

Московский Государственный Технический Университет имени Н.Э. Баумана

Кафедра Э4

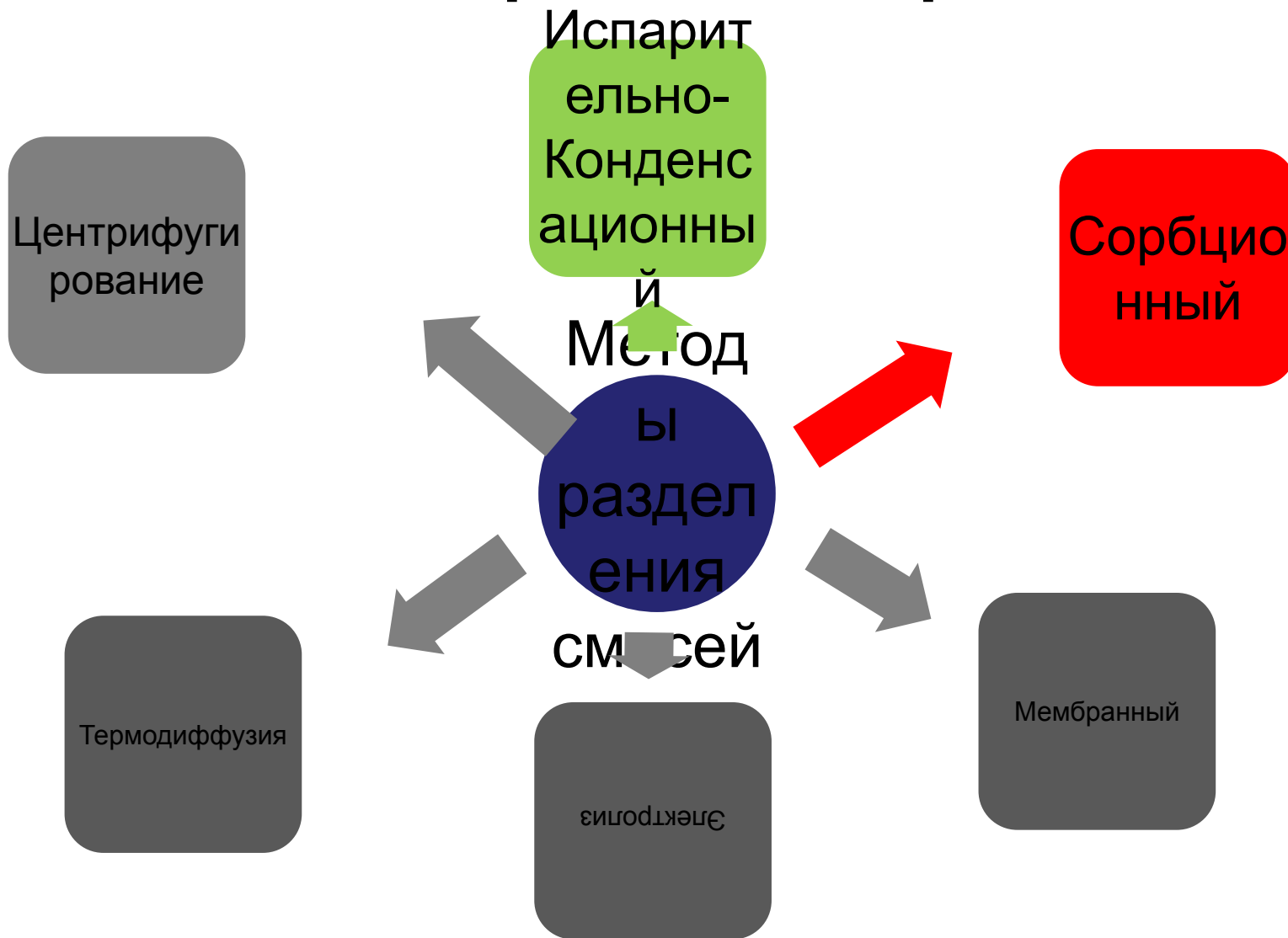
Холодильная, криогенная техника, системы кондиционирования и жизнеобеспечения

Хроматографические методы анализа

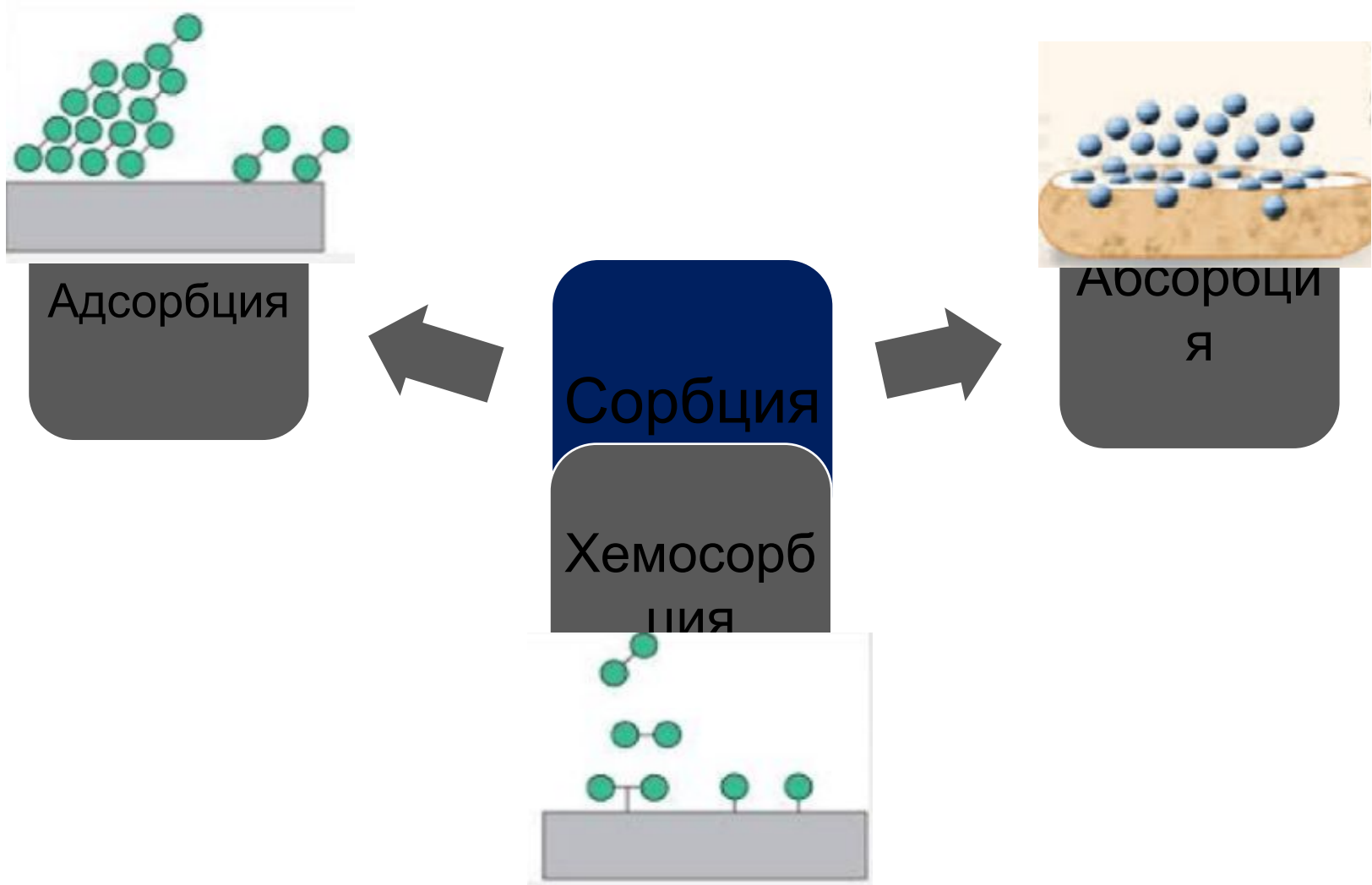
Дмитрий Сергеевич Деньщиков

Лекция 1. Основные термины и определения

Основные термины и определения

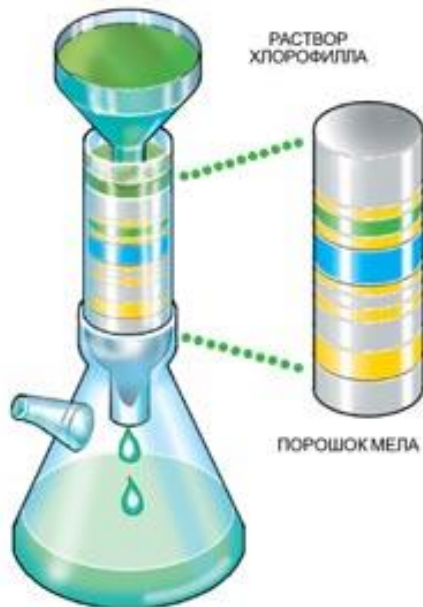


Основные термины и определения



Основные термины и определения

Михаил Семёнович Цвет – русский ботаник и биохимик растений, создатель хроматографического метода (1902-1906 гг). Впервые разделил пигмент хлорофилл на составляющие.



Описание эксперимента

В стеклянную трубку, заполненную порошком мела, наливают концентрированный раствор экстракта листьев. Далее в трубку медленно (практически по каплям) наливается растворитель (спирт, петролейный эфир и т.д.) По мере протекания растворителя с концентратом через слой порошка мела, образуются слои различных цветов. Это области сорбции различных составляющих пигмента хлорофилла.

Основные термины и определения

Согласно рекомендации ИЮПАК термин «Хроматография» имеет 3 значения и используется для обозначения специального раздела науки, процесса а также метода разделения смесей:

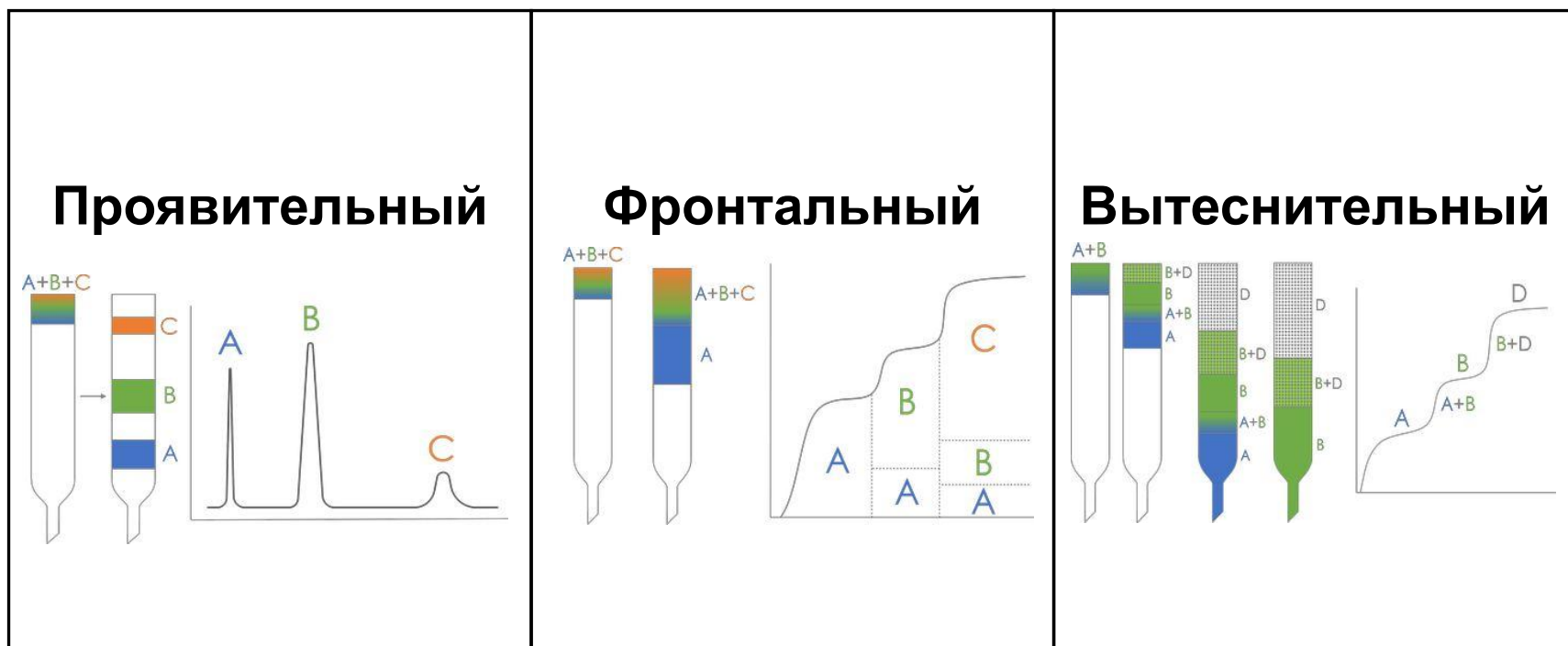
- **Хроматография** – наука о межмолекулярных взаимодействиях и переносе молекул или частиц в системе несмешивающихся движущихся относительно друг друга фаз
- **Хроматография** – процесс многократного перераспределения веществ между несмешивающимися движущимися относительно друг друга фазами, приводящий к обособлению концентрационных зон индивидуальных компонентов исходных смесей этих веществ
- **Хроматография** – метод разделения смесей веществ основанный на различиях в скоростях их перемещения в системе несмешивающихся движущихся относительно друг друга фаз

Классификация хроматографических методов

1. По способу перемещения сорбатов вдоль слоя сорбента: *проявительный, фронтальный, вытеснительный*
2. По природе процессов, обуславливающих распределение сорбатов между подвижной и неподвижной фазой: *адсорбционная, абсорбционная, ионообменная, осадочная, гель-хроматография*
3. В зависимости от агрегатного состояния подвижной и неподвижной фазы: *газовая, промежуточная, жидкостная*
4. По способу оформления: *колоночная, плоскостная*
5. В зависимости от целей хроматографического процесса: *аналитическая, неаналитическая, препаративная, промышленная*

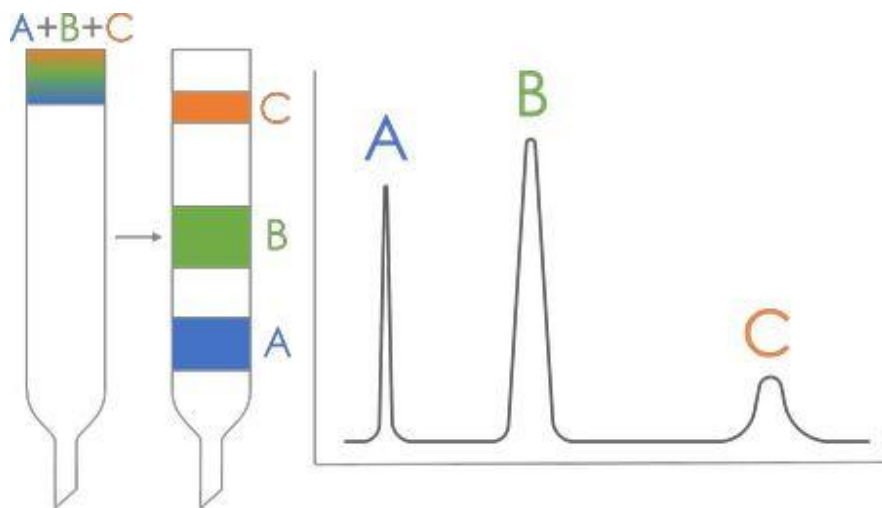
Классификация хроматографических методов

1. По способу перемещения сорбатов вдоль слоя сорбента



Классификация хроматографических методов

Проявительный



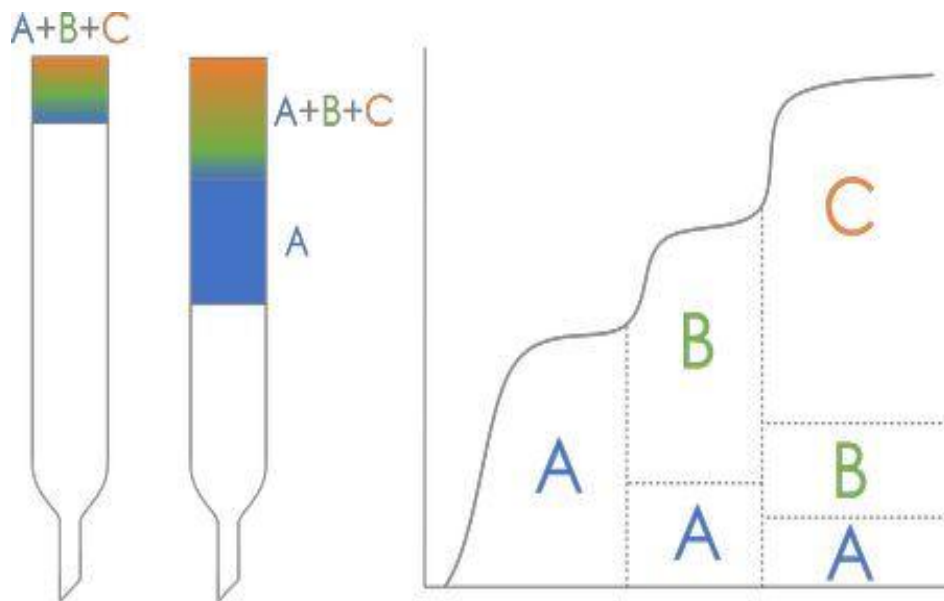
Сорбаты переносятся через слой сорбента потоком вещества, называемого **элюентом (ПФ)**. Элюент сорбируется хуже, чем сорбаты (на рисунке к методу он не изображен).

Таким образом, постепенно сорбаты будут выносятся из сорбента потоком элюента отдельными зонами, а в промежутках между ними из сорбента будет выходить чистый элюент.

Такой метод может быть проведен при постоянной или переменной температуре.

Классификация хроматографических методов

Фронтальный

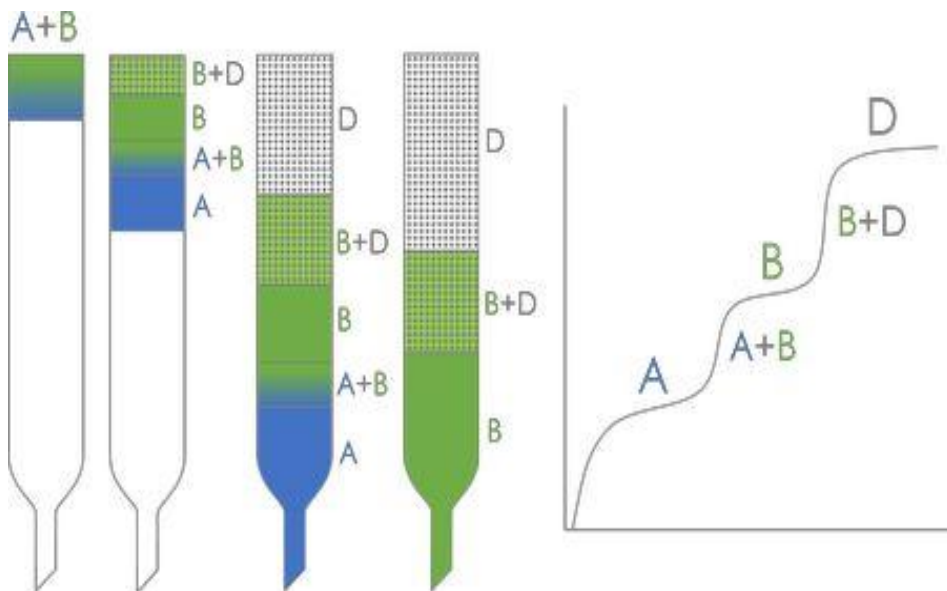


В таком методе происходит непрерывное пропускание разделяемой смеси через слой сорбента, при этом на сорбенте происходит образование зон, содержащих последовательно увеличивающееся число компонентов.

Из сорбента выходит в начале порция, в которой наименее сорбирующееся вещество, а в конце – порция, у которой состав соответствует исходной смеси.

Классификация хроматографических методов

Вытеснительный



Метод характеризуется тем, что осуществляется перенос разделяемой смеси потоком вещества (вытеснителя – на рисунке D), способного сорбироваться лучше, чем любой из компонентов смеси.

Постепенно образуются зоны компонентов, расположенные в порядке увеличения сорбируемости.

Классификация хроматографических методов

2. По природе процессов, обуславливающих распределение сорбатов между подвижной и неподвижной фазой

- Адсорбционная
- Абсорбционная
- Ионообменная
- Осадочная
- Гель-хроматография

Классификация хроматографических методов

Адсорбционная хроматография

В качестве элементарных актов рассматриваются процессы адсорбции и разделение, основанное на различии в адсорбируемости компонентов. Различия в адсорбируемости компонентов вытекают из различий в свойствах, строении и структуре молекул объемной фазы, взаимодействующих с адсорбентом – различна энергия поглощения разделяемых компонентов.

Необходимая для процессов адсорбции энергия обусловлена физическими силами межмолекулярного взаимодействия (ван-дер-ваальсовыми силами) или силами химического сродства.

Классификация хроматографических методов

Абсорбционная хроматография

В основе лежит поглощение разделяемых веществ жидкостью, то есть отличия компонентов смеси по растворимости является главным условием для разделения смеси. Природа сил межмолекулярного взаимодействия имеет тот же характер, что и в случае адсорбционной хроматографии, в большей степени играют роль силы физического взаимодействия.

Разделение в этом случае происходит на границе двух несмешивающихся фаз – подвижной и неподвижной, а процесс разделения обуславливается различием коэффициентов распределения компонентов разделяемой смеси между этими фазами.

Классификация хроматографических методов

Ионообменная хроматография

Задержание молекул веществ в неподвижной фазе обусловленное их связыванием с поверхностью твердого гидрофильного материала сплошных или пористых гранул, находящихся в контакте с жидким элюентом. В этом варианте хроматографии задержание происходит в результате электростатического взаимодействия разноименно заряженных ионов. В отличие от абсорбции, ионный обмен описывается стехиометрическим химическим уравнением, что важно и для ионной хроматографии.

Однако в ионообменниках часто наблюдается и физическая адсорбция. Разделение в этом случае происходит благодаря разному сродству компонентов определяемой смеси к неподвижной фазе и, следовательно, разным скоростям перемещения по колонке. Ионообменная хроматография широко используется для решения многих биохимических проблем в научных исследованиях.

Классификация хроматографических методов

Осадочная хроматография

Разновидность жидкостной хроматографии, основанная на различной растворимости осадков, образующихся при взаимодействии компонентов анализируемой смеси в подвижной фазе с реагентом-осадителем, который в смеси с носителем составляет неподвижную фазу. Например, при разделении галогенид-ионов реагентом-осадителем служит соль серебра. В качестве носителя используют дисперсное вещество (Al_2O_3 , силикагель, целлюлозу, крахмал, уголь, иониты) или фильтровальную бумагу, а в качестве подвижной фазы - чистый растворитель или раствор, в котором растворимость осадков разного состава различна (например, раствор кислоты или щелочи). Разделение смеси в ОХ происходит в результате многократного повторения актов образования и растворения осадков; скорость перемещения осадков пропорциональна их растворимости в данном элюенте и определяется произведением активностей образующихся малорастворимых соединений. Хроматограммой в ОХ называют картину распределения хроматографических зон по слою неподвижной фазы после завершения разделения.

Классификация хроматографических методов

Гель-хроматография

Молекулы веществ разделяются по размеру за счёт их разной способности проникать в поры неподвижной фазы. При этом первыми выходят из колонки наиболее крупные молекулы (бóльшей молекулярной массы), способные проникать в минимальное число пор стационарной фазы. Последними выходят вещества с малыми размерами молекул, свободно проникающие в поры.

В отличие от адсорбционной хроматографии, при гель-фильтрации стационарная фаза остаётся химически инертной и с разделяемыми веществами не взаимодействует.

Классификация хроматографических методов

3. В зависимости от агрегатного состояния подвижной и неподвижной фазы

Вид хроматографии	Подвижная Фаза (ПФ)	Неопдвижная фаза (НФ)
Газо-адсорбционная	Газ	Твердый адсорбент
Газо-жидкостная	Газ	Жидкость на поверхности инертного носителя
Промежуточная	Газ	Твердый адсорбент, пропитанный жидкостью
Жидкостно-жидкостная	Жидкость	Жидкость
Жидкостно-адсорбционная	Жидкость	Твердый адсорбент

Классификация хроматографических методов

4. По способу оформления процесса

Колоночная



Процесс проводится в трубке
заполненной сорбентом –
хроматографической колонке

Плоскостная



Процесс осуществляется на
плоскости специальной
хроматографической бумаги или
на пластинке покрытой слоем
сорбента

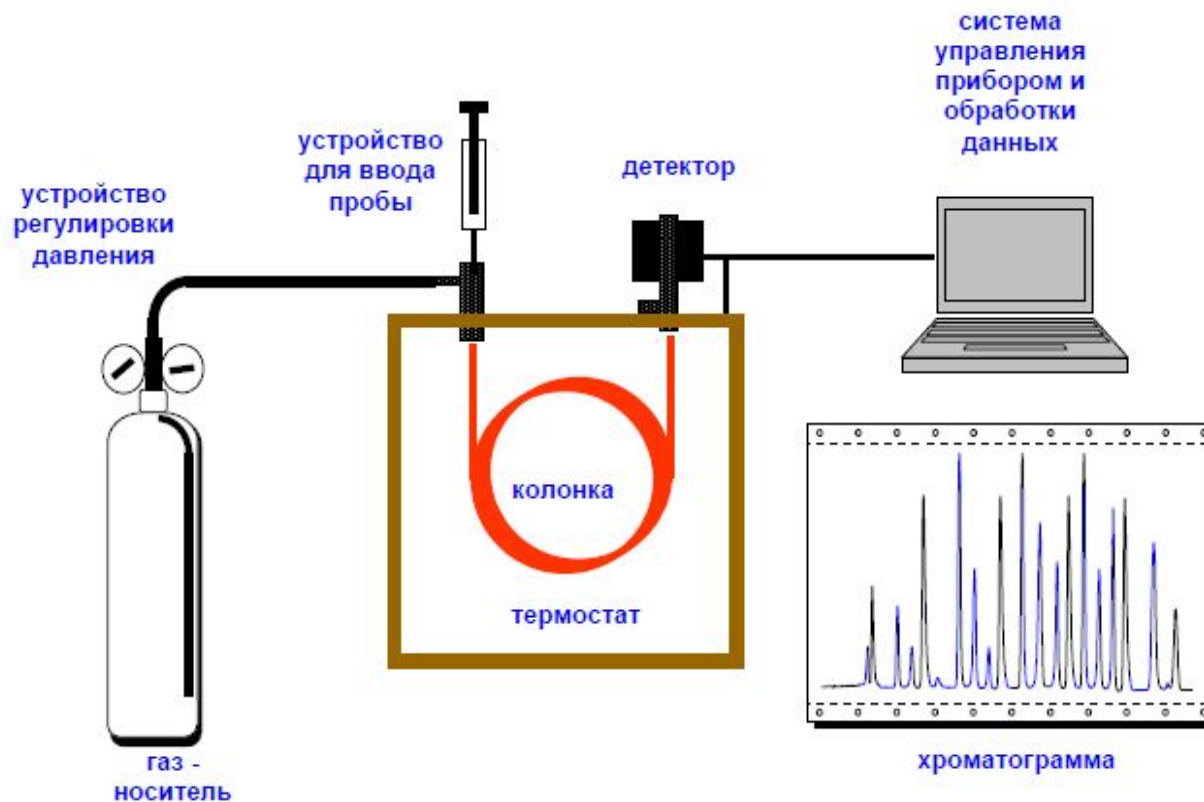
Классификация хроматографических методов

5. В зависимости от цели хроматографического процесса

<p>Аналитическая</p> <p>Определения качественного и количественного состава исследуемых проб</p>	<p>Неаналитическая</p> <p>Исследования физико-химических свойств веществ</p>
<p>Препаративная</p> <p>Выделение небольшого количество чистого компонента</p>	<p>Промышленная</p> <p>Получение большого количества чистых веществ</p>

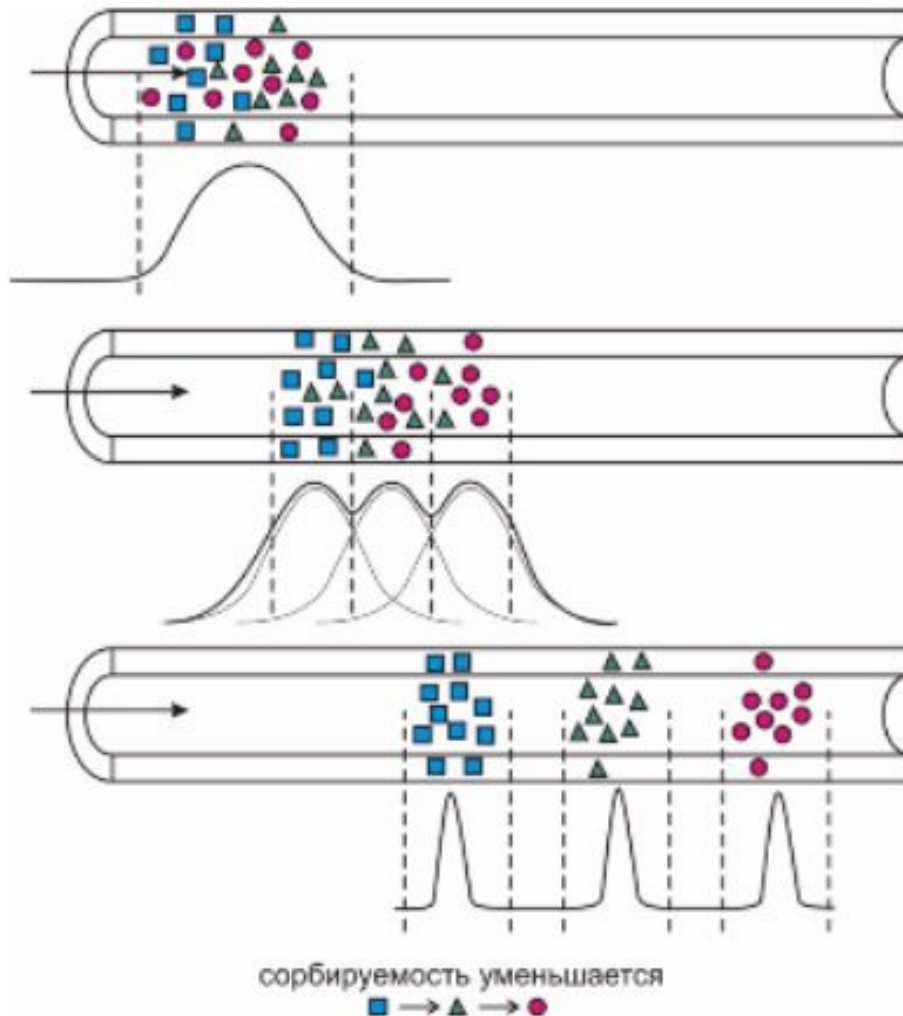
Лекция 2. Теоретические основы газо-адсорбционной колоночной хроматографии

Схема процесса



Хроматограф – прибор для проведения газохроматографического процесса (физико-химического метода разделения смеси веществ, основанного на перемещении разделяемой смеси в потоке подвижной фазы вдоль слоя неподвижной фазы и заключающегося в перераспределении разделяемых компонентов между двумя фазами).

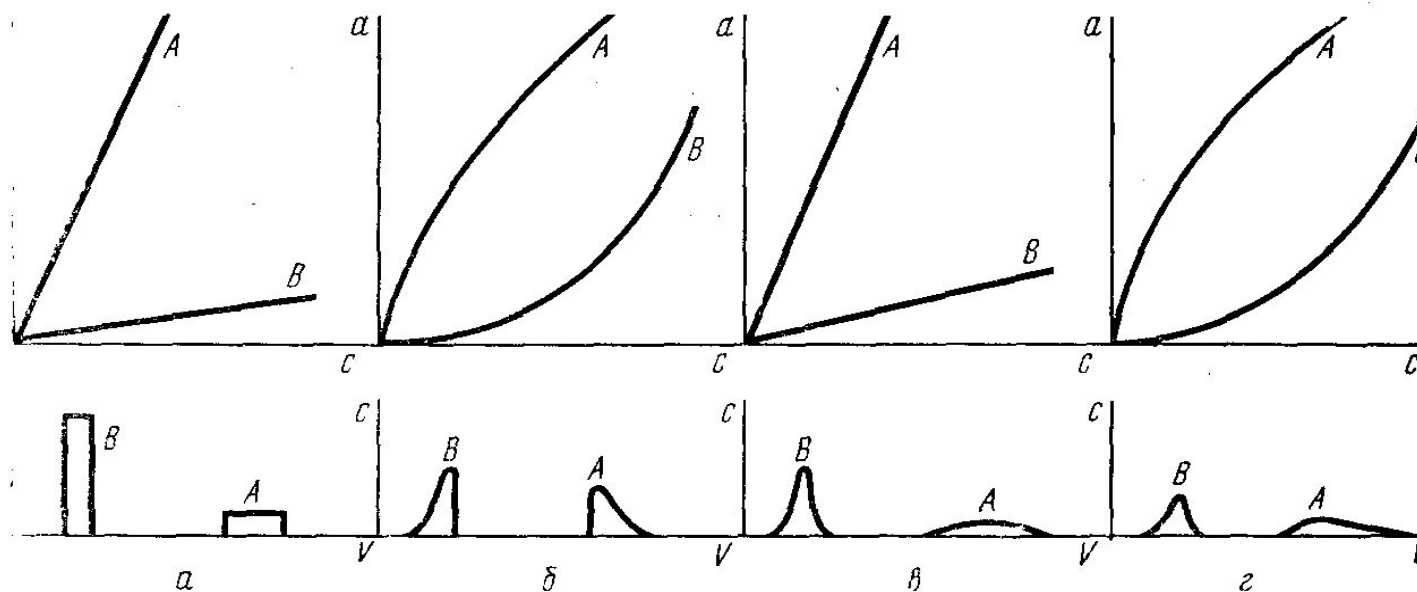
Образование хроматографических пиков



На практике разделяемая смесь вводится в колонку в виде узкой зоны и ее объемом по сравнению с объемом колонки можно пренебречь. По мере перемещения молекул разделяемых веществ с потоком ПФ зона постепенно расширяется. Главная причина данного процесса в том, что скорость перемещения по колонке отдельных молекул, отличается от средней скорости, характерной для данного компонента. Это явление называют **размыванием хроматографической зоны**, образуется концентрационный профиль в реальном времени.

Теории хроматографии

Изотермы адсорбции и соответствующие им формы хроматографических пиков



а – линейная идеальная; **б** – нелинейная идеальная;
в – линейная неидеальная; **г** – нелинейная неидеальная;

Теории хроматографии

Линейная хроматография

Рассматриваются процессы, описываемые линейной изотермой сорбции.

В таком случае обеспечиваются симметричные профили относительно точки с максимальной концентрацией зоны.

Различаются в данной теории 3 основных способа описания хроматографического процесса:

1. Метод макроскопических постоянных – слой сорбента рассматривается как макроскопически однородная среда, в большей степени рассматриваются процессы, которые происходят с большим числом молекул
2. Стохастическая теория – основное внимание уделяется процессам, происходящим с отдельно взятой молекулой
3. Теория тарелок – рассмотрение слоя сорбента как последовательность участков, на каждом из которых устанавливается равновесие

Теории хроматографии

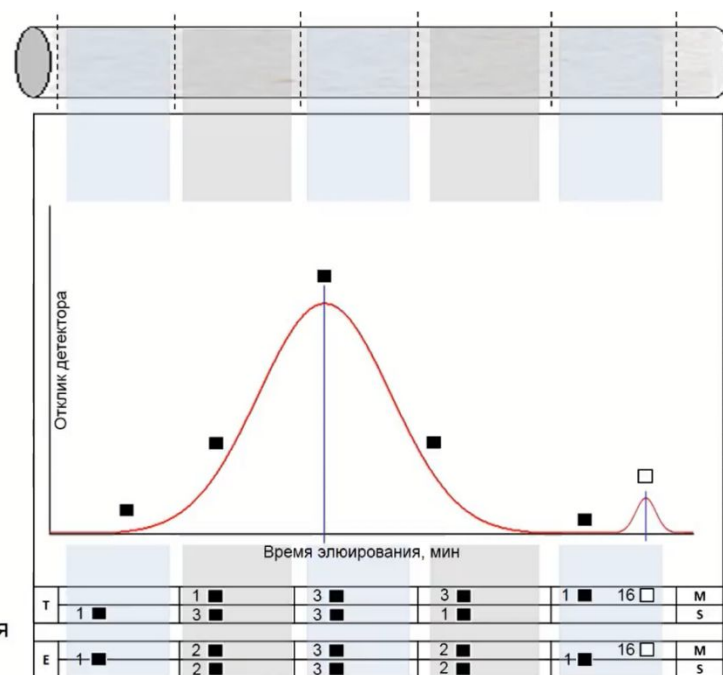
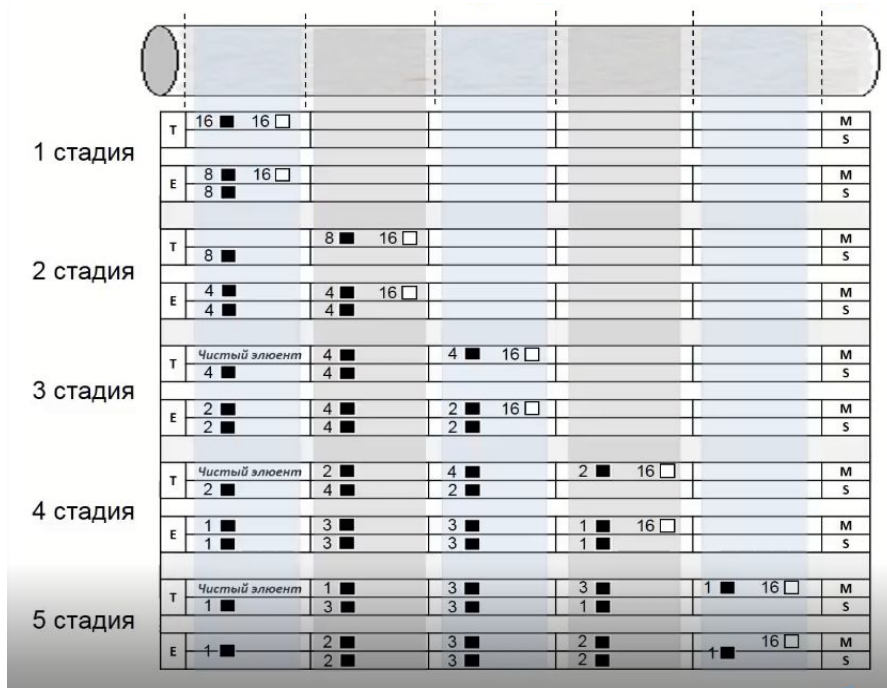
Нелинейная хроматография

Рассматриваются процессы, описываемые криволинейной изотермой сорбции. В таком случае обеспечиваются несимметричные профили хроматографических пиков относительно точки с максимальной концентрацией зоны.

В зависимости от того, учитывается ли время установления равновесия

т. Идеальной хроматографии	т. Неидеальной хроматографии
Основана на допущении о мгновенном установлении равновесия между фазами, то есть полагается, что скорость диффузии весьма значительна	Учитывается скорость установления равновесия в процессах диффузии

Теория эквивалентных теоретических тарелок



В каждый момент времени на каждом элементе колонки (теоретической тарелке) часть молекул адсорбируется, часть остается в подвижной фазе, то же самое происходит и с десорбцией молекул из неподвижной фазы, часть молекул десорбируется, остальные остаются в неподвижной фазе.

Все молекулы подвижной фазы переходят на следующий участок и процесс повторяется.

Теория эквивалентных теоретических тарелок

Теоретическая тарелка – зона (секция) хроматографической колонки, высота которой соответствует достижению равновесного состояния между двумя фазами (подвижной и неподвижной).

Распределение вещества вдоль слоя сорбента

$$C(x) = C_{max} \cdot \exp\left(\frac{-(x-x_0)^2}{2 \cdot L \cdot H}\right)$$

x_0 и C_{max} - координата центра полосы и соответствующая концентрация;
 L - длина слоя сорбента; H – высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ)

Высота, эквивалентная теоретической тарелке

$$H = L/N$$

N – число теоретических тарелок на длине слоя сорбента

Когда колонка высоко эффективна, то размывание хроматографического пика небольшое, пики узкие. В идеале, H приближается к диаметру зерна сорбента – d . При уменьшении H хроматографические пики становятся более узкими.

Кинетическая теория хроматографии

Вещества вводятся в колонку в виде узкой зоны, которая по мере ее движения с ПФ по колонке становится все шире, т. е. размывается в результате диффузионных процессов. При этом уширение полосы тем больше, чем больше **высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ, H)**.

Кинетическая теория хроматографии объясняет размывание хроматографических пиков тремя независимыми процессами:

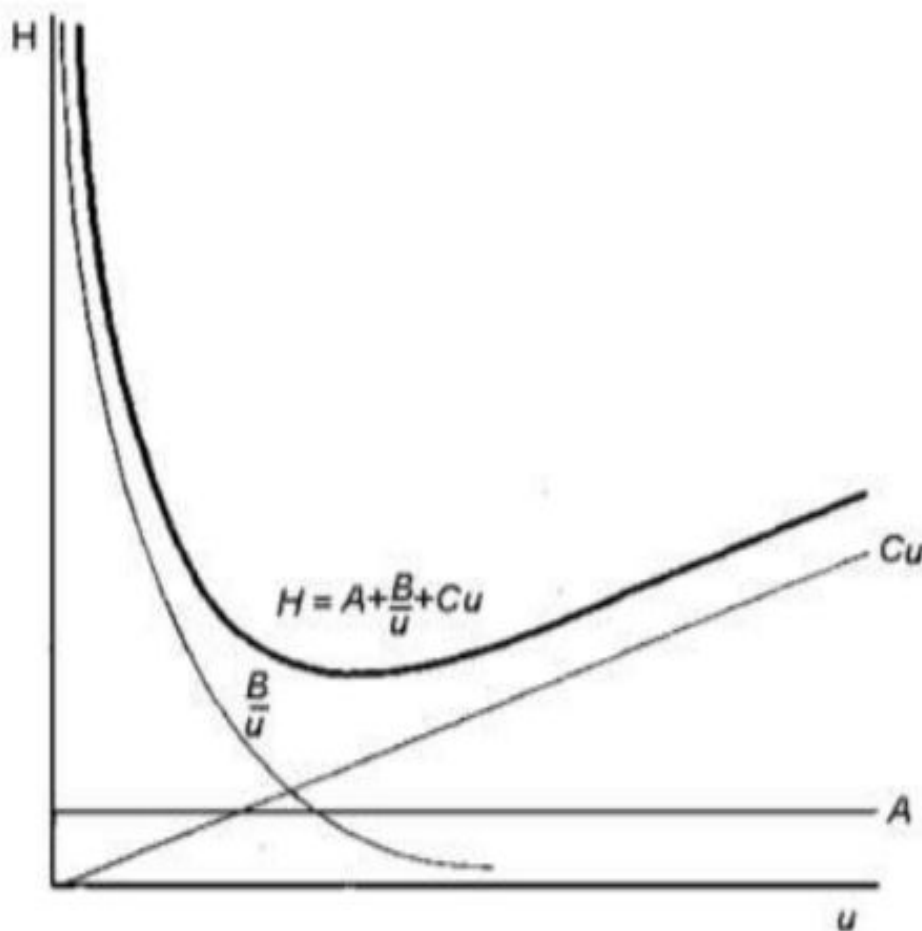
- Вихревая диффузия
- Продольная диффузия
- Сопротивление массопереносу

Влияние каждого из этих факторов описывается уравнением Ван-Деемтера:

$$H = A + \frac{B}{V} + C \cdot V$$

V – скорость подвижной фазы

Кинетическая теория хроматографии



Графическое представление
Уравнения Ван-Деемтера

H – ВЭТТ

u – скорость ПФ

A – Вихревая диффузия

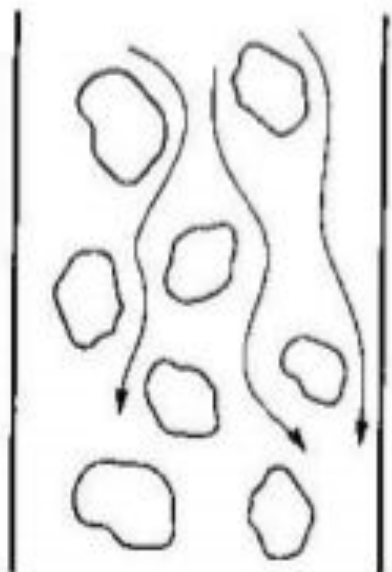
B/u – продольная диффузия

Cu – сопротивление массопереносу

Из данного уравнения следует,
что ВЭТТ имеет
оптимизационный минимум
зависимости от скорости ПФ.

Причины размытия хроматографических пиков

Вихревая диффузия



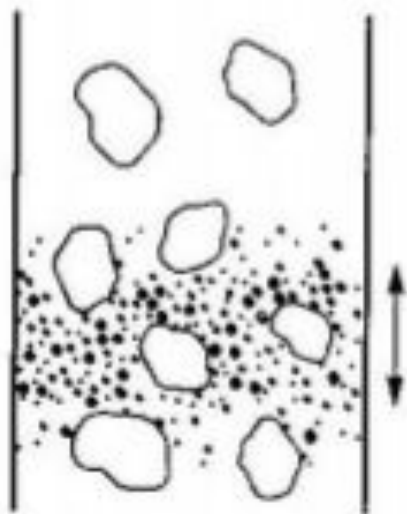
При движении по колонке с сорбентом, молекулы исследуемого вещества могут двигаться по различным траекториям. Различные траектории движения частицы с одинаковой скоростью проходят за разное время, что ведет к уширению хроматографического пика.

Коэффициент вихревой диффузии (A) зависит от параметра набивки колонки (λ) и диаметра гранул сорбента (d):

$$A = 2 \cdot \lambda \cdot d$$

Причины размытия хроматографических пиков

Продольная диффузия



Продольная диффузия молекул разделяемого вещества происходит как в ПФ, так и в НФ, однако, диффузия в НФ значительно медленнее. Этот коэффициент, в основном, связан с диффузией компонентов в ПФ.

Коэффициент продольной диффузии (B) зависит от извилистости потока (γ) и коэффициента диффузии в газовой фазе (D_M):

$$B = 2 \cdot \gamma \cdot D_M$$

Причины размытия хроматографических пиков

Сопротивление массопереносу

Для захвата молекул разделяемого вещества посредством НФ, требуется достигнуть ее поверхности.

Так как молекулы сорбата находятся в разных положениях по отношению к поверхности сорбента (ближе/дальше), то они не одновременно взаимодействуют с сорбентом.

Аналогично из-за разницы глубины диффузии внутрь сорбента происходит сопротивление массопереносу в неподвижной фазе.

По сути происходит осевая (перпендикулярная потоку) диффузия, на которую требуется определённое время. Следовательно, слагаемое S определяется коэффициентом диффузии анализируемого вещества в ПФ и НФ, а также величиной расстояния, которое необходимо преодолеть молекулам (здесь наиболее критична толщина слоя НФ). В отличие от слагаемого V , для быстрого эффективного массопереноса необходимо высокое значение коэффициента диффузии.

Методы повышения эффективности насадочной колонки

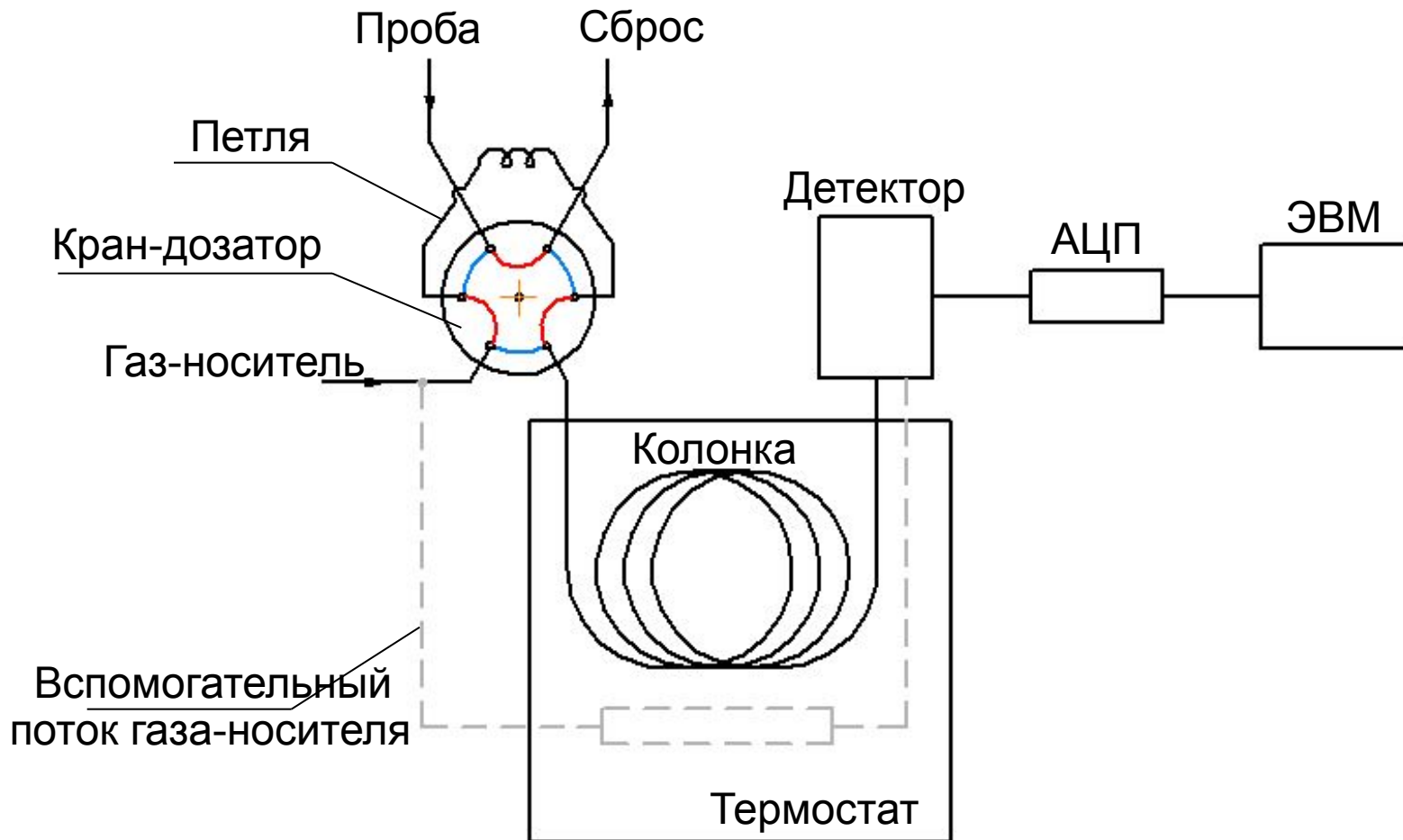
1. Использование частиц носителя неподвижной фазы малого диаметра, равномерно заполняющих колонку (меньше вклад диффузии);
2. Разделение при наименьшей практически возможной температуре (меньший вклад вносит диффузия);
3. Использование газа-носителя с большим молекулярным весом (меньшие оптимальные скорости);
4. Оптимизация скорости потока газа-носителя (в соответствии с уравнением Ван-Деемтера)

Соответствие оптимальных расходов газа-носителя и размера гранул сорбента различным длинам и диаметрам колонок

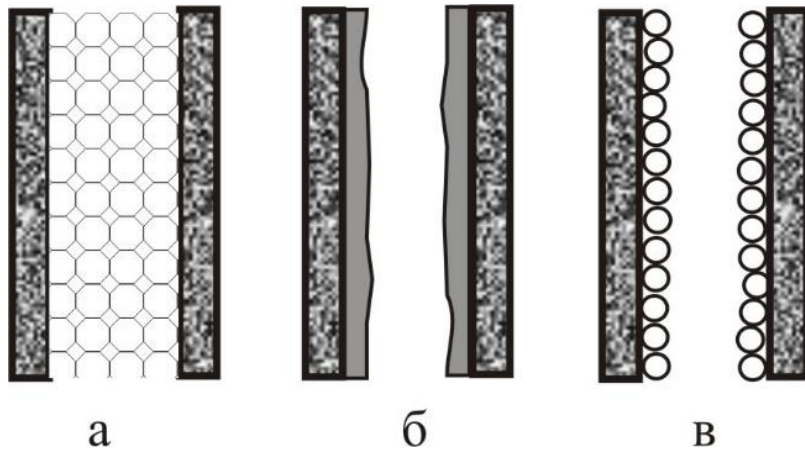
Диаметр колонки	Размер частиц (мм) в колонках длиной		Расход газа-носителя см ³ /мин	
	до 3 м	более 3 м	N ₂	He или H ₂
2 мм	0.11–0.12	0.12–0.18	8–15	15–30
3 мм	0.11–0.12	0.12–0.18	15–30	30–60
4 мм	0.12–0.18	0.18–0.25	30–60	60–100

Лекция 3. Хроматографическое оборудование

Основные узлы газогового хроматографа



Хроматографические колонки



а – насадочная
б – тонкопленочный капилляр
в – тонкослойный капилляр

В насадочных колонках сорбент расположен внутри трубки.

Капиллярные колонки представляют собой трубки, внутренние стенки которых покрыты тонким слоем неподвижной фазы.



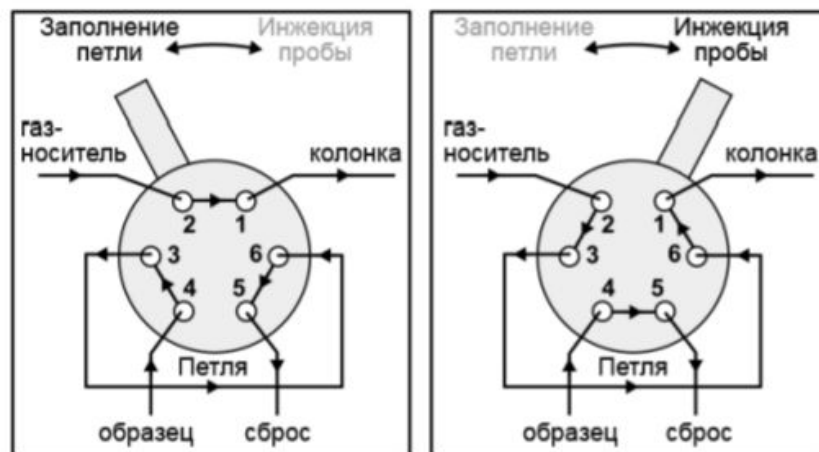
Хроматографические колонки

Тип колонки	Внутренний диаметр, мм	Длина колонки, м	Количество ТТ на 1 м
Аналитические насадочные	2 - 4	0,2 - 6	500 – 1000
Микронасадочные	0,5 - 1	0,5 - 2	
Капиллярные широкого диаметра	0,3 - 0,53	10 - 60	
Капиллярные	0,2 - 0,3	5 - 100	1000 - 4000
Узкие капиллярные	0,05 - 0,2	5 - 100	
Поликапиллярные	0,04	0,2 - 1	

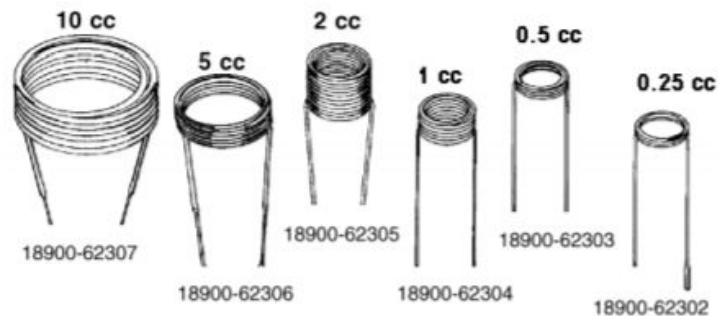
Устройства для ввода пробы

Кран-дозатор

Шприц



Петли крана-дозатора



Газ-носитель

Требования к газу-носителю

1. Инертность по отношению к разделяемым веществам и адсорбенту
2. Обеспечение высокой чувствительности детектора;
3. Минимальный коэффициент диффузии компонентов в газе-носителе для того, чтобы размытие полос было минимальным;
4. Минимальная вязкость для того, чтобы обеспечивать поддержание минимального перепада давлений в колонке

Параметры основных газов-носителей

Газ-носитель	μ , г/моль	V_{μ} , л	c_p , кал/моль \cdot°	Вязкость, $\times 10^{-5}$ Н \cdot с/м 3	λ , $\times 10^{-5}$ кал/(с \cdot см \cdot°)	$P_{кр}$, бар	$T_{кр}$, $^{\circ}$ С	$V_{кр}$, мл
N ₂	28,013	22,40	6,9	1,66	5,8	33,9	-147,1	56,2
H ₂	2,015	22,42	6,8	0,84	41,6	13,0	-239,9	64,3
He	4,003	22,42	5,1	1,87	34,8	2,3	-267,9	60,6

Системы детектирования



Требования к детектору

1. Достаточная чувствительность для решения задачи
2. Малая инерционность
3. Малая зависимость показаний от параметров опыта (T , P , $V_{\text{потока}}$)
4. Линейная связь между показаниями и концентрацией в широком интервале
5. Стабильность «нулевой линии»
6. Легкость записи сигнала и передачи его на расстояние
7. Простота, дешевизна

Системы детектирования

Детекторы

```
graph TD; A[Детекторы] --> B[Дифференциальные]; A --> C[Интегральные]; B --> D[Концентрационные (ДТП, ГИД)]; B --> E[Потоковые (ПИД)];
```

Дифференциальные

Измеряют мгновенную концентрацию компонентов

Интегральные

Регистрируют изменения во времени суммарного количества всех компонентов

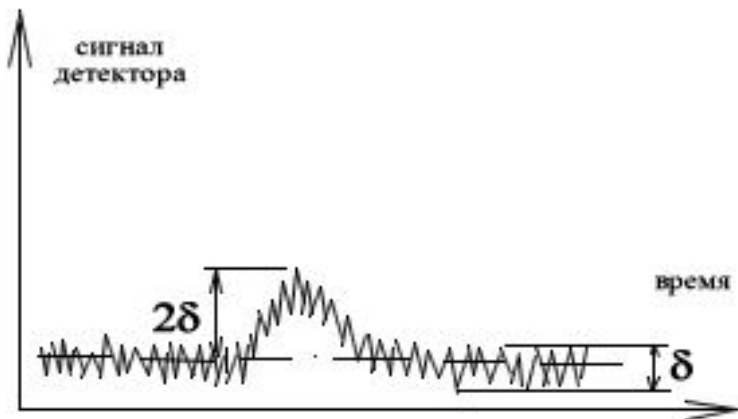
Концентрационные (ДТП, ГИД)

Сигнал пропорционален концентрации компонентов в смеси

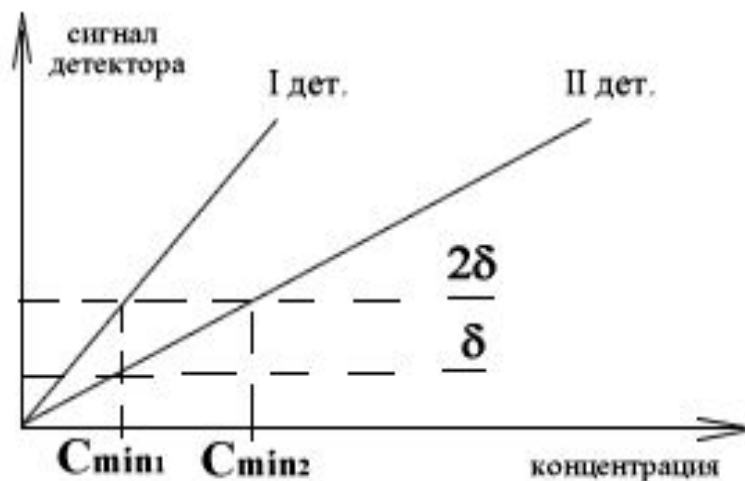
Потоковые (ПИД)

Сигнал пропорционален потоку вещества

Основные характеристики детекторов

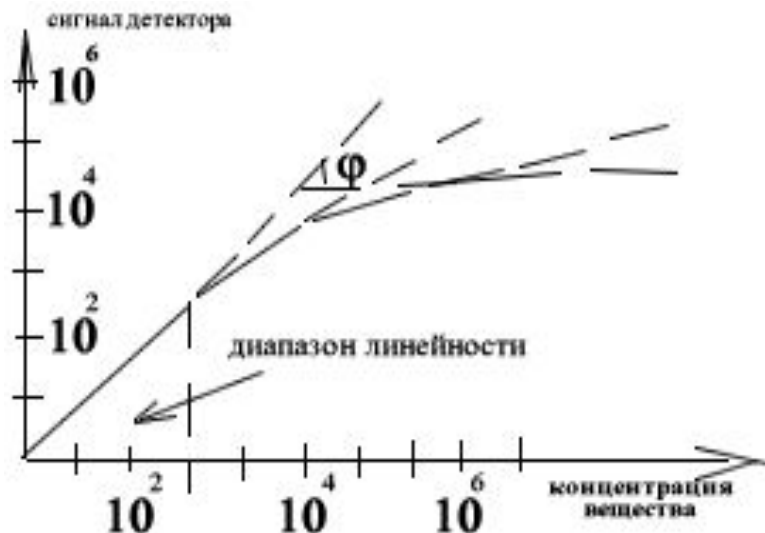


1. Предел детектирования (нижний предел детектирования, НПД) – минимальная концентрация вещества, которая может быть зафиксирована на фоне шумов



2. Чувствительность – отношение изменения выходного сигнала к изменению концентрации анализируемого вещества

Основные характеристики детекторов



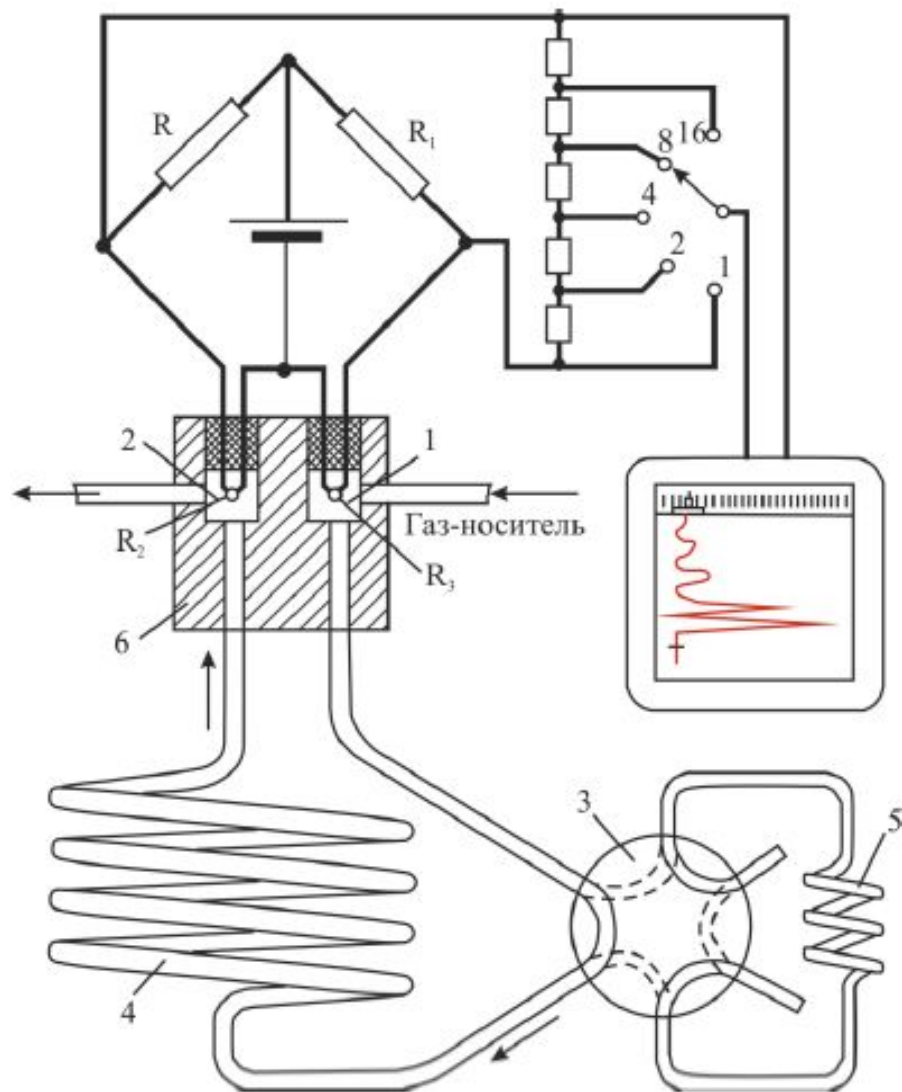
3. Линейность.

Сигнал детектора считается линейным, если для проб с различной концентрацией вещества сохраняется пропорциональная зависимость сигнала детектора от концентрации

4. Воспроизводимость – близость друг к другу отдельных значений в серии результатов повторных (параллельных) измерений. Количественной мерой воспроизводимости является **стандартное отклонение** сигналов детектора при анализе одинаковых проб.

5. Стабильность работы характеризуется низкой чувствительностью детектора к колебаниям температуры и скорости подвижной фазы

Детектор теплопроводности (ДТП, катарометр)



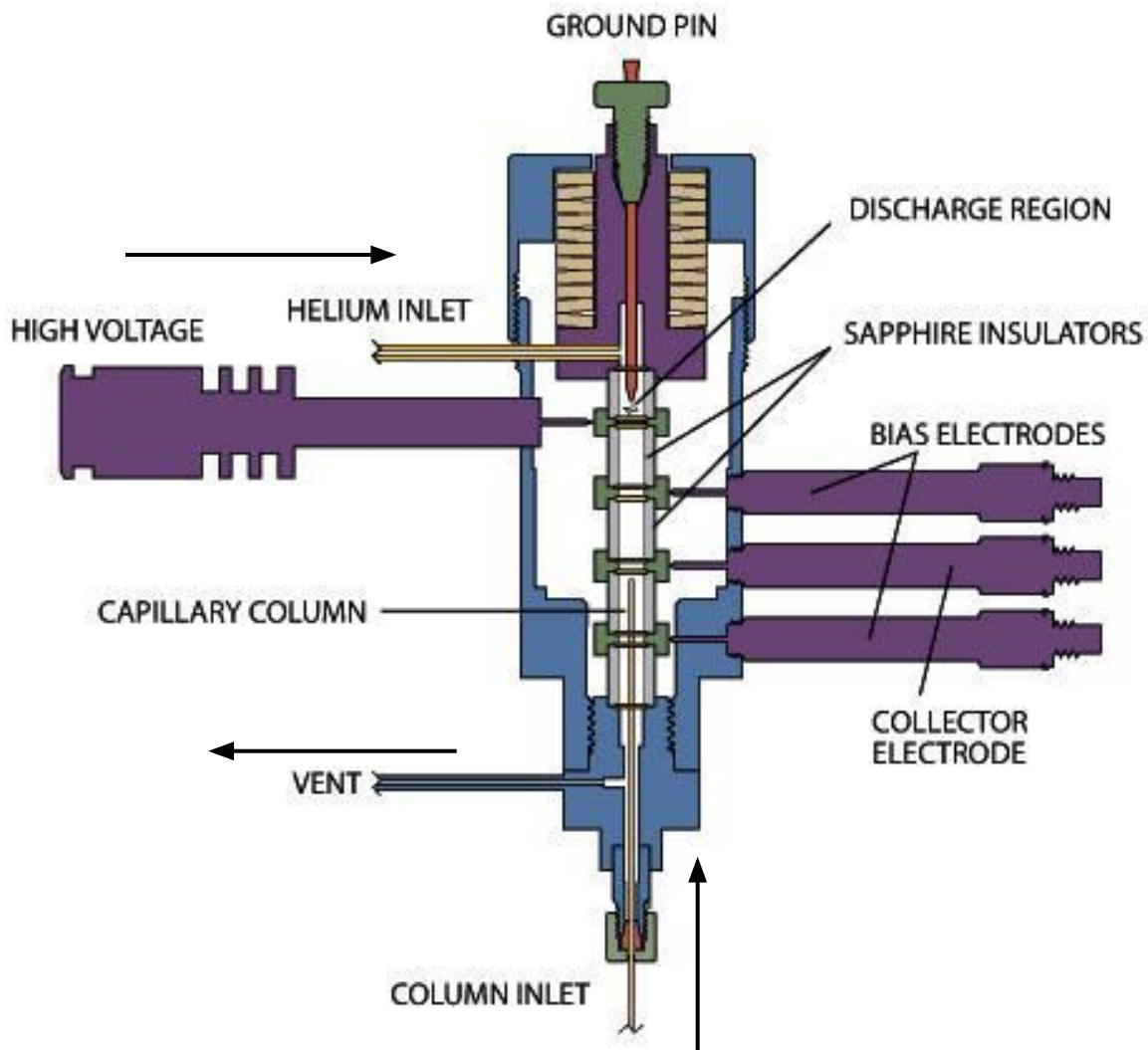
$$R = R_0(1 + \alpha t)$$

Измерения при постоянных:

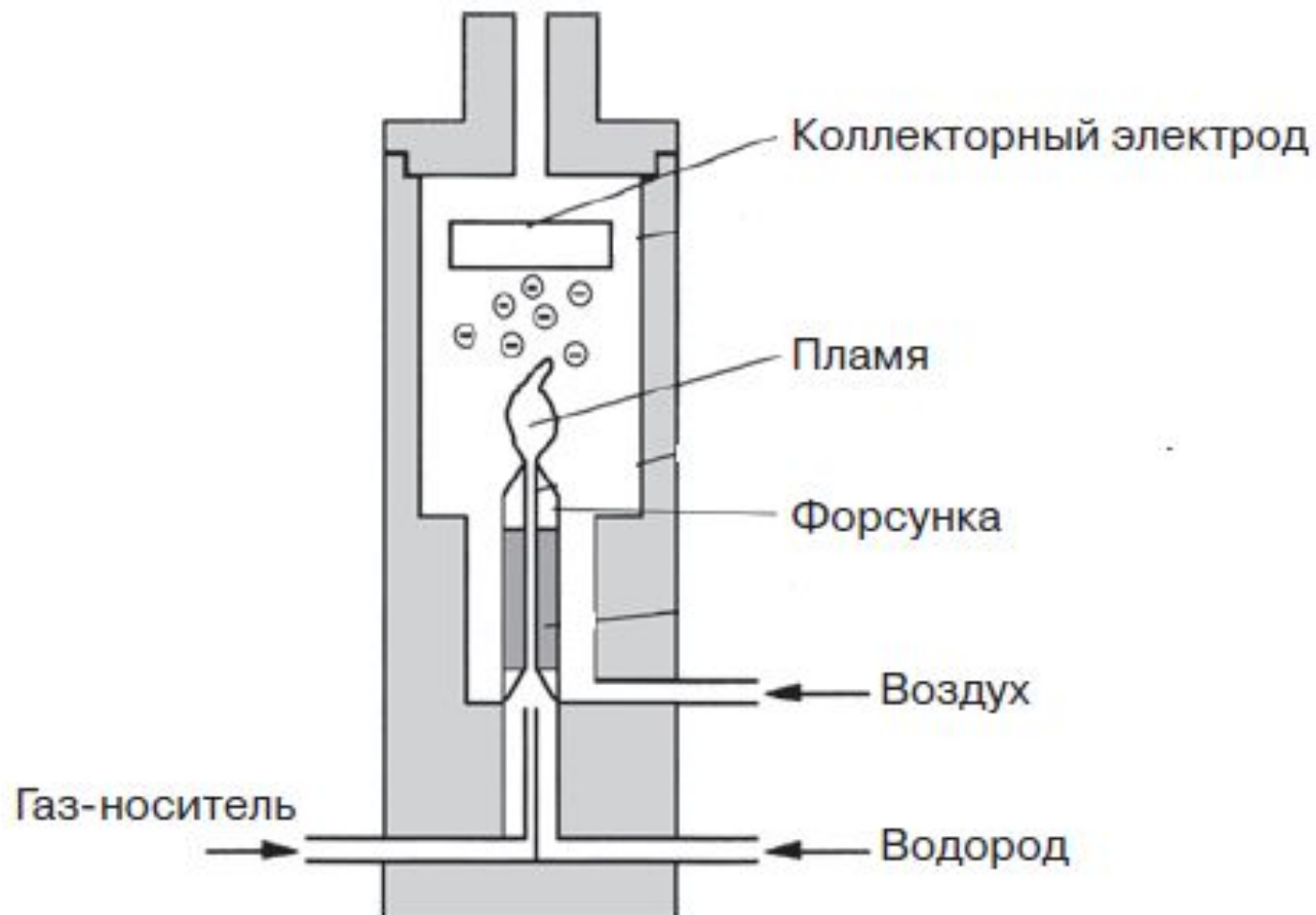
- Токе детектора
- Расходе газа-носителя
- Температуре корпуса детектора

1. Сравнительная камера
2. Измерительная камера
3. Кран-дозатор
4. Колонка
5. Петля КД
6. Корпус детектора

Гелиево-ионизационный детектор (ГИД)



Пламенно-ионизационный детектор (ПИД)



Лекция 4. Методы качественного и количественного анализа

Хроматограмма и ее характеристики



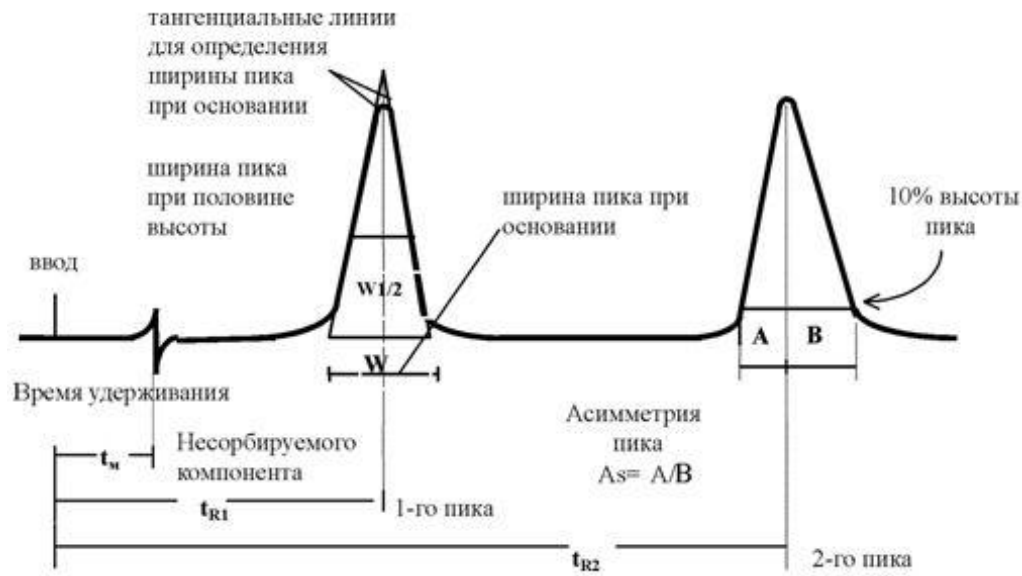
Хроматограмма – кривая зависимости сигнала детектора от времени. Эта кривая – результат проведенного в хроматографе разделения исследуемой смеси, воспроизводимая в системе регистрации сигнала. На рисунке представлен качественный вид элюентной хроматограммы.

Хроматограмма и ее характеристики

Характеристики

Качественные

Количественные



Качественные характеристики хроматограммы

1. **Время удерживания** (t_R) или время от момента ввода смеси в хроматограф до момента регистрации сигнала выхода компонента детектором (выхода пика).

$$t_R = t_m + t_s$$

$$t_m = \frac{L}{V}$$

время пребывания вещества в подвижной фазе
(фактически равно времени прохождения через хроматограф несорбируемого компонента)

$$t_s = t_R - t_m$$

истинная удерживающая способность

Качественные характеристики хроматограммы

2. **Удерживаемый объем** (V_R) или объем подвижной фазы, которую необходимо пропустить, чтобы элюировать вещество.

$$V_R = t_R \cdot F$$

Истинный удерживаемый объем – объем, включающий в себя объем, незанятый сорбентом, объем коммуникаций от устройства ввода пробы до колонки и от колонки до детектора

$$V_S = V_R - V_m$$

3. **Фактор удерживания (емкости)**. Данная величина показывает во сколько раз дольше вещество пребывает в НФ, чем в ПФ.

$$k = \frac{V_S}{V_m} = \frac{t_S}{t_m}$$

Качественные характеристики хроматограммы

4. **Фактор разделения (коэффициент селективности)** – мера относительного удерживания или относительной подвижности двух разделяемых веществ, описывается посредством.

$$\alpha = \frac{t_{s2}}{t_{s1}}$$

5. **Разрешение** представляет собой величину, характеризующую меру разделения двух соседних пиков, иными словами полноту их разделения.

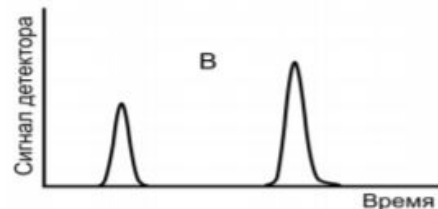
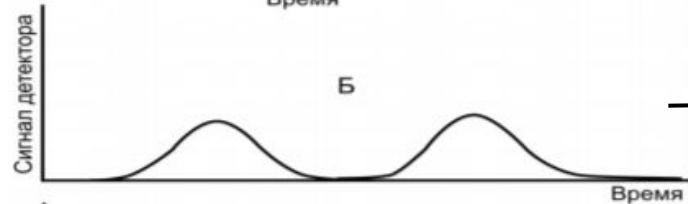
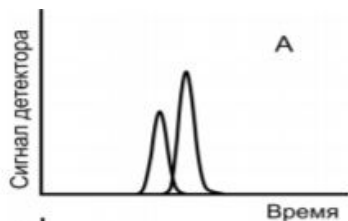
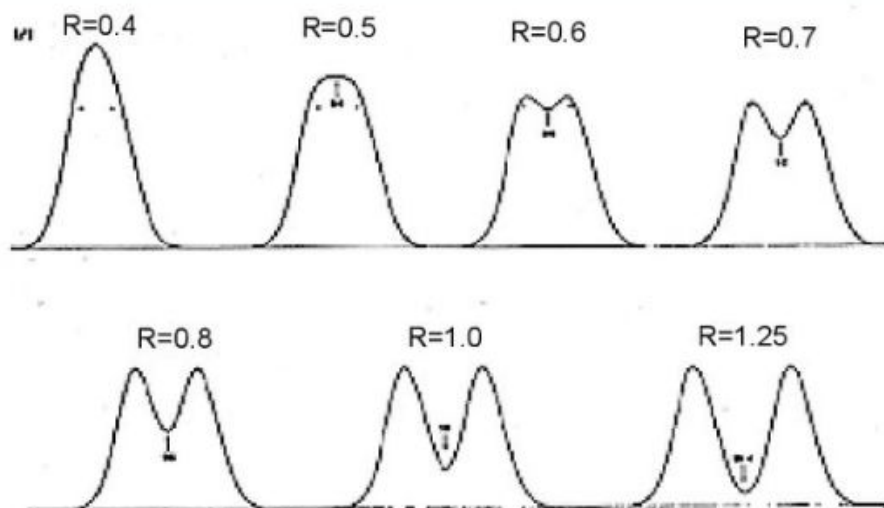
$$R_s = \frac{1}{4} \cdot \sqrt{N} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{k}{k - 1}$$

Число теоретических тарелок колонки

$$N = 5,55 \left(\frac{t_s}{W_h} \right)^2 = 16 \left(\frac{t_s}{W_b} \right)^2$$

Влияние параметров на качество разделения

Вид хроматограммы двух компонентов смеси при различных разрешениях



Высокая эффективность N
Низкая селективность α

Низкая эффективность N
Высокая селективность α

Высокая эффективность N
Высокая селективность α

Методы количественного анализа

Основные допущения:

1. Вводимая в хроматограф проба имеет тот же состав, что и анализируемый газ

$$c_i = \frac{Q_i}{Q_n} = \frac{q_i}{q_n}$$

c_i – концентрация компонента

Q_i – количество компонента в газе

Q_n – количество анализируемого газа

q_i – количество компонента в пробе

q_n – количество анализируемой пробы

2. Количество компонента в пробе прямо пропорционально соответствующему параметру пика на хроматограмме

$$q_i = k_i \cdot X_i$$

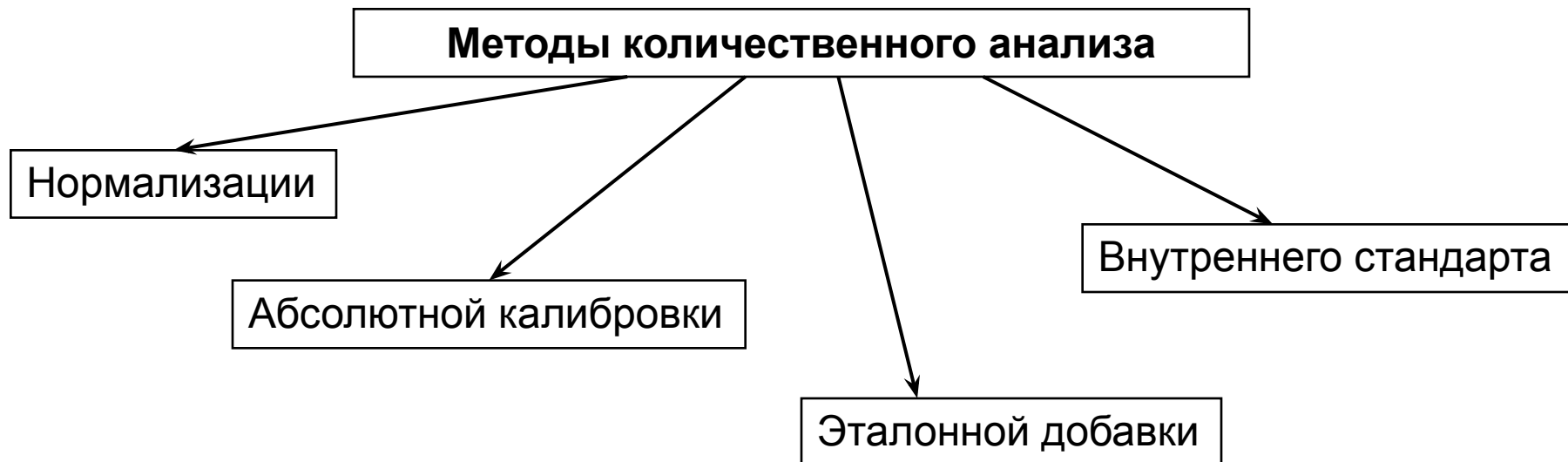
k_i - коэффициент пропорциональности

X_i - параметр пика на хроматограмме

Методы количественного анализа

Основное уравнение количественной хроматографии

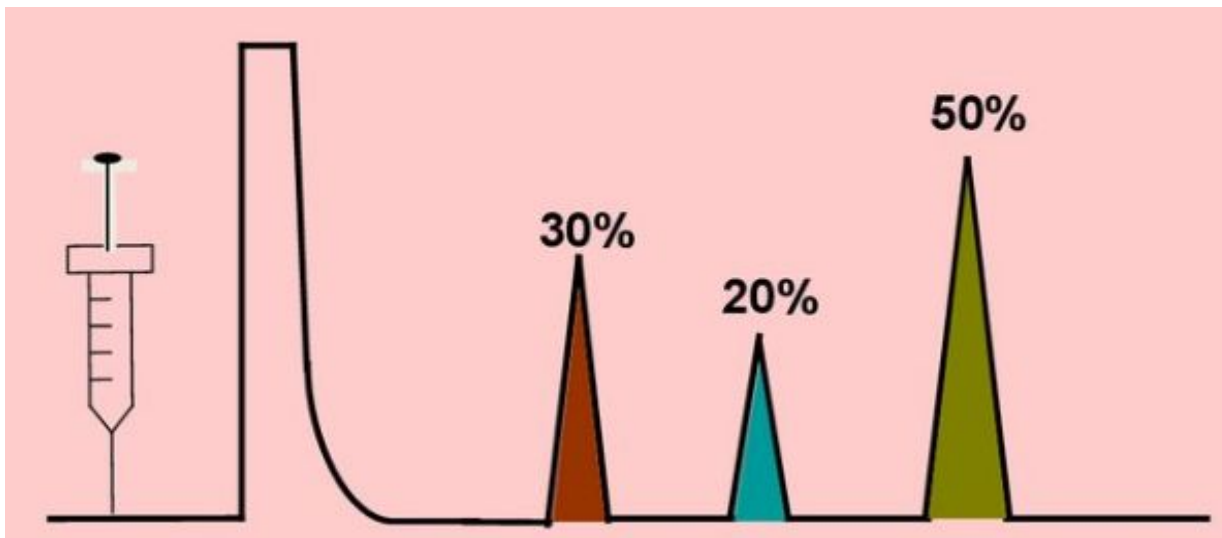
$$C_i = \frac{k_i \cdot X_i}{q_n}$$



Метод нормализации (нормировки)

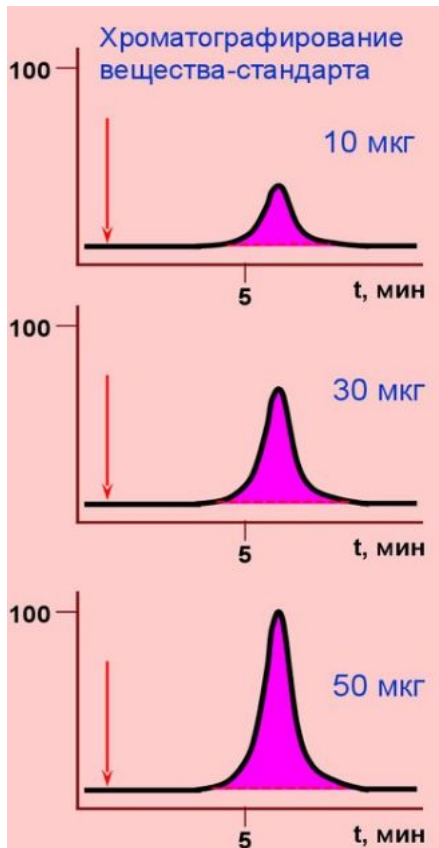
В данном методе сумма площадей всех хроматографических пиков анализируемой смеси приравнивается к 100% (при условии, что все компоненты смеси зарегистрированы на хроматограмме) и по величине площадей отдельных компонентов определяют их процентное содержание в анализируемом веществе

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



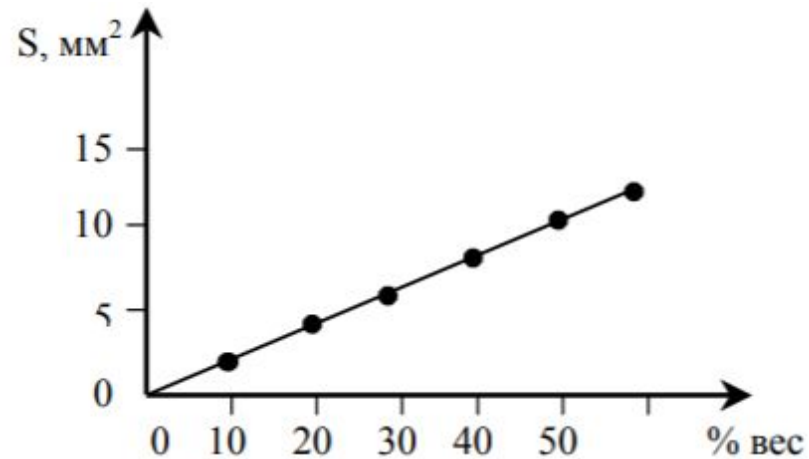
Метод абсолютной калибровки

Для осуществления данного метода необходимо вещество с известными концентрациями планируемых для анализа компонентов – стандарт (ПГС)



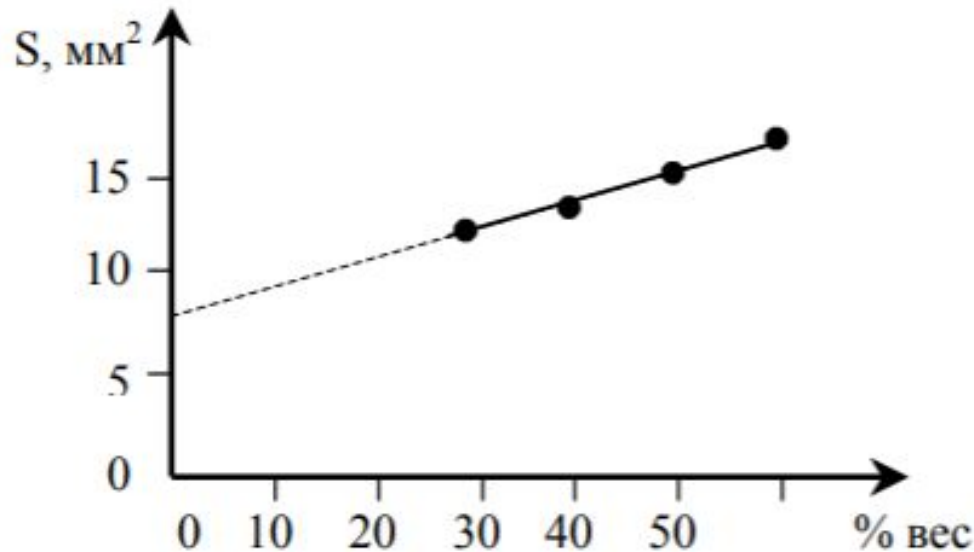
$$c_i = k_i \cdot S_i$$

$$k_i = \frac{c_{i\text{ПГС}}}{S_{i\text{ПГС}}}$$



Метод эталонной добавки

1. В исследуемую пробу вводят известные количества стандарта;
 2. Производится хроматографирование в идентичных условиях;
 3. На хроматограмме пик определяемого компонента увеличивается пропорционально количеству введенного стандарта;
 4. Строится график зависимости площади пика от величины добавки.
- Содержание компонента в исходной смеси соответствует величине площади, определяемой экстраполяцией на нулевую добавку.

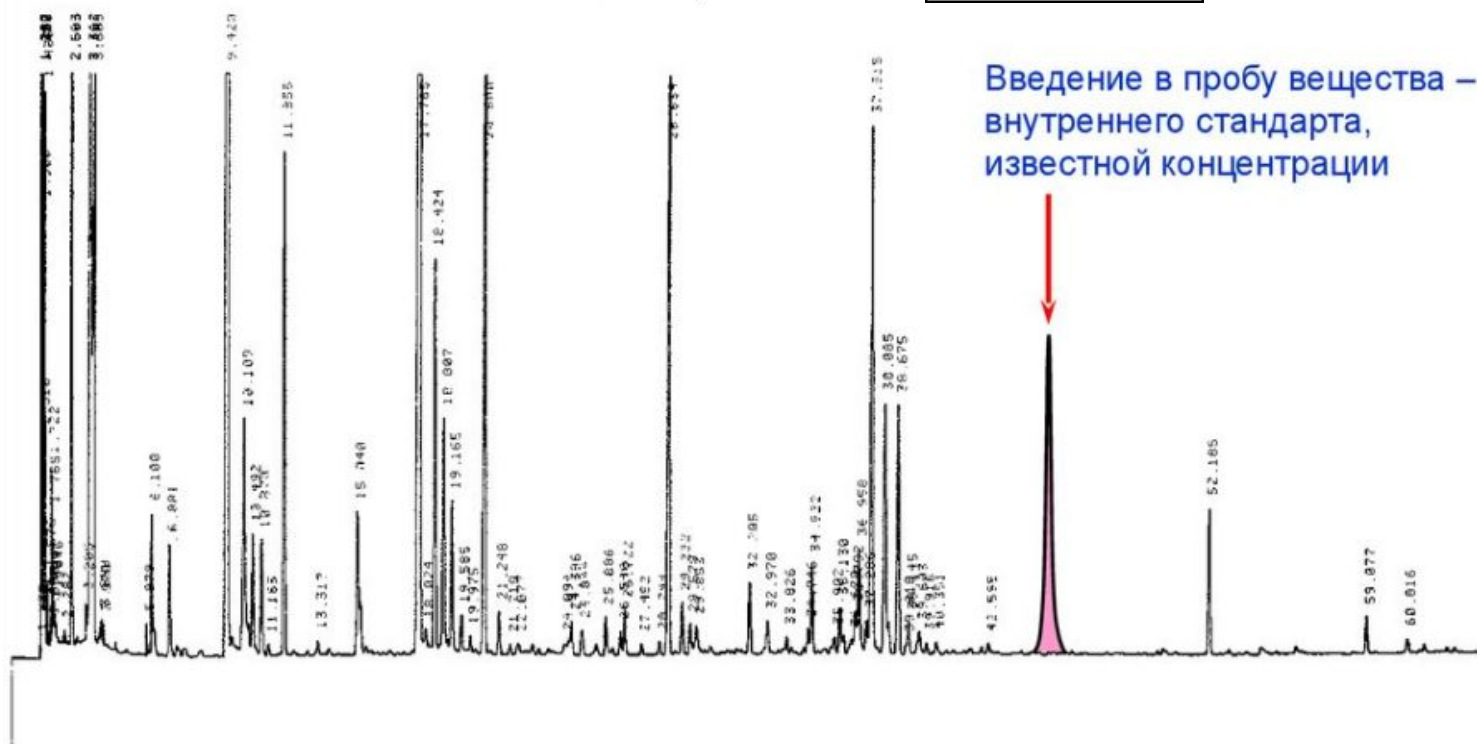


Метод внутреннего стандарта

Для реализации данного метода требуется вещество, свойства которого близки к определяемому – так называемый внутренний стандарт.

1. Внутренний стандарт добавляют в пробу в известной концентрации;
2. Производится хроматографирование смеси (внутренний стандарт при этом выходит в области, свободной от других компонентов пробы);
3. Производится вычисление концентрации определяемого компонента в пробе в соответствии с соотношением

$$C_i = \frac{S_i \cdot C_{st}}{S_{st}}$$



**Спасибо за
внимание!**