \quad (7a)$$

$$n = \left(\frac{t_R}{W/4} \right)^2 = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2, \quad (8)$$

$n=N$ – число теоретических тарелок

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (9)$$

Недостатки теории теоретических тарелок

Некорректность допущений:

- K – постоянная величина;
- допущением является то, что равновесие устанавливается быстро. Диффузия же не является мгновенным процессом;
- отсутствие размывания;
- колонка состоит из дискретных частей;
- подвижная фаза подается порциями;
- отсутствует важный параметр – скорость подвижной фазы;
- размеры фаз не учитываются.

Кинетическая теория хроматографии

датские химики ван-Деемтер, Клинкенберг с сотрудниками
(1956)

В этой теории нет допущений, используемых в теории теоретических тарелок:

- мгновенное установление равновесия.
- учитывается скорость диффузии в подвижной и стационарной фазах, т.е. акцентируется внимание на кинетике.

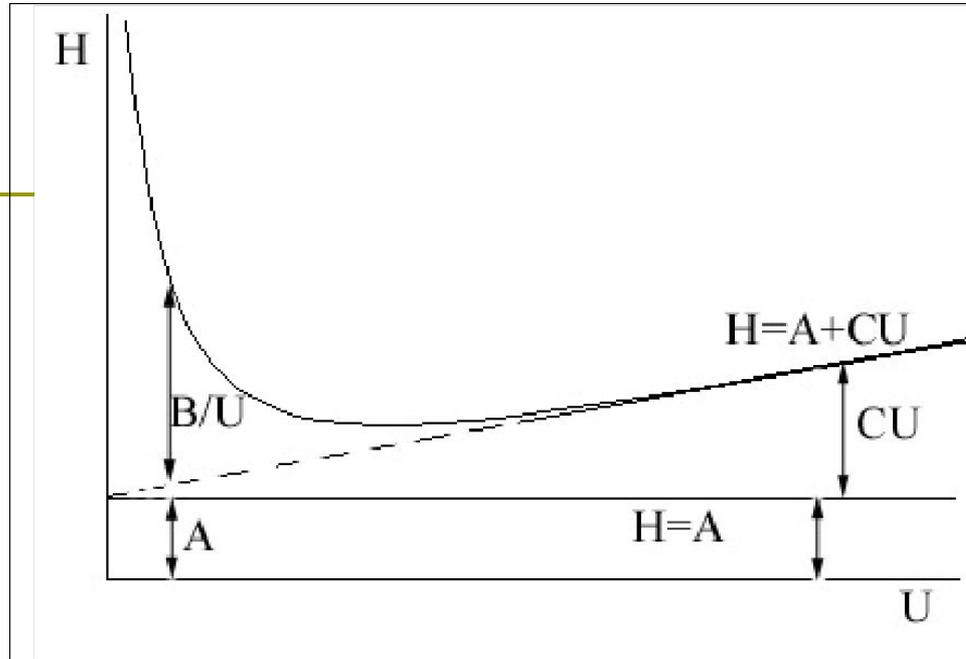
$$H=f(U).$$

$$H = H_d + H_e + H_f \quad (1)$$

где H_d – диффузионный вклад, H_e – влияние скорости установления равновесия, H_f – неравномерность потока.

Уравнение Ван-Деемтера:

$$H = A + B/U + CU \quad (6)$$



$$\frac{dH}{dU} = \frac{B}{U^2} + C = 0; \quad C = \frac{B}{U^2};$$

$$U = \sqrt{B/C}$$

$$B/U \rightarrow 0$$

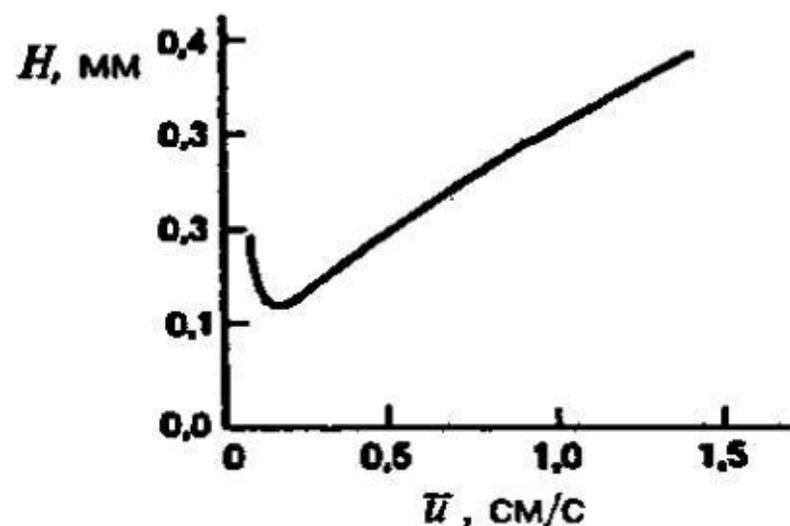
больших скоростях;

$$U_{\min} = \sqrt{B/C}$$

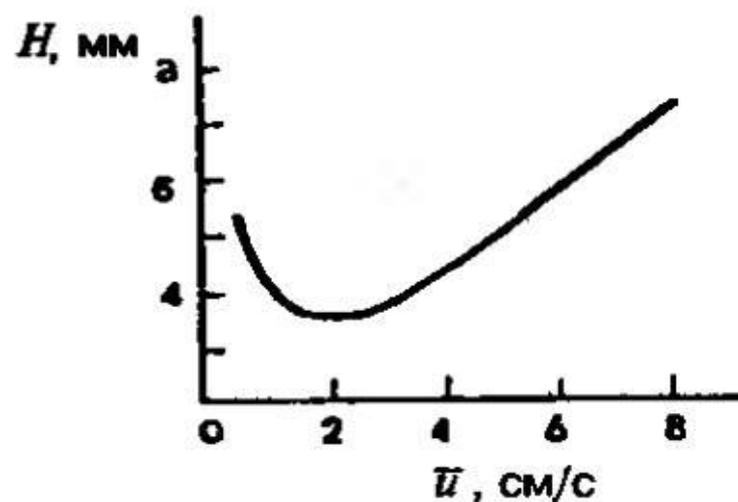
$$H = A + CU \quad (7)$$

- А – обусловлена вихревой диффузией – размывает фронт движущегося компонента и связана с особым обтеканием гранулы подвижной фазой (кормовая часть гранул плохо обтекается);
- В – молекулярной диффузией – чем медленнее скорость, тем больше время пребывания компонента, тем больше молекулярная диффузия.
- CU – скорость массообмена- межфазное сопротивление.

a Жидкостная хроматография



b Газовая хроматография



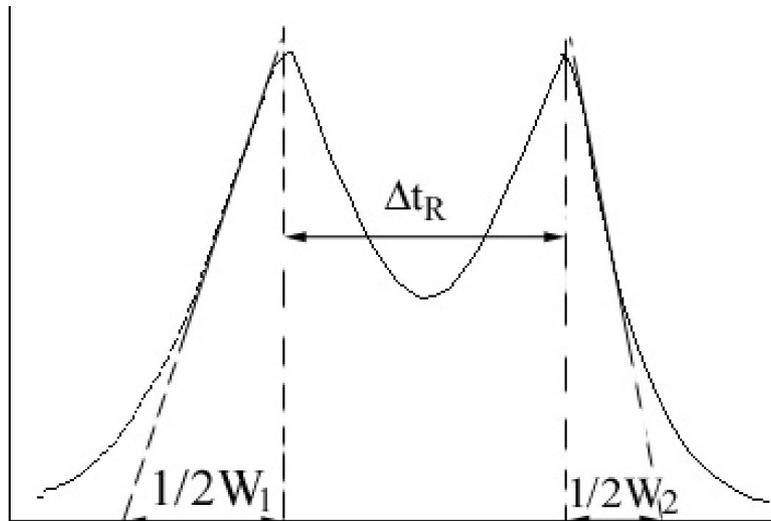
Зависимость числа теоретических тарелок H от линейной скорости потока \bar{u} в подвижной фазе для жидкостной (*a*) и газовой (*b*) хроматографии.

Эффективность и селективность

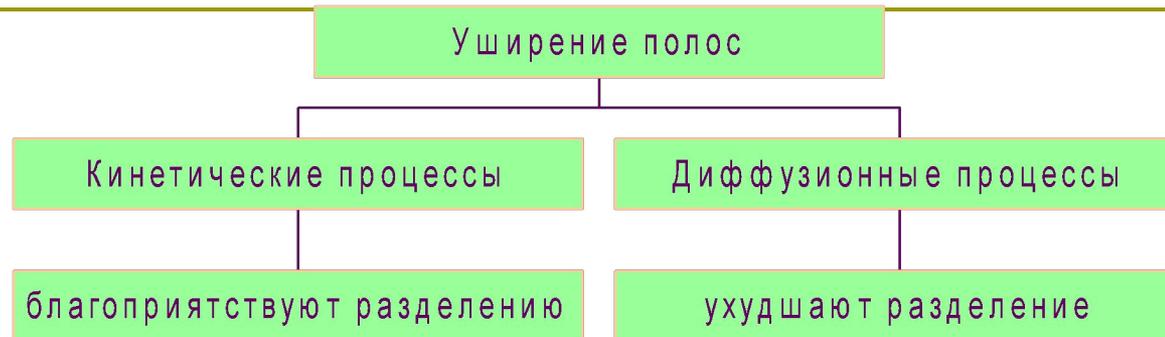
Селективность

Селективность - способность хроматографической системы (сорбент-подвижная фаза) разделять два или группу веществ.

$$\alpha_{i,j} = \frac{t_{R,j}}{t_{R,i}} \quad (3)$$
$$\alpha_{i,j} = \frac{v_j^*}{v_i^*} \quad (1)$$



Критерии разделения и их связь с эффективностью и селективностью



Разрешение 2-

$$R_s = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{W_1 + W_2} = \frac{2\Delta t_R}{W_1 + W_2}$$

R_s :

(19)

$t_{R_2} - t_{R_1}$ - степень раздвижения полос;

$(W_1 + W_2)$ -

$R_s = 1$,

среднее расстояние между 2-мя пиками равно

$$R_s = \frac{\alpha - 1}{\alpha + 1} \cdot \frac{\bar{k}}{1 + \bar{k}} \cdot \frac{\sqrt{N}}{2}$$

(26)

Газовая хроматография

Мартин и Синдж

Мартин и Джеймс (1952 г.)

Янок [Janok //J. Collection Czech. Commun.,1953. V.18. P. 798]

газо-адсорбционная хроматография.

вследствие *низкой вязкости* по сравнению с более вязкой жидкой подвижной фазой и во много раз более *быстрой диффузии* в газовой фазе распределение с применением газа-носителя происходит значительно *быстрее*.

- *фронтальная,*
- *вытеснительная,*
- *элюентная* газовая хроматография.

Преимущества газовой хроматографии

1. Высокая разделительная способность;
2. универсальность метода;
3. низкий предел обнаружения (высокая чувствительность);
4. экспрессность анализа;
5. надежность аппаратного оформления;
6. малая погрешность анализа;
7. малый размер анализируемой пробы;
8. возможность автоматизации анализа.

Недостатки метода ГХ

1. Прерывистость процесса;
2. измерения относительные. (разбавление пробы)
3. необходимость градуировки при изменении условий хроматографирования.

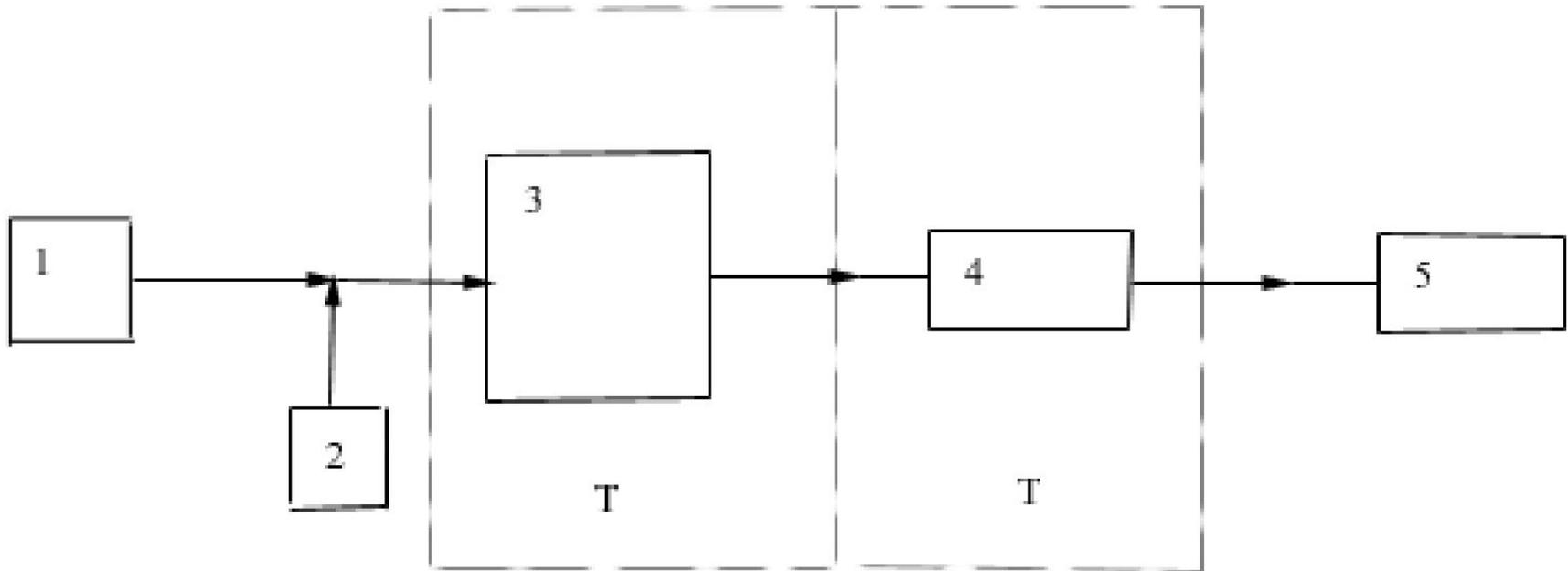
Применение ГХ

1. Технологический контроль в химической, нефтехимической, газовой промышленности;
 2. контроль загрязнений окружающей среды;
 3. сертификация пищевых продуктов;
 4. клинические анализы, применения в биологии и медицине.
 5. применение в геологоразведке
-

Основные достижения

1. анализ супертоксикантов (ПАУ, пестицидов, афлатоксинов и др.) на уровне ppb, ppt;
2. анализ нефтепродуктов, нефти;
3. энантиомерный анализ;
4. анализ компонентов запахов и ароматов;
5. анализ атмосферы планет;
6. анализ органических загрязнителей атмосферы;
7. криминалитические анализы;
8. допинговый контроль;
9. анализ взрывчатых веществ;
10. анализ биомаркеров для ранней диагностики заболеваний;
11. анализ пищевых продуктов и напитков;
12. анализ в энергетике и
и многое другое.

Аппаратура



T- термостатируемые зоны.

1. _____

Система подачи газа-носителя

3. Хроматографическая колонка

2. _____

4. _____

5. _____

Система сбора и обработки данных (регистратор)

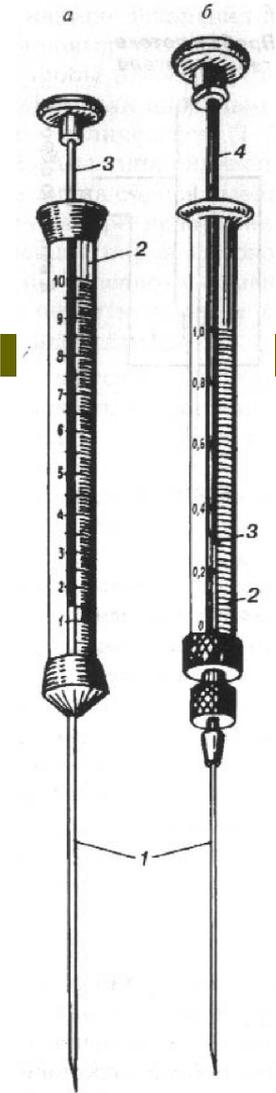
2.

- а) азот (преимущества – низкая стоимость, простая очистка, безопасность в работе, относительно высокая молекулярная масса. Недостаток – низкая теплопроводность.
- б) электролитический водород – высокая теплопроводность, низкая вязкость (малый перепад давлений в колонке). Недостатки – значительная диффузия разделяемых веществ, опасность взрыва при утечке.
- в) гелий- преимущества как и у азота и водорода. Недостаток – высокая цена.
- г) аргон – для ионизационных детекторов – низкая цена.

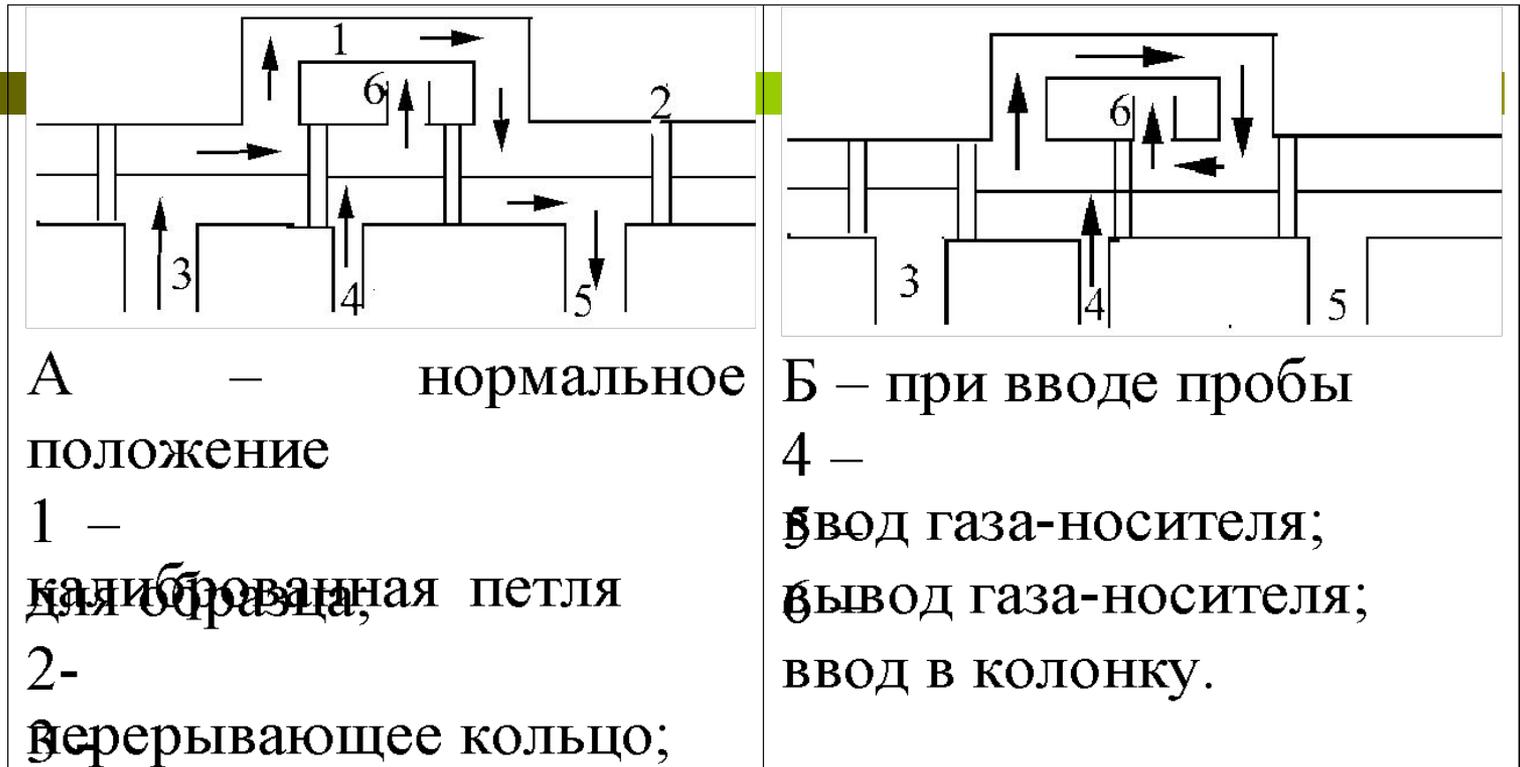
3. Система ввода проб.

а) микрошприцы

Рис. Микрошприцы с дозируемым объемом, заключенным в цилиндре (а) и в игле (б). 1 – игла, 2 –



б) дозирующие краны



1 – калиброванная петля для образца;

2 – веревчатое кольцо;

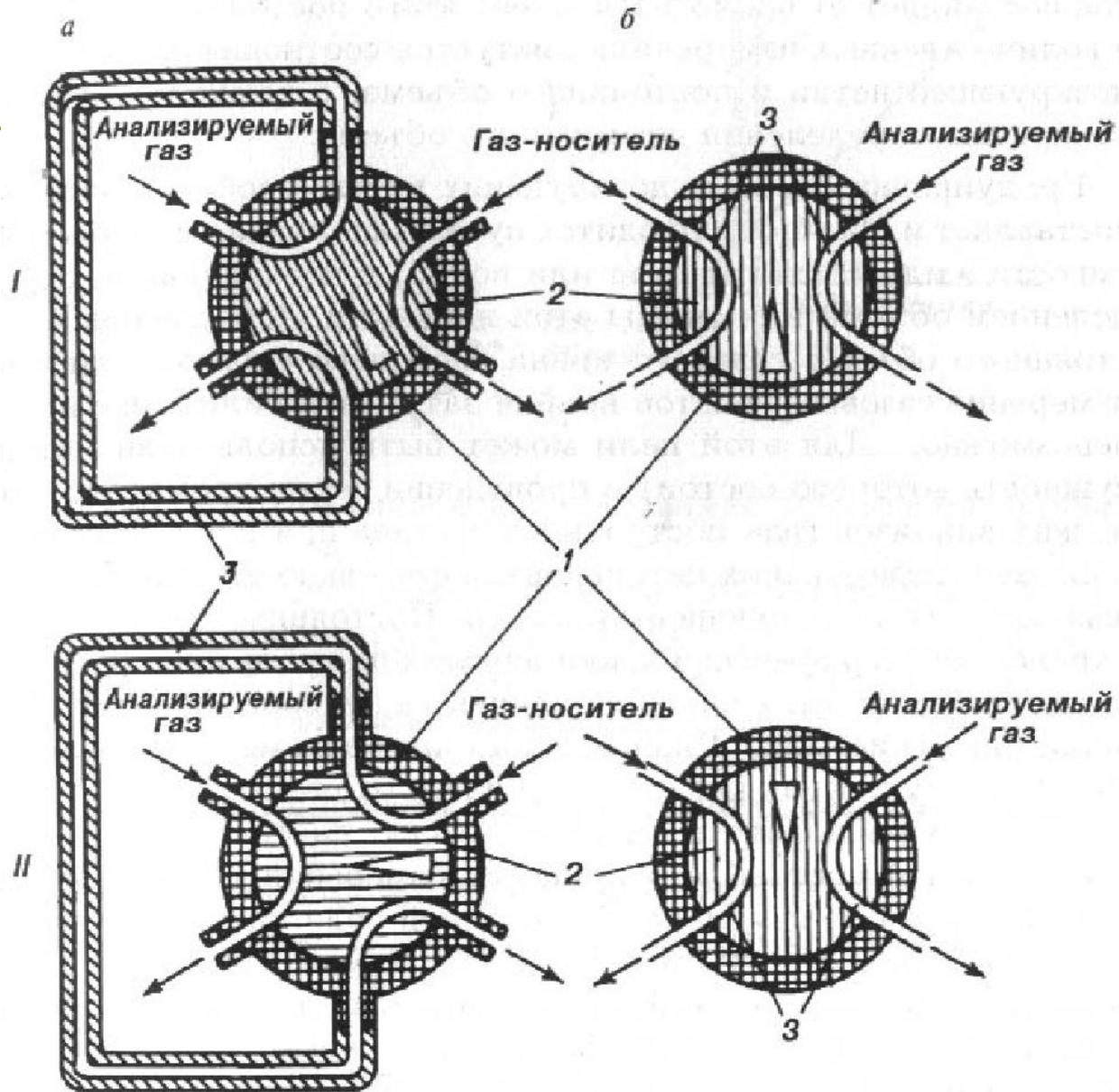
3 – ввод образца;

4 – ввод газа-носителя;

5 – вывод газа-носителя;

6 – ввод в колонку.

Вращающийся дозирующий кран.



Испаритель - «инжектор»

1 – корпус; 2 – канал испарения
уплотнение из силиконовой
резины; 4 – прижимная гайка.



Хроматографические колонки

- из стекла,
 - металла (стальные, медные),
 - полимерные материалы (тефлоновые)
-
- Насадочные (диаметр 2-15 мм);
 - Микронасадочные (диаметр 0,8-1,5 мм);
 - Полые капиллярные (0,1-0,8 мм).

Неподвижные фазы

Жидкости, используемые в качестве неподвижных фаз в ГХ, должны быть

- термически и химически стойкими;
- малолетучими;

- температура кипения должна быть примерно на 100 °С выше, чем требуемая температура колонки;

- обладать селективностью различные K_i ;
- коэффициенты распределения не слишком малые, не слишком большие (величина в зависимости от условий хроматографирования);

Полярные фазы содержат функциональные группы –CN, -C=O, -ОН или полиэфирные –

для разделения спиртов, органических кислот и аминов;

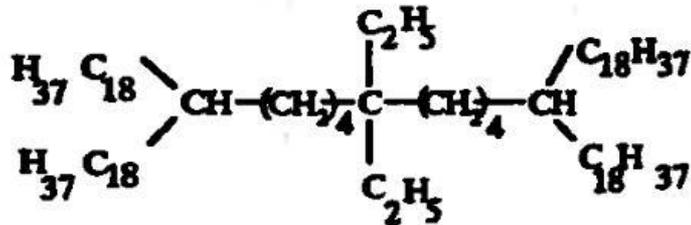
Полярные - углеводороды или силоксаны – для разделения насыщенных или галогенированных углеводородов

Вещества **средней полярности** (простые эфиры, кетоны, альдегиды) следует разделять на модифицированных фазах.

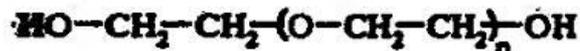
Химически связанные НФ- обладают высокой термостабильностью и не десорбируются с колонки, поскольку разделяющая жидкость химической реакцией ковалентно связывается с поверхностью материала носителя.

Таблица 5.2-3. Жидкие неподвижные фазы в ГХ (некоторые формулы см. рис. 5.2-7)

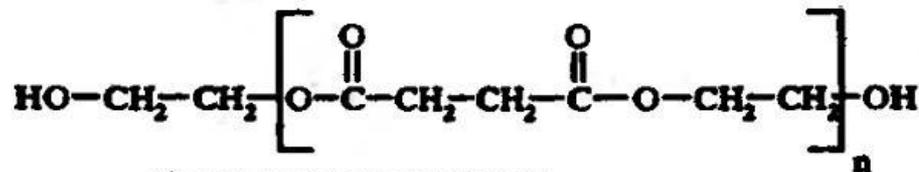
Разделяемые соединения	Фаза	Температура, °C	Полярность
Углеводороды	Сквалан	20...150	Неполярная
	Аполан-87	50...300	Неполярная
Полигликоли	Полиэтиленгликоль (CARBOWAX)	50...225	Полярная
Сложные эфиры	Этиленгликоль сукцинат	100...200	Сильнополярная
Соединения, содержащие азот	Диизодециладипат	20...125	Среднеполярная
	1,2,3-Трис-(2-цианоэтокси)пропан (CYANO B)	110...200	Полярная



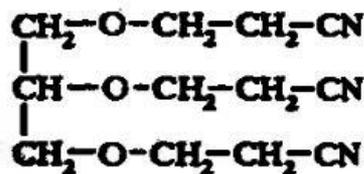
Аполан-87



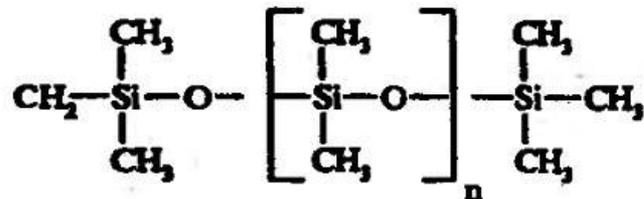
Полиэтиленгликоль



Полиэтиленгликольсукцинат



1,2,3-Трис-(2-цианоэтокси)пропан



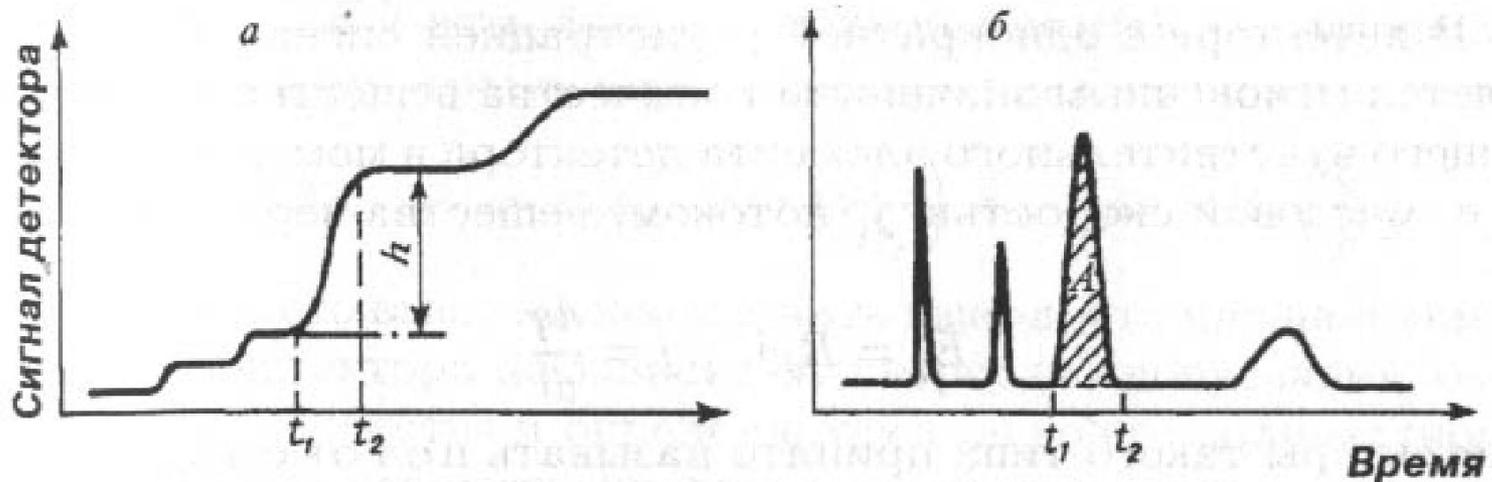
Полидиметилсилоксаны

Структурные формулы некоторых жидких фаз.

ДЕТЕКТОРЫ.

- интегральные;
- дифференциальные

Интегральные измеряют суммарное количество соединения
Дифференциальный детектор передает мгновенное изменение количественной характеристики.



Интегральная (а) и дифференциальная (б) хроматограммы.

Принцип действия детектора может быть различен. Существуют общие критерии оценки:

- селективность;
- чувствительность;
- реакция;
- шум;
- нижний предел детектирования;
- линейность отклика.

Характеристики детектора

Чувствительность детектора –

соответствующая минимальному детектируемому количеству, концентрации или потоку вещества.

$$S = I / \varphi$$

$$S = I / C$$

Димбат, Портер и Штроссе [Dimbat M., Porter P.E., Stross F.H.// anal Chem., V. 28. P. 280 (1956)]

$$S_c = AC_1C_2C_3 / m \quad [S]=1\text{мВ}\cdot\text{см}^3/$$

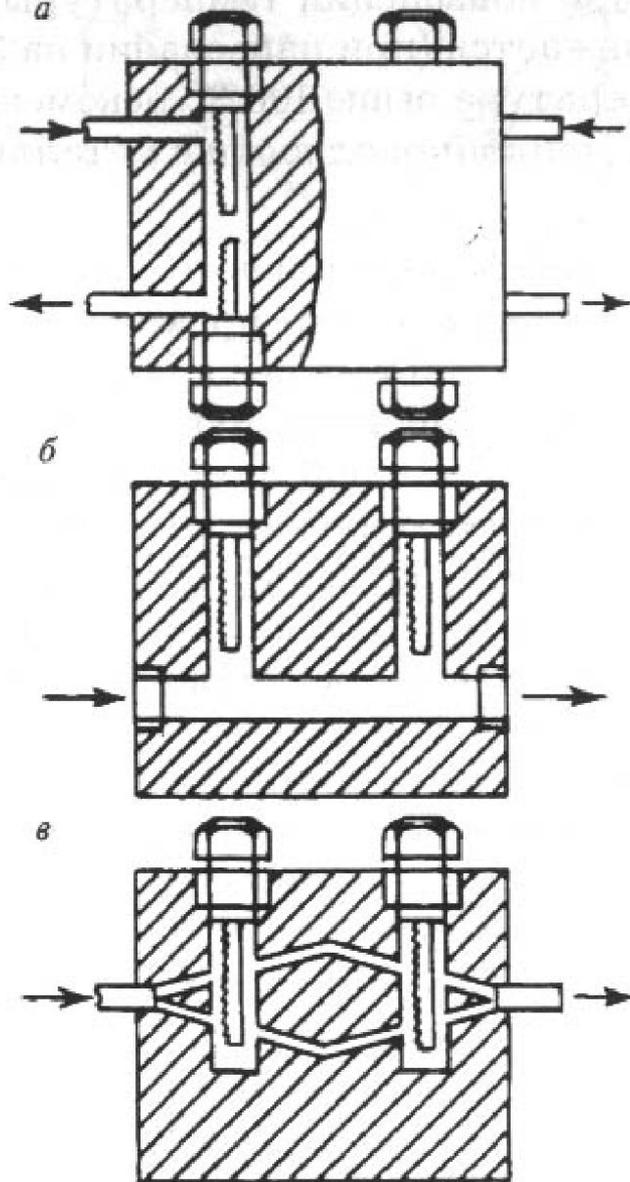
где C_1 – мВ/см;
 C_2 – чувствительность самописца,
(величина обратная скорости протяжки ленты
мин/см) (мин^3);
 m -объемная скорость газа-носителя, см

$$S_j = AC_1C_2 / m \quad S_j = \frac{I}{dm/dt}$$

коэффициент чувствительности, $f=Q/A$

Детектор по теплопроводности

- Простота;
- низкая стоимость;
- универсальность;
- достаточная чувствительность;
- высокая линейность в области больших концентраций;
- хорошая воспроизводимость данных и стабильная работа.



Типы ячеек детектора по теплопроводности.

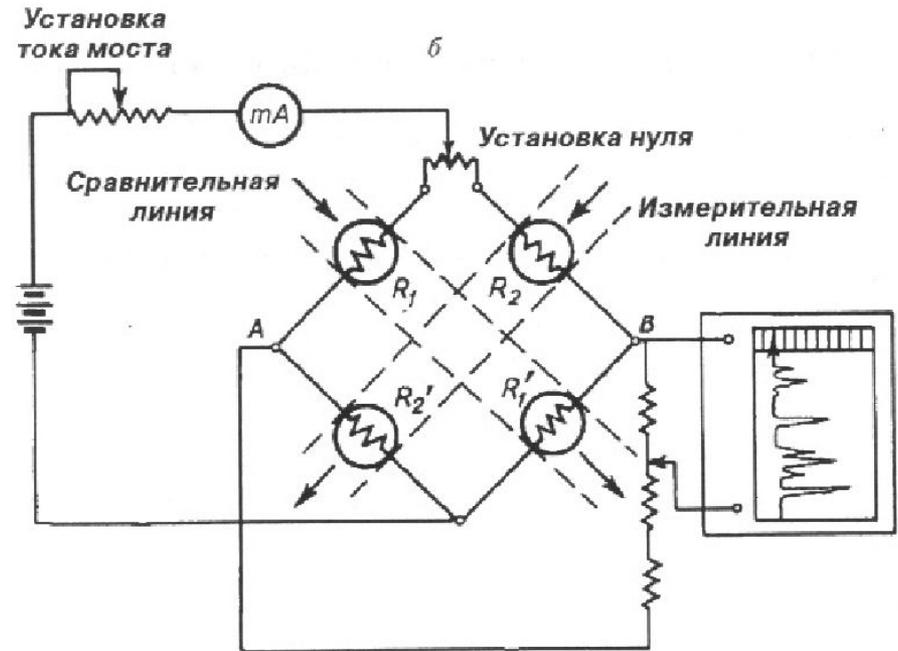
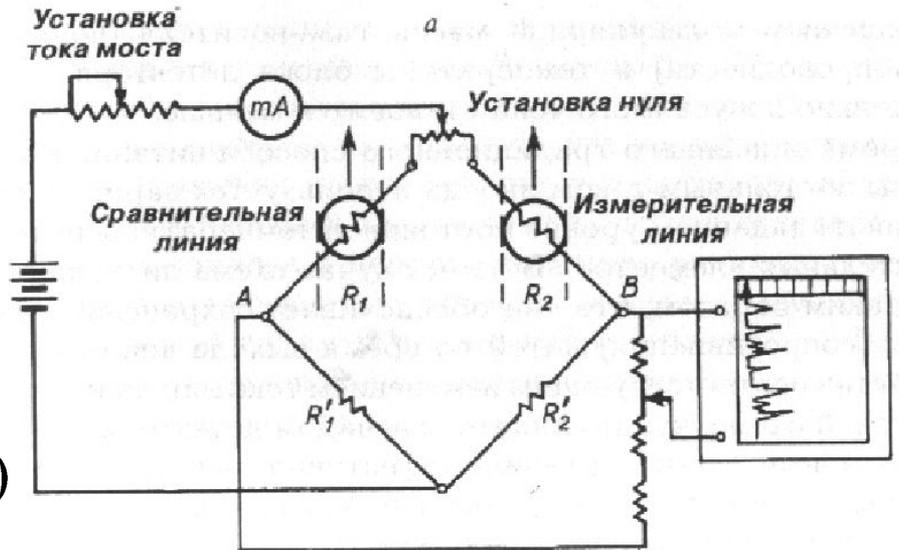
а – проточные;

б- диффузионные;

в– полудиффузионные.

Стрелками показано направление потока газа-носителя.

Схема включения двух- (а)
и четырехплечевого (б)
катарометров в
измерительный мост



Ионизационные детекторы

Пламенно-ионизационный детектор (ПИД)

- относительно высокой чувствительностью;
- линейностью;
- высокой надежностью;
- линейный диапазон велик (около 10^7);
- мало инертен;
- Не чувствителен к воде (анализ проб, содержащих воду, окруж. сред);
- Высокое быстродействие;
- Температура выше $500\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- Не чувствителен к NO , NO_2 , H_2S , CO , CO_2 , NH_3 , HCOH и др.

Принцип действия

электропроводность газа прямо пропорциональна концентрации в нем заряженных частиц.

Газ, выходящий из колонки проходит через пространство между электродами мимо источника ионизации, который ионизирует часть молекул в газовом потоке.

При прохождении компонента через электродное пространство концентрация заряженных частиц возрастает, сопротивление падает, ток увеличивается, что регистрируется и выводится на самописец или на дисплей ЭВМ.

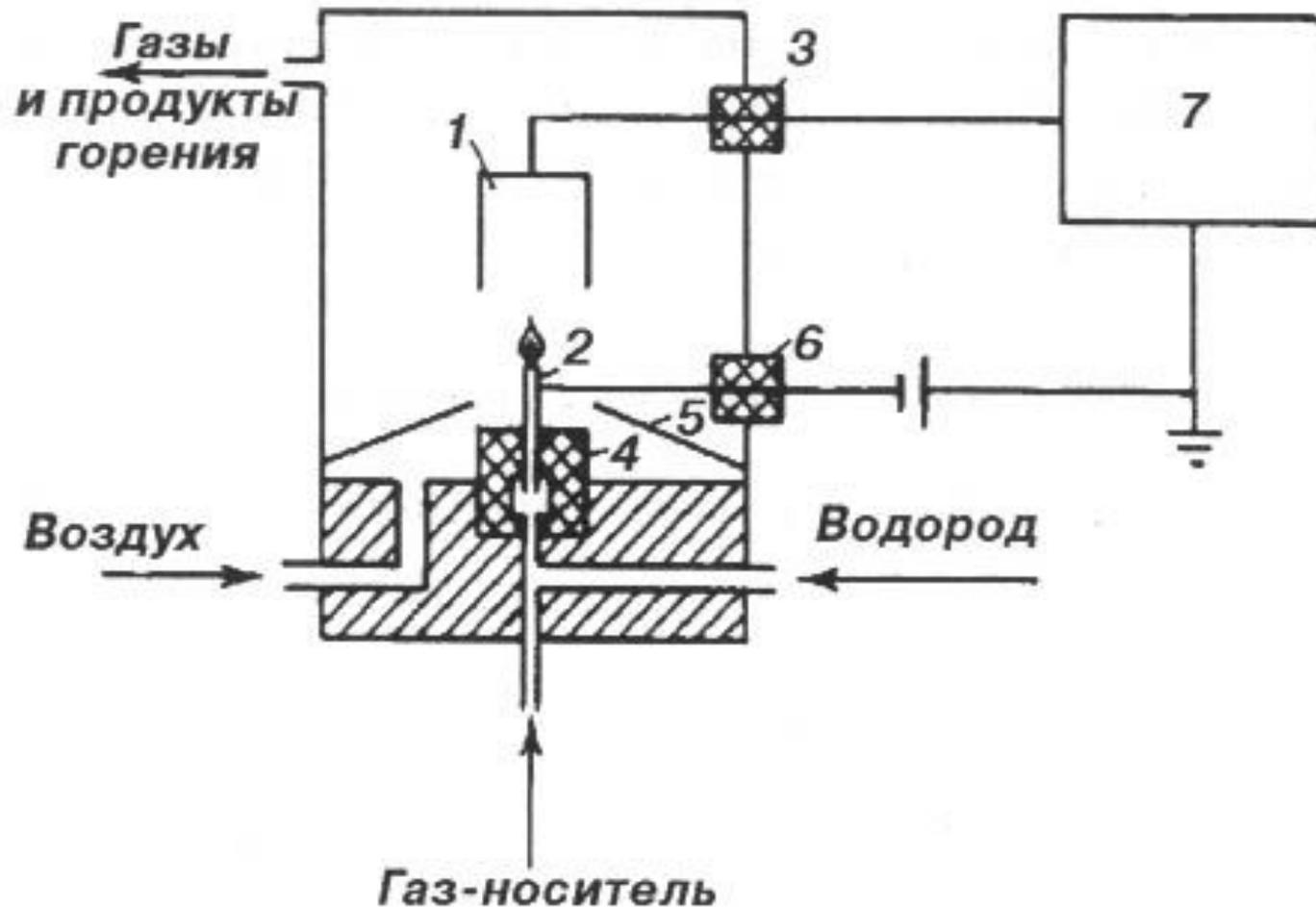


Схема пламенно-ионизационного детектора.

1 –

электрод-коллектор; 2 – горелка; 3 – горелочный изолятор; 4 – горелка; 5 – диффузор; 6 – изолятор питания; 7 – электромметр.

Термоионный детектор (ТИД)

- Детектор ионизации пламени с щелочным металлом является модифицированным ПИДом.
- Наиболее чувствителен и селективен к
 - Фосфорорганике;
 - Азот-, галогенсодержащим веществам.

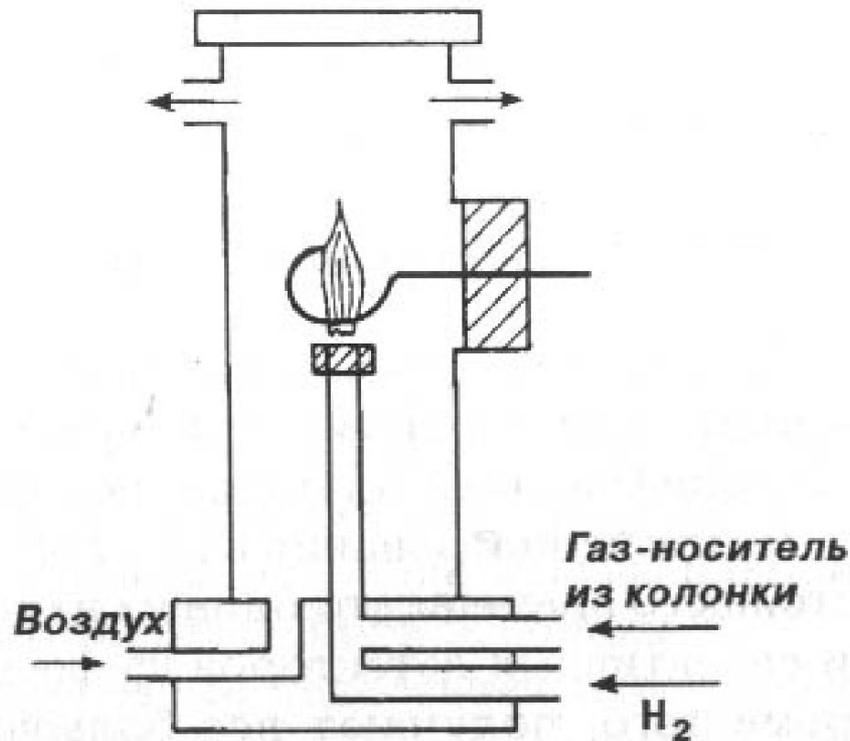


Рис. II.31. Схема термоионного детектора.

Анализируемая молекула

разрушается

в пламени водорода

с образованием

с

заряженными комплексами солей щелочных

металлов

увеличению

скорости образования ионов.

Электронно-захватный детектор (ЭЗД)

- ДЭЗ измеряет не увеличение тока, а его уменьшение.
- Под действием радиоактивного излучения в камере детектора происходит ионизация молекул газа-носителя.
- Когда элюируется анализируемое вещество, которое имеет значительное сродство к электрону, то молекулы захватывают электроны,

КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

- хроматографические
- нехроматографические методы.

ИК-спектроскопи, масс-спектроскопии

Хроматографические

А) объем и время удерживания V_R и t_R

Б) Относительный объем удерживания

Стандарт должен быть:

- Сходен с анализируемым веществом;
- Иметь время удерживания того же порядка;
- Легко разделяться с компонентами.

$$\frac{t_{Rx}}{t_{Rст}}$$

[Kovats E. Sz. Helv. Chim Acta, V 41, 1915 (1958)]

Индексы удерживания определены Ковачем по отношению к 2-м стандартам – n-алканов, пики которых окружают пик определяемого вещества.

Зависит от:

- длины колонки;
- диаметра колонки;
- вида и количества неподвижной фазы;
- температуры колонки.

Индексы удерживания (Ковача) в изотермической газовой хроматографии характеризуют

удерживание вещества i при температуре t ($^{\circ}\text{C}$) относительно двух стандартных (реперных) n -алканов с числом атомов углерода z и $z+n$

$$J_{t,^{\circ}\text{C}(i)}^{H.\phi.} = 100 \left[z + n \frac{\lg t'_{R(i)} - \lg t'_{R(z)}}{\lg t'_{R(z+n)} - \lg t'_{R(z)}} \right], \quad (1)$$

$t'_{R(i)}$ -

$t'_{R(z)}$ - исправленное время удерживания неизвестного вещества; n -алкана, регистрируемого

на хроматограмме ранее неизвестного вещества;

$t'_{R(z+n)}$ -

n -алкана, регистрируемого на хроматограмме после неизвестного вещества.

$$t'_{R(z)} \leq t'_{R(i)} \leq t'_{R(z+n)}. \quad (2)$$



Количественный анализ хроматограмм

- По высоте (h);
- По площади (A)

Высота пика сильно зависит от рабочих условий:

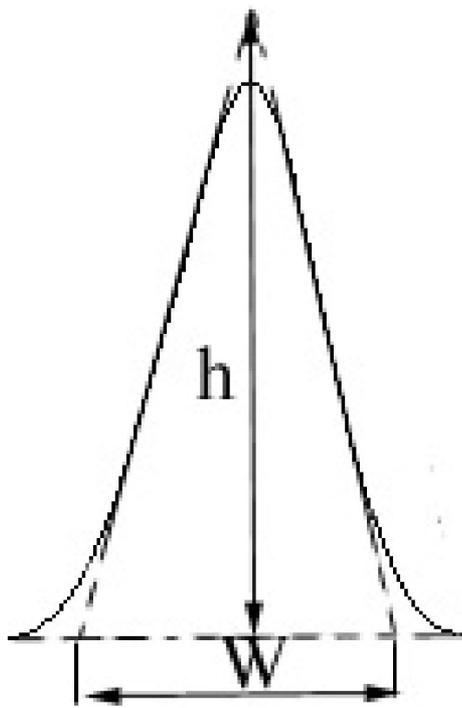
- температура t^0 ;
- скорости газа-носителя;
- размер введенного образца.

Высота пика измеряется по перпендикуляру от нулевой линии до максимума пика независимо от дрейфа нулевой линии.

3.

(ошибка 4%)

Расчет площади треугольника или триангуляция.

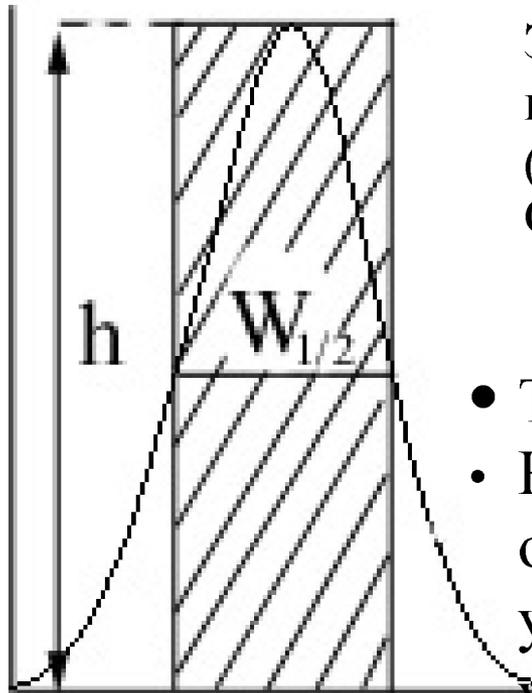


$$A=0.5hW$$

- неопределенность в определении точек перегиба.
- нельзя определить площадь узких и высоких, а также асимметричных пиков.

4.

~~Определение площади как произведения ширины на высоту или квадрирование кривой.~~



Эта методика пригодна для определения площади симметричных пиков (ошибка 2,5%).

($A_{\text{изм}} = 0,939 \cdot A_{\text{ист}}$ Способ Кремера).

- Триангуляция более точна;
- Квадрирование менее точный метод определения площади, т.к. пики уширены на полувысоте, высота же уменьшается в меньшей степени.

5.

Измерение площади пика (V/c) помощью
интеграторов (ошибка 3-4%)

Ошибки - из-за невосприятия интегратором
начала и конца пика и дрейфа нулевой линии.

6.

Измерение площади пика компьютерным
интегрированием (ошибка 0,5%)

7.

фактор асимметричности пика $F=A/B$,

Методы количественного анализа

1.

~~Прямой метод. Метод внутренней нормализации~~

□ Этот метод применяется если

- все компоненты смеси элюируются из колонки
- и детектор дает линейные и воспроизводимые данные одинаковой чувствительности для всех компонентов.

□ реализуется

- для оптических изомеров и в ограниченной степени для насыщенных углеводородов с ПИД.

$$C_i(\%) = \frac{A_i}{\sum_{i=1}^n A_i} \cdot 100$$

Б) Метод внутренней нормализации с поправочным коэффициентом.

$$C_i(\%) = \frac{K_i A_i}{\sum_{i=1}^n K_i A_i} \cdot 100$$

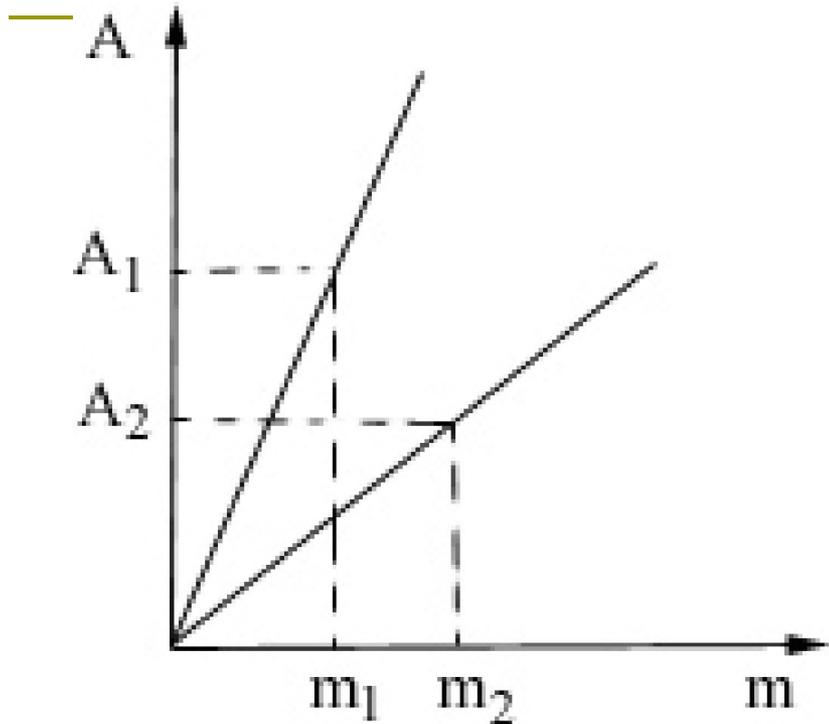
$$K_{CT} = \frac{A_{CT}}{m_{CT}}$$

$$K_i = \frac{A_i}{m_i}$$

$$K'_i = \frac{K_i}{K_{CT}}$$

$$C_i(\%) = \frac{K'_i A_i}{\sum_{i=1}^n K'_i A_i} \cdot 100$$

2.



Калибровочная кривая должна быть линейной и проходить через начало координат.

$$Q_i(\%) = \frac{m_i}{\sum_{i=1}^n m_i} \cdot 100$$

- необходимо точно определить массу вводимой в колонку пробы,
- условия строго постоянны.

$$K_i = \frac{m_i}{A_i}, \quad 2$$

$$Q_i(\%) = K_i \frac{A_i(h_i)}{m_{пр}} \cdot 100$$

3.

- Приготавливают смеси содержащие анализируемые компоненты и внутренний стандарт в различных соотношениях,
- хроматографируют,
- определяют площади пиков
- строят калибровочный график в координатах: отношение площади пиков к отношению масс компонентов и стандарта.
- известное количество внутреннего стандарта добавляют к известному количеству образца и смесь хроматографируют
- находят соотношение R_1 и по калибровочному графику находят R_2 и зная m_{CT} находят m_i .

$$R_1 = \frac{A_i}{A_{CT}} = \frac{h_i}{h_{CT}} = \frac{C_i}{C_{CT}}$$

$$R_2 = \frac{m_i}{m_{CT}}$$