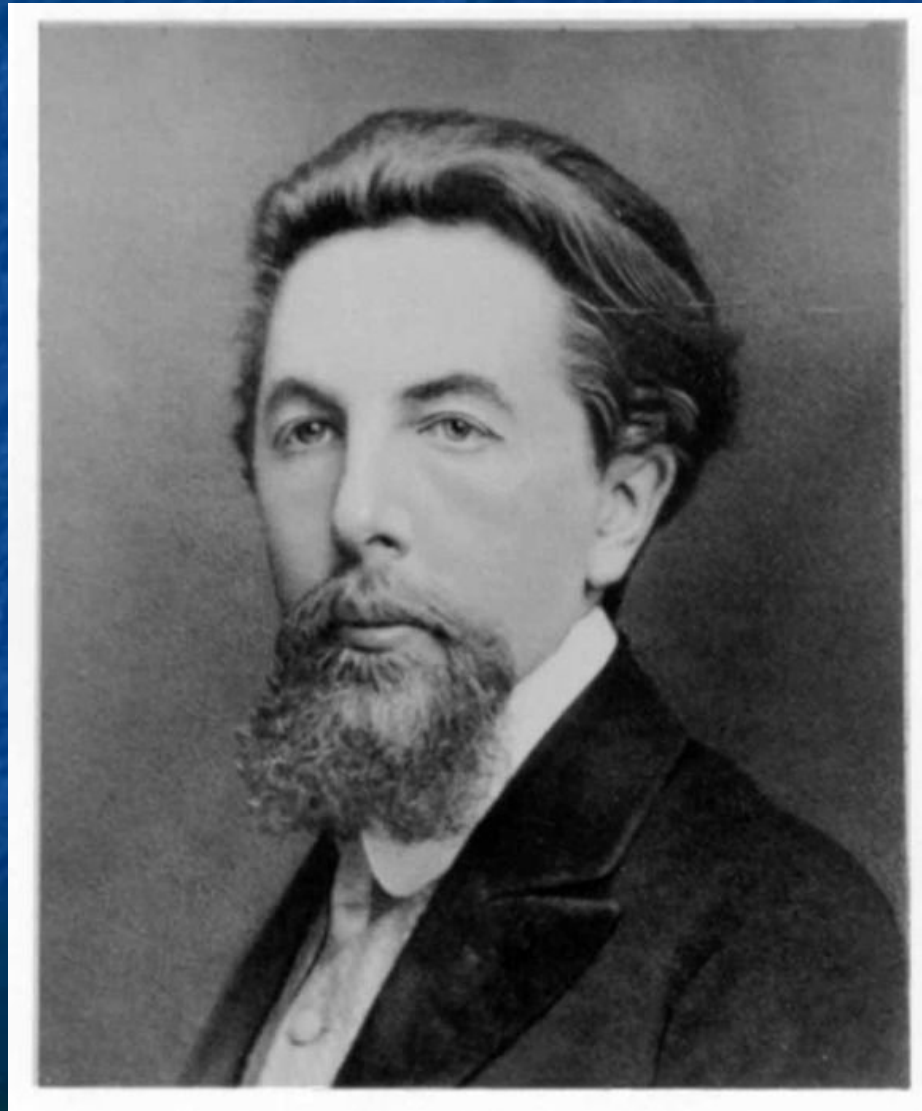


# ***ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА***

# 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

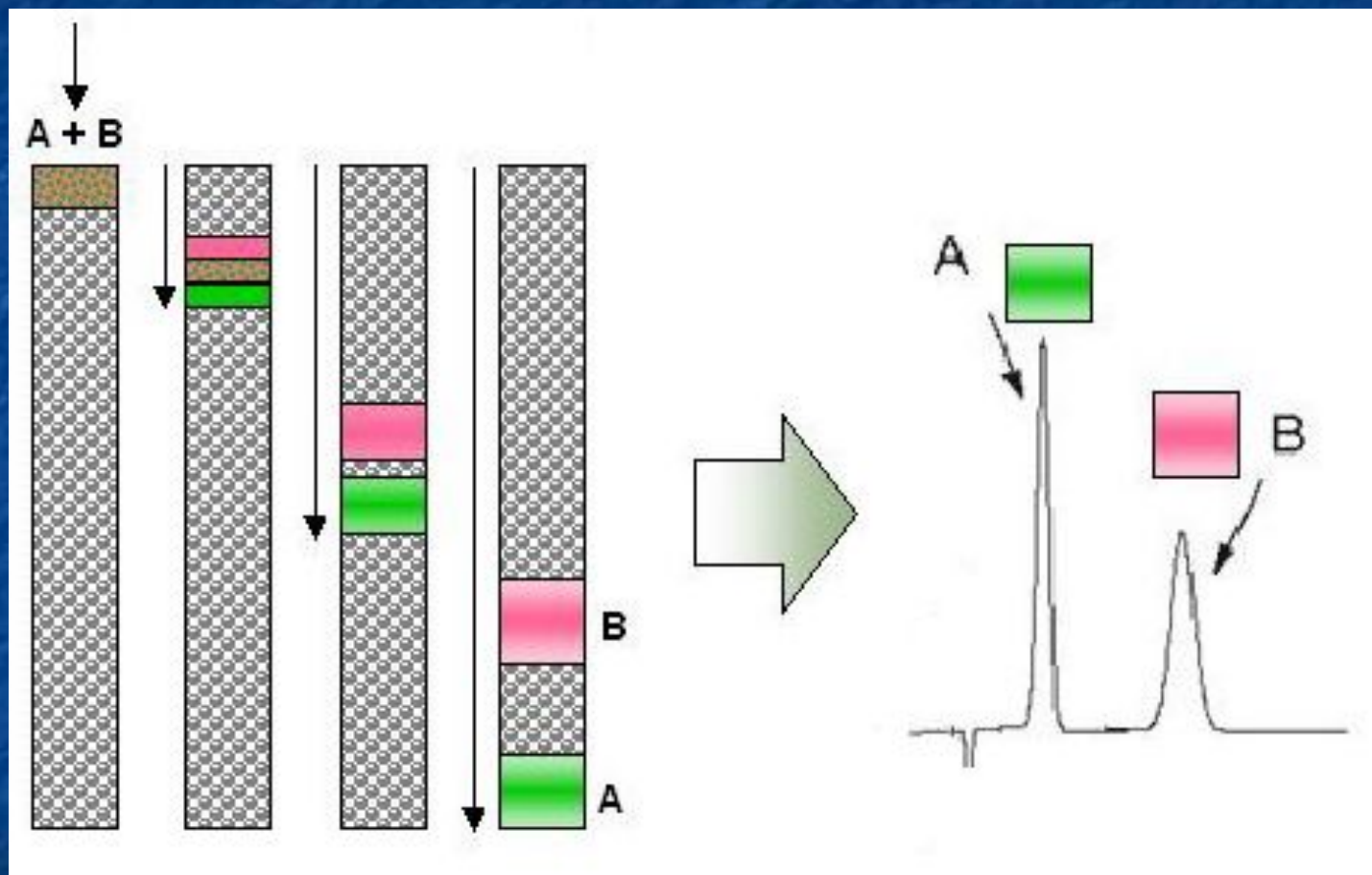
Жидкостная  
хроматография

Жидкостно-  
жидкостная  
хроматография

Жидкостно-твёрдофазная  
хроматография

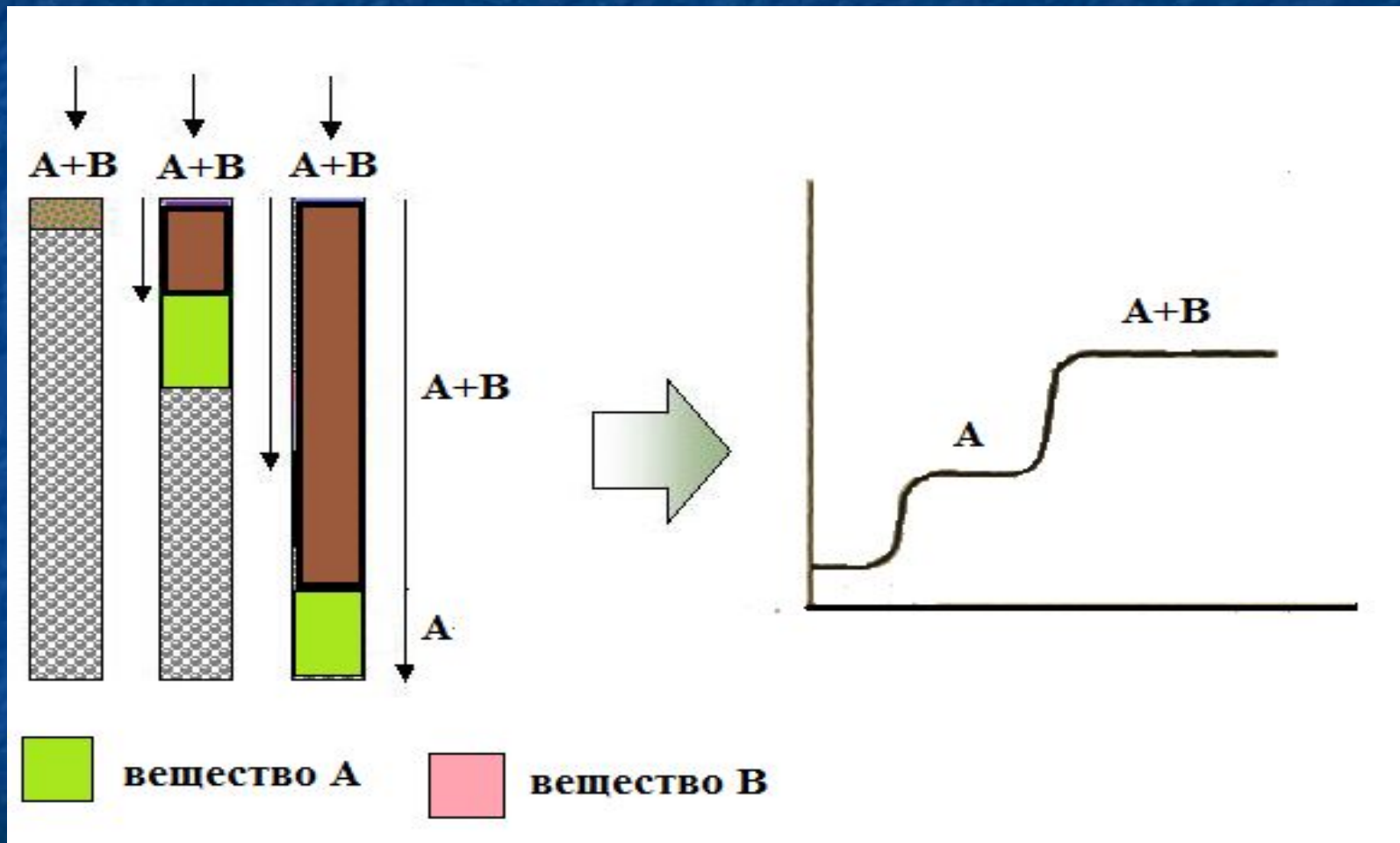
Жидкостно-гелевая  
хроматография

# По способу перемещения сорбатов вдоль слоя сорбента



элюентная (проявительная)

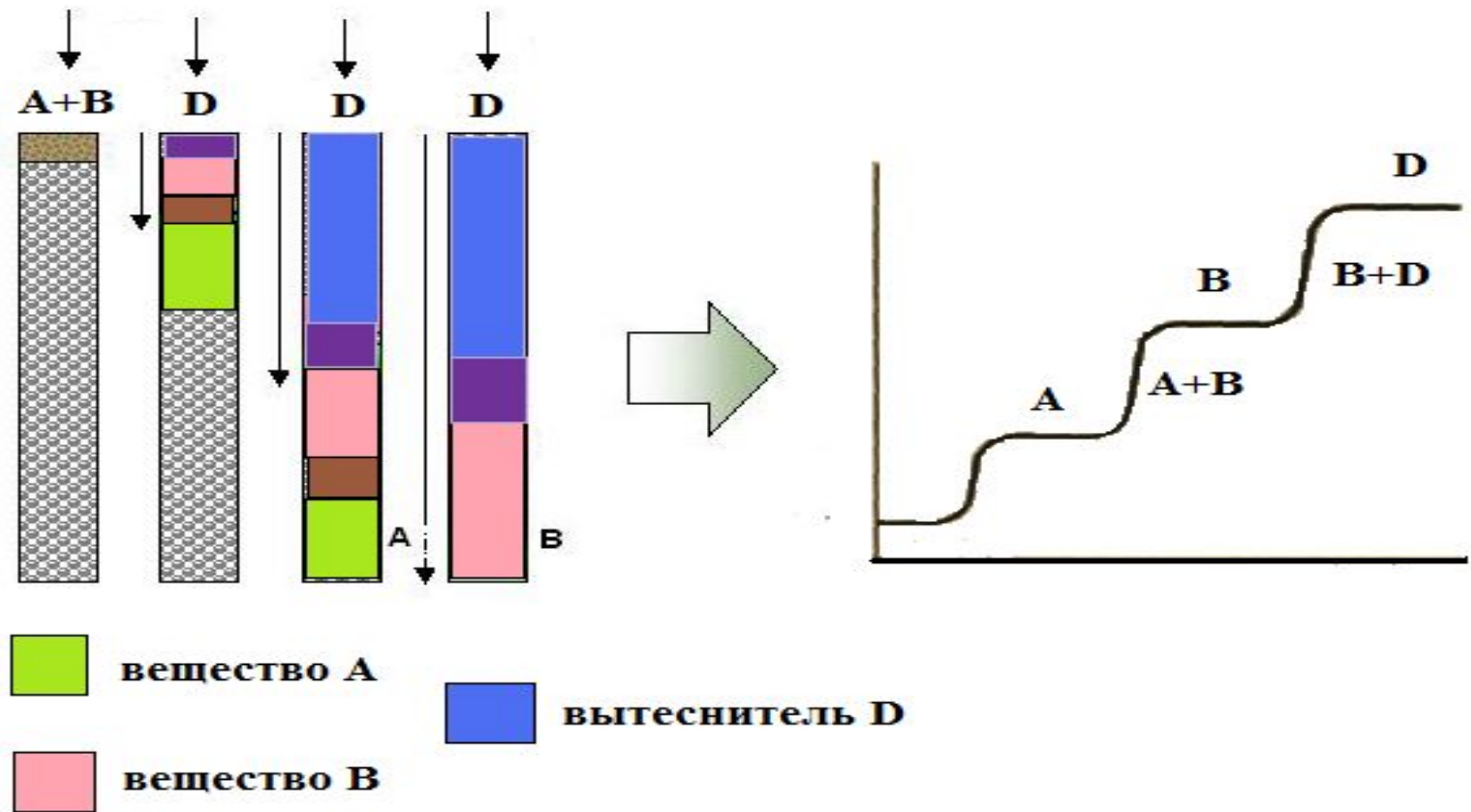
# По способу перемещения сорбатов вдоль слоя сорбента



фронтальная



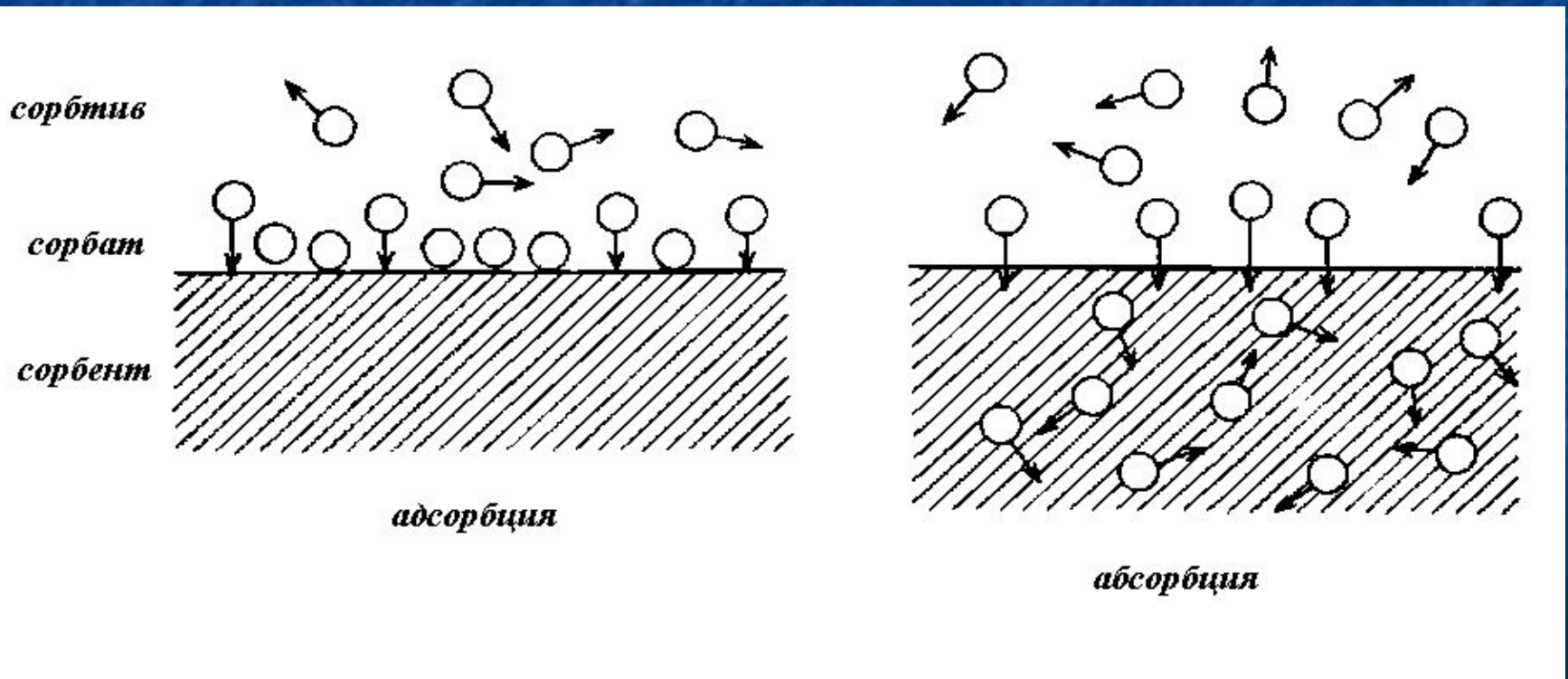
# По способу перемещения сорбатов вдоль слоя сорбента



**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;

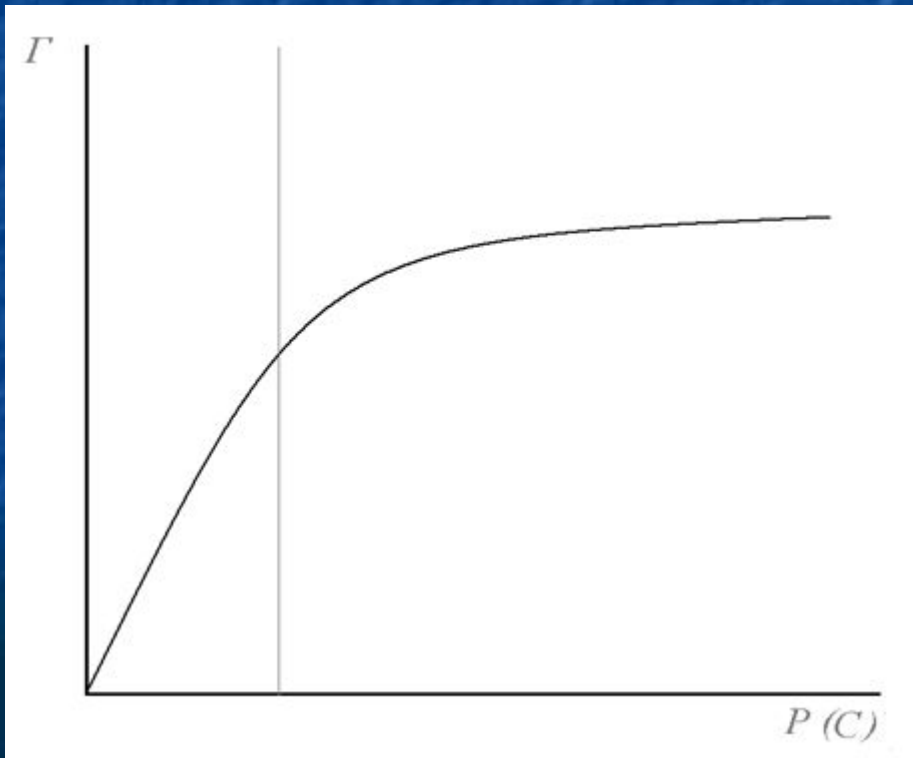
**Плоскостная** – процесс разделения проводят на *хроматографической бумаге (бумажная)* или *тонком слое сорбента*, нанесенном на подложку (**тонкослойная**).



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:

$$A = 2\lambda d_p$$

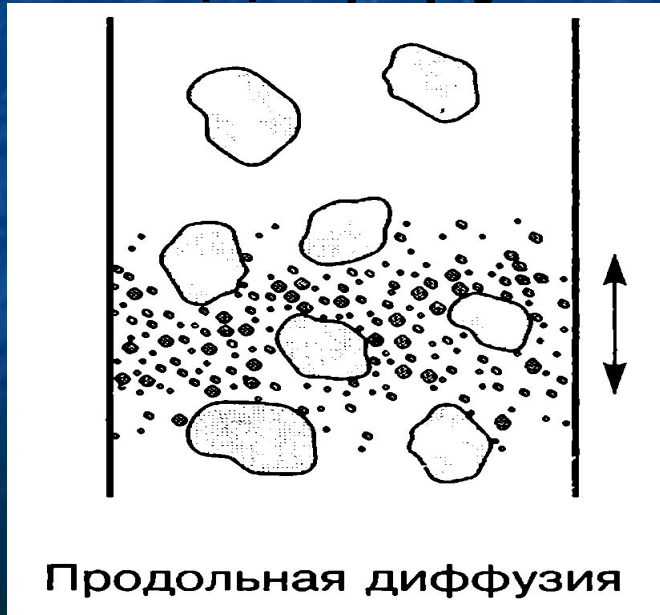
где  $\lambda$  – характеристика набивки колонки,  $d_p$  – диаметр зерна сорбента



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

$$B = 2\gamma D_M$$

где  $\gamma$  – эмпирический коэффициент,  $D_M$   
– коэффициент диффузии



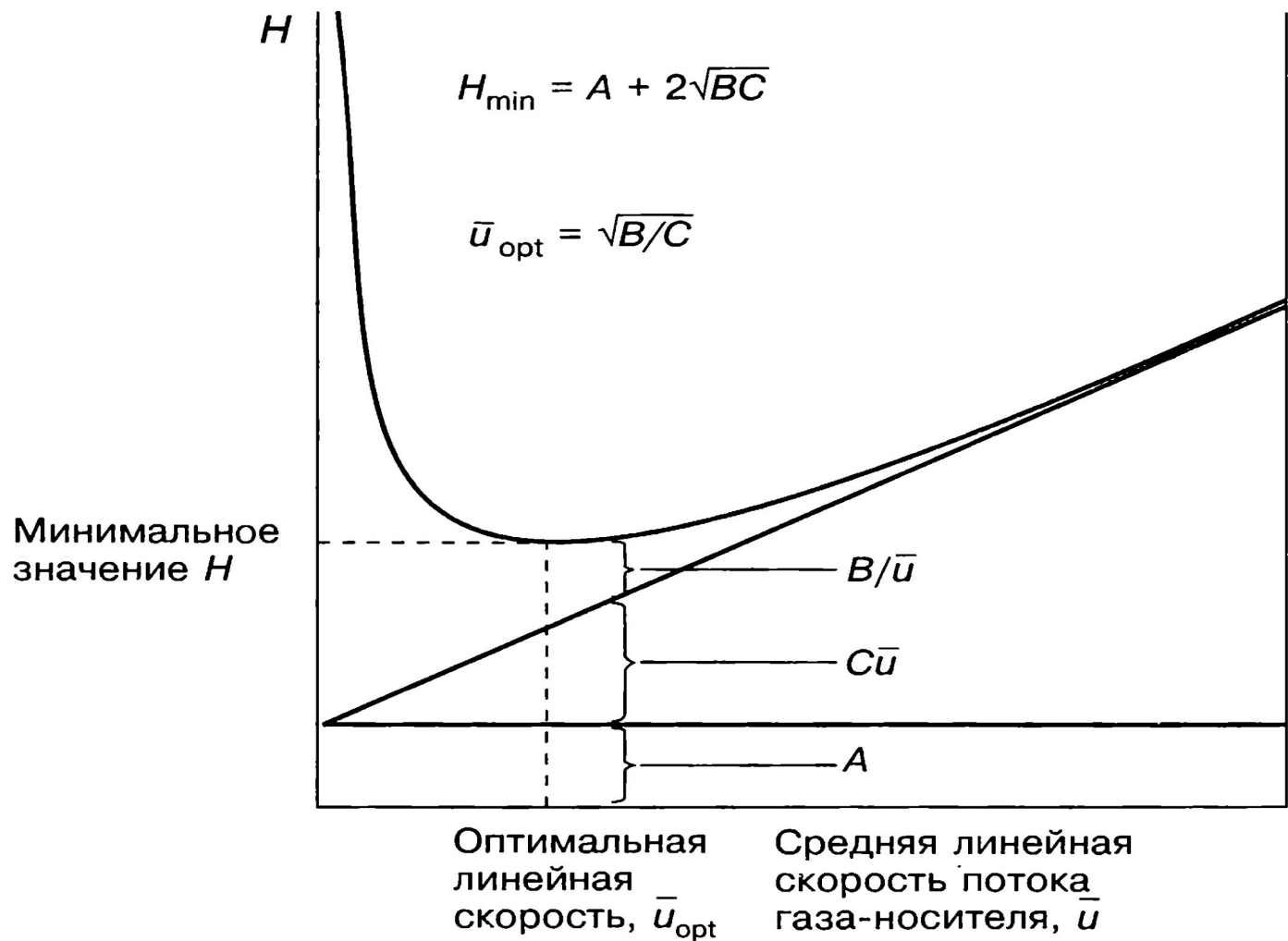
**C** – внутренняя диффузия – зависит от способности адсорбироваться на неподвижной фазе;

**u** – линейная скорость потока

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

**L** – длина колонки, **t<sub>M</sub>** – 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

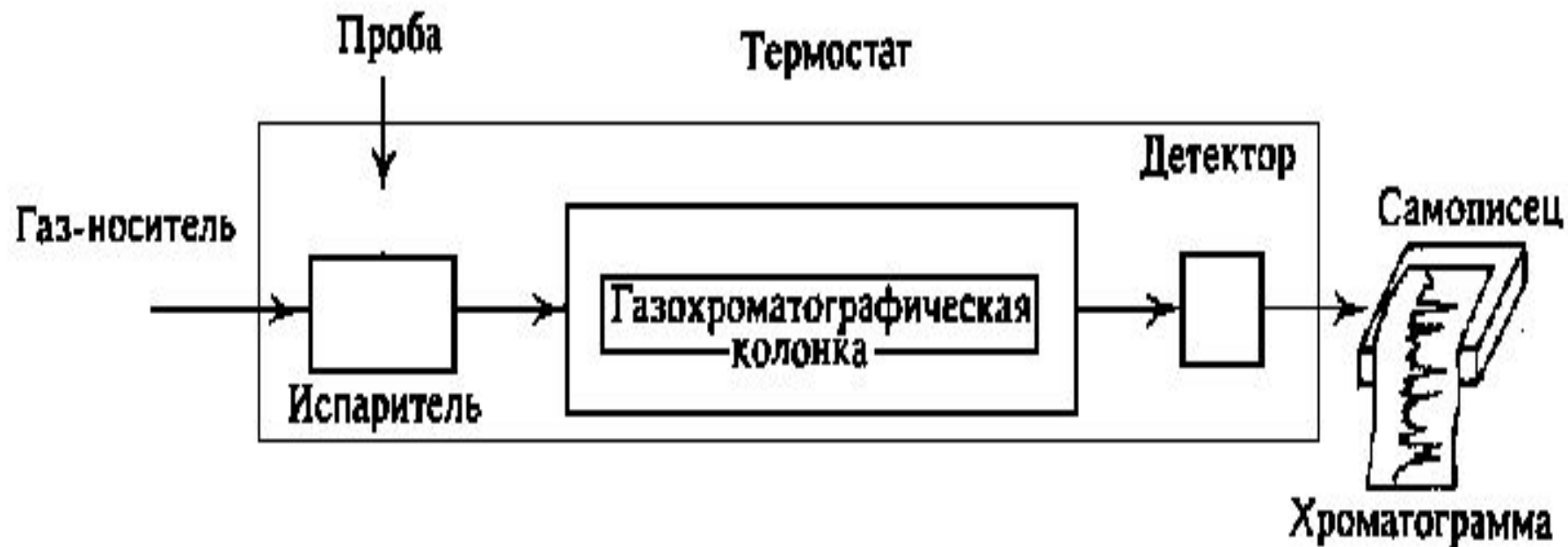
## *Типы жидкой НФ:*

- *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



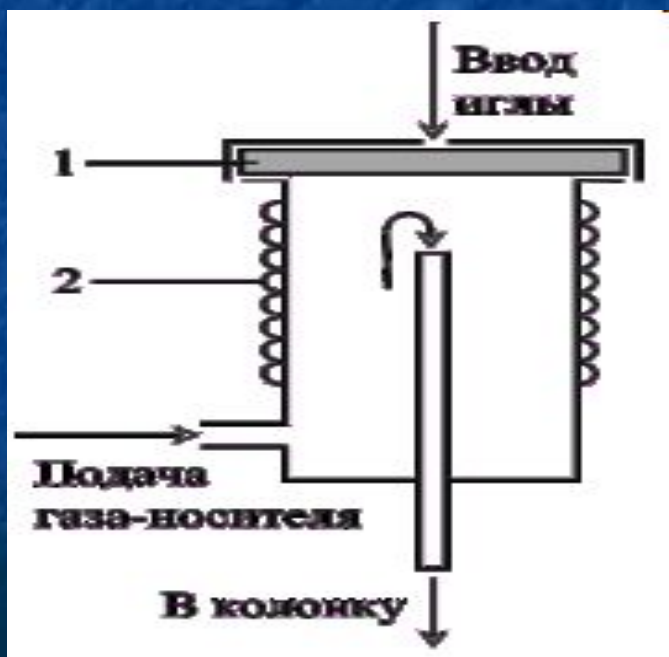
Фильтр  
кислорода



регулятор  
расхода газов  
хроматографа

# Узел ввода пробы

*испаритель*



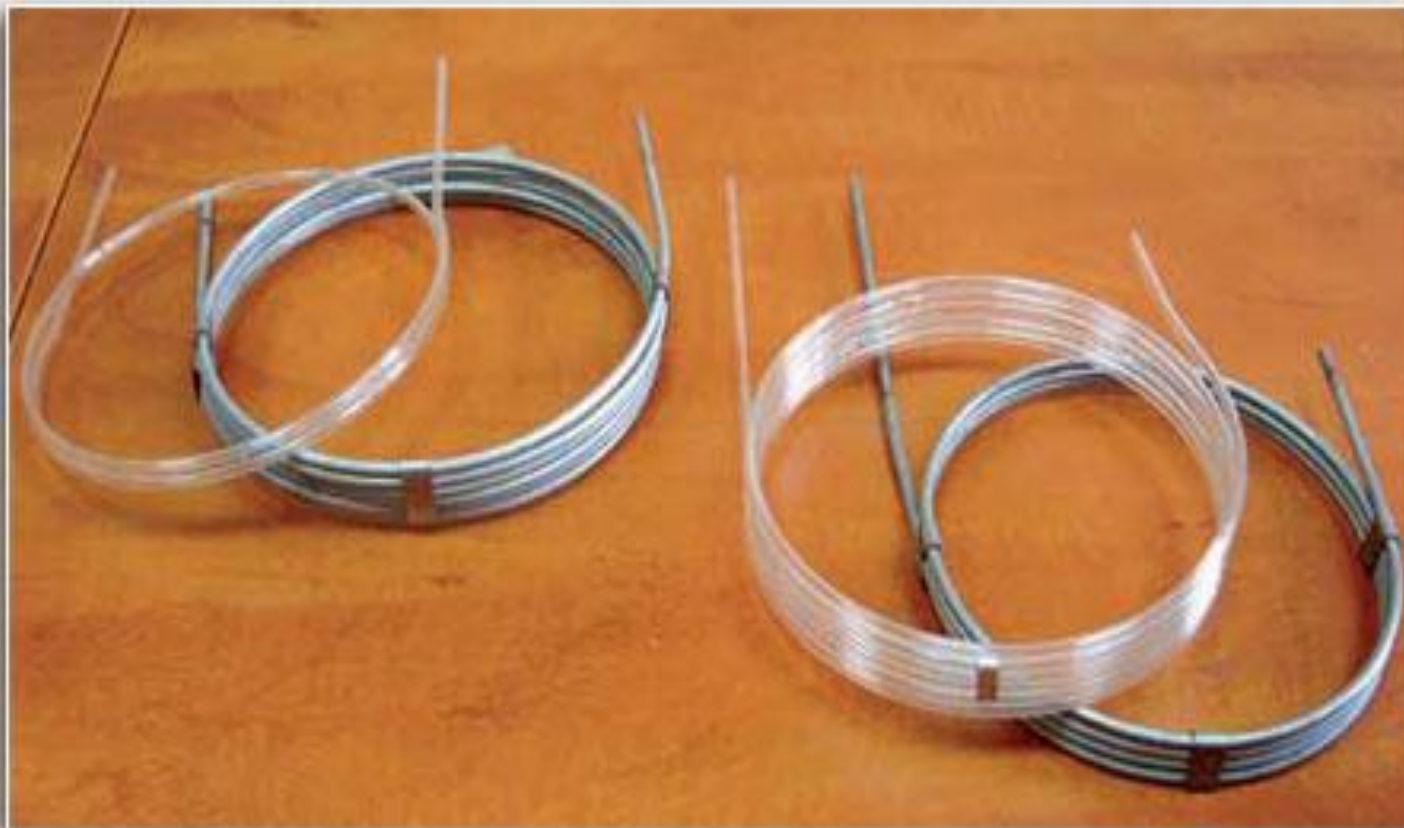
*шприцы - дозаторы*



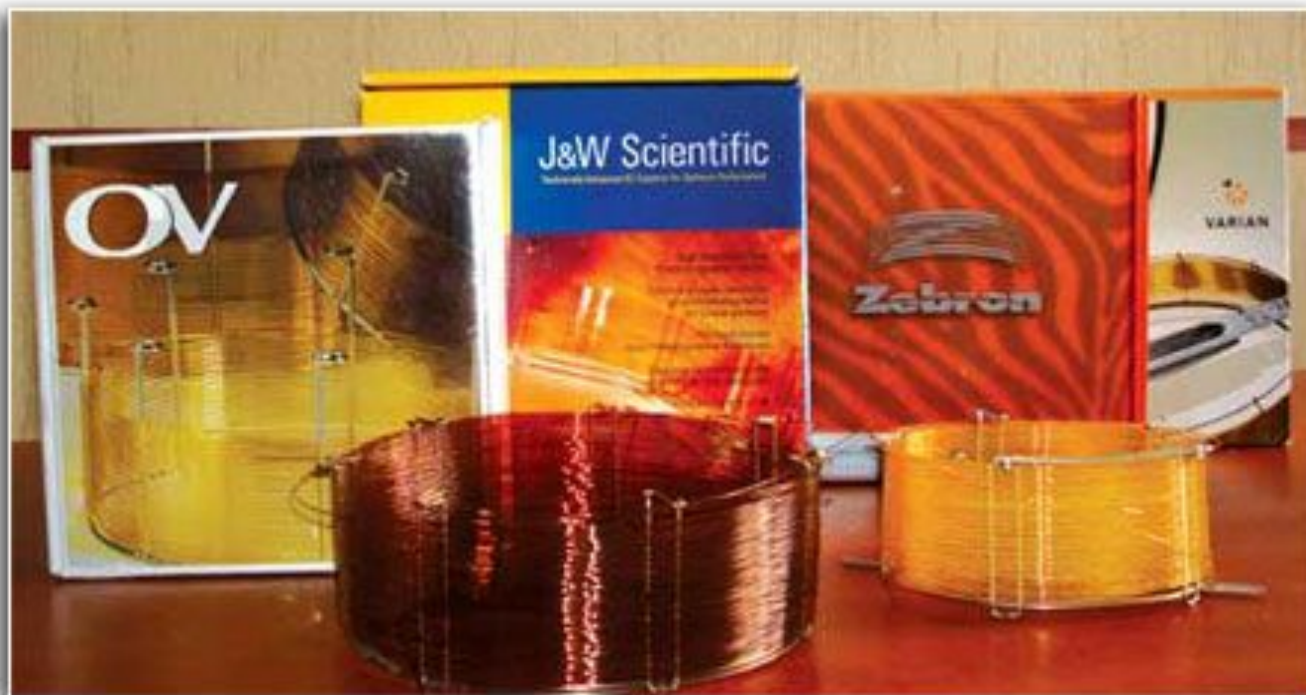
*автосамплеры*



# 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  $H/C$

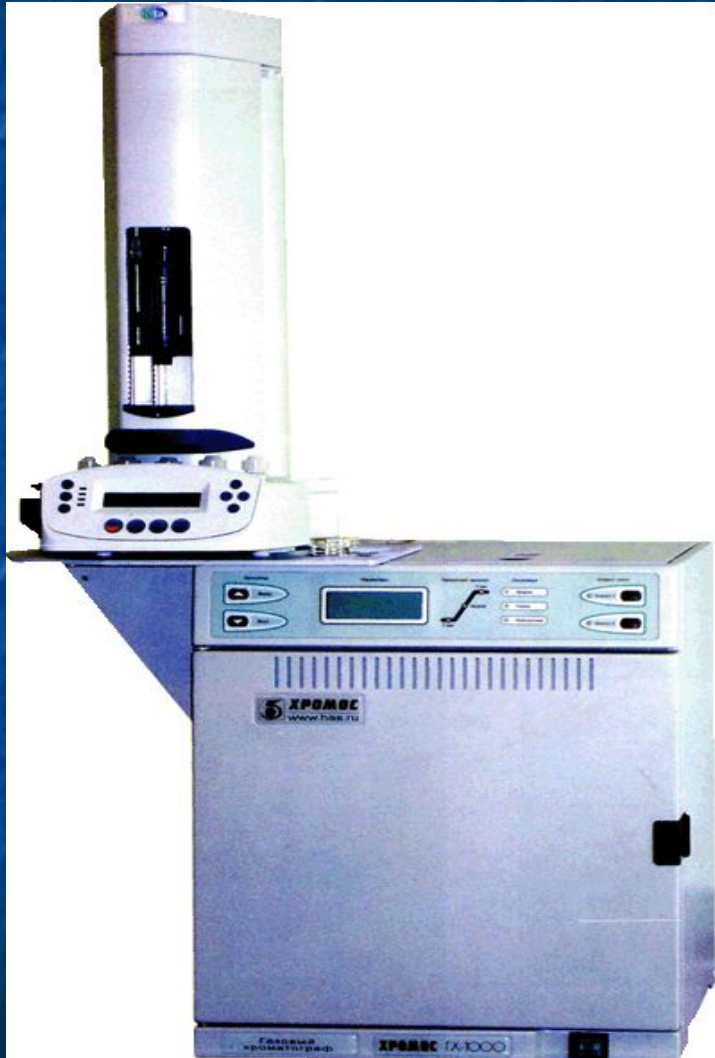
Катарометр, или детектор по теплопроводности (ДТП) - это универсальный *малоселективный* детектор.

Принцип действия - измерение разности сопротивления материалов в зависимости от температуры

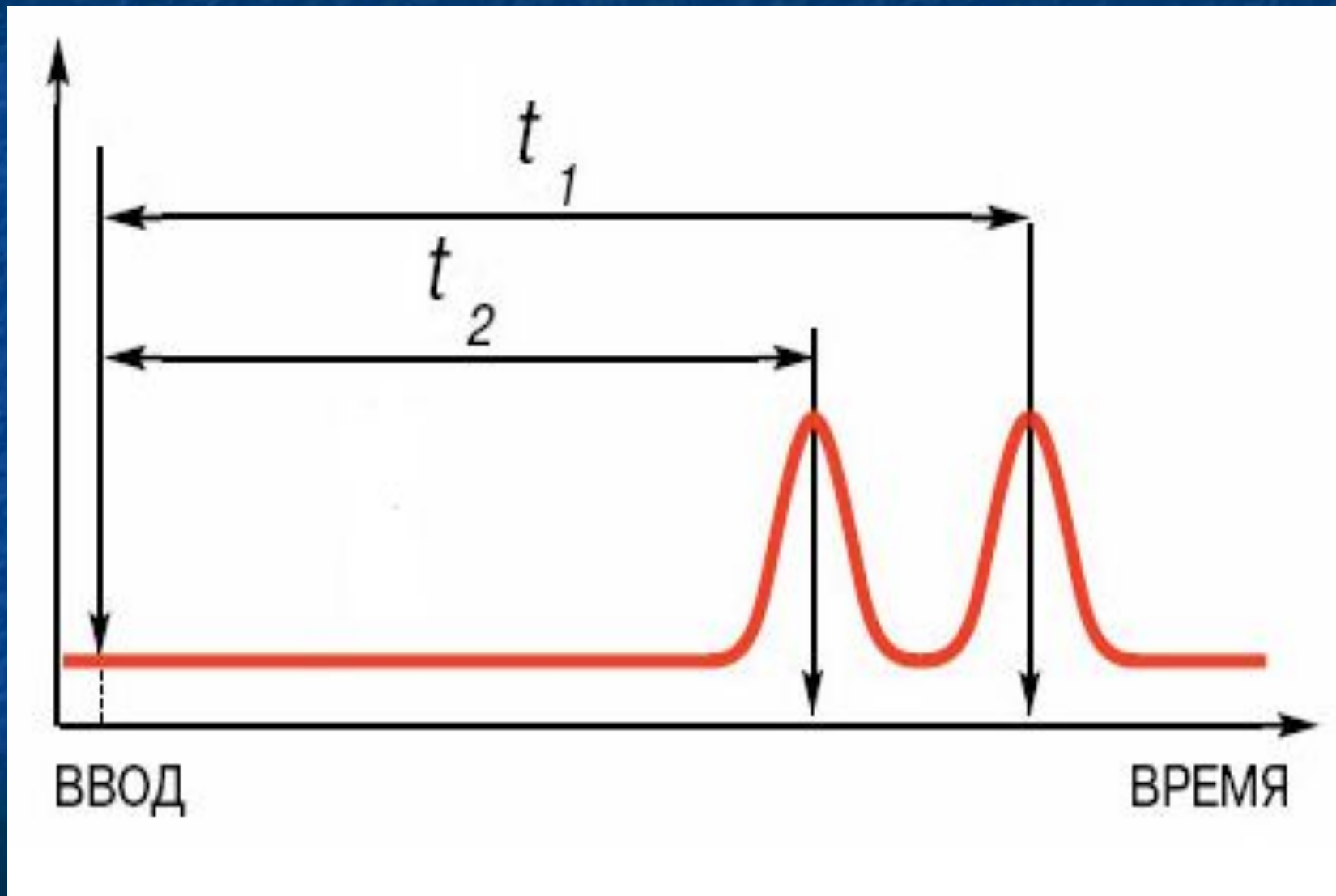
**Электронно-захватный детектор (ДЭЗ)** применяется для определения *галоген-, кислород- и азотсодержащих* веществ

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

# Виды газовых хроматографов



# Качественный анализ





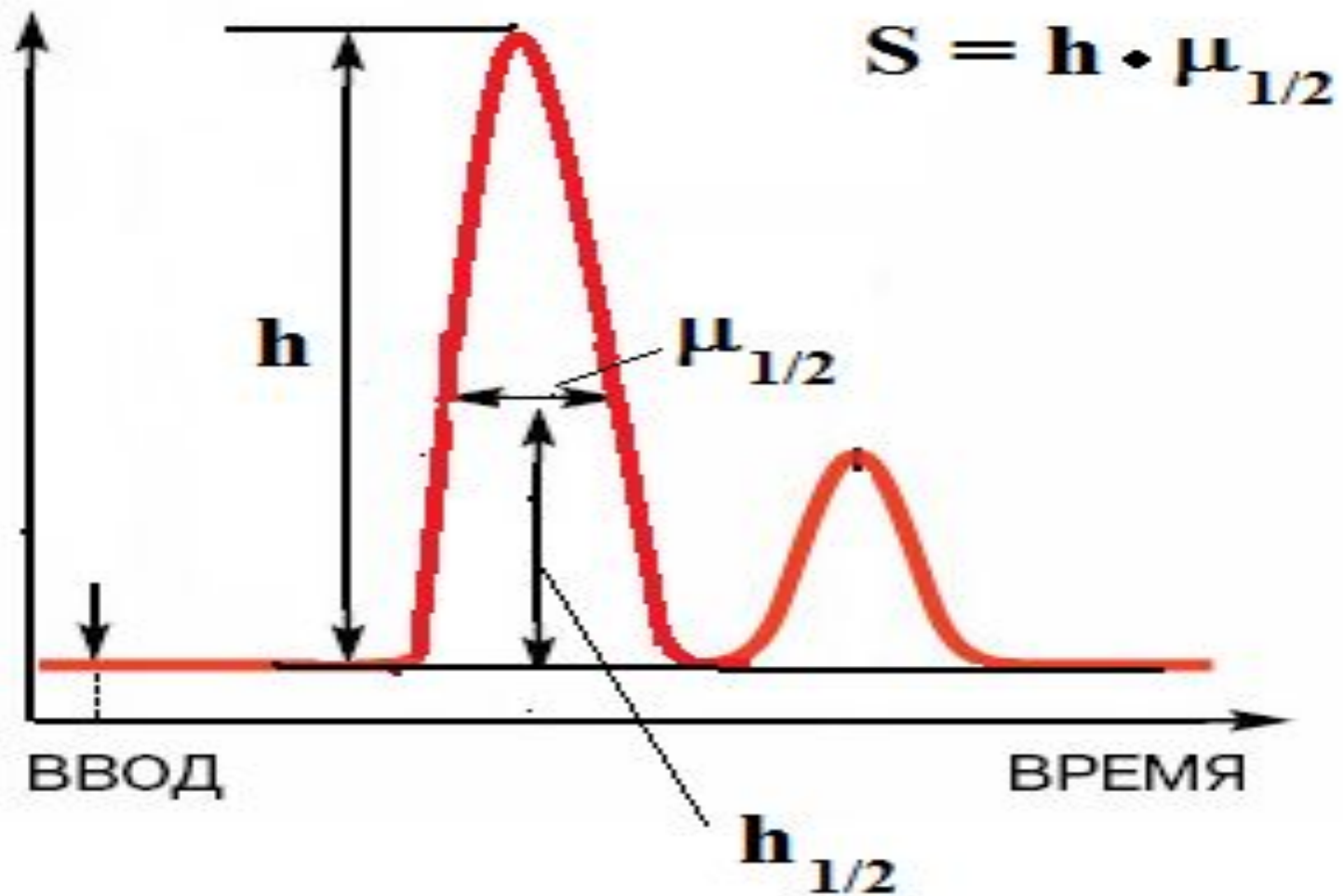
# Качественный анализ

**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,

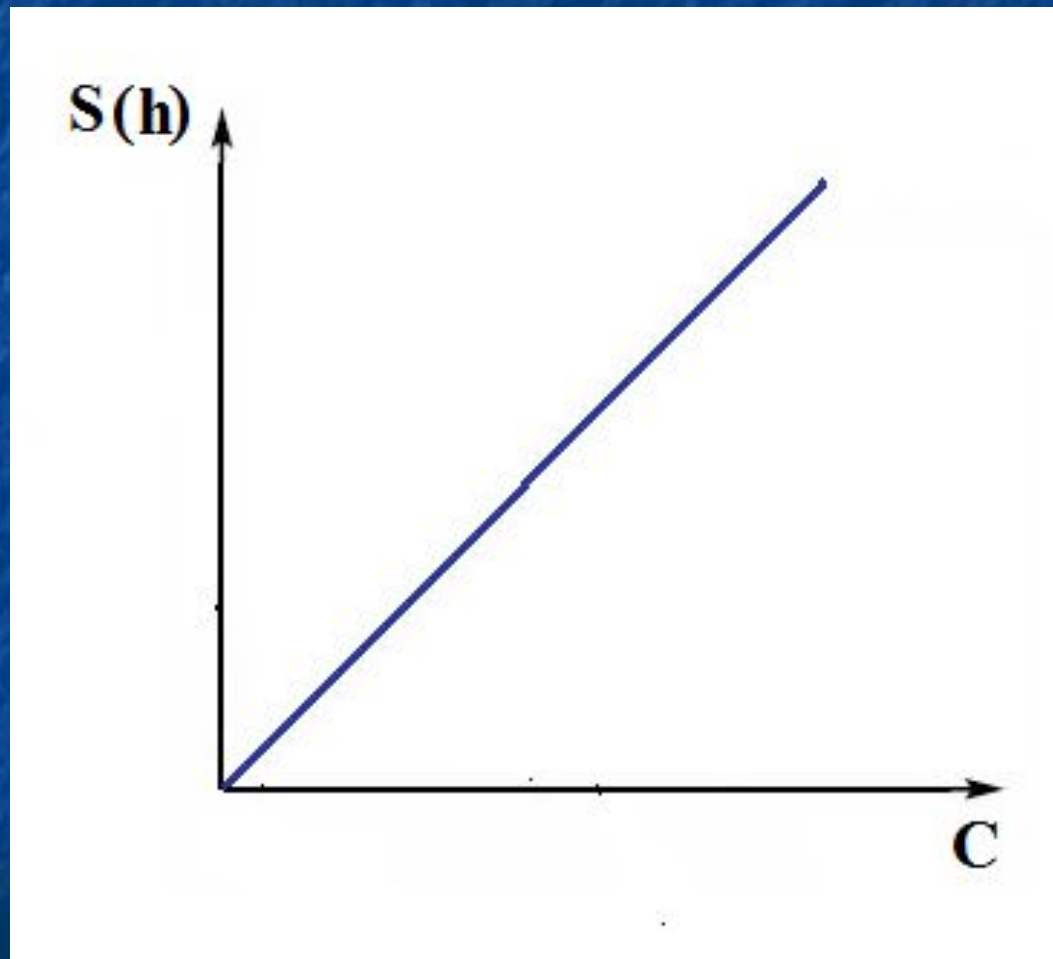
$r$  - отношение массы внутреннего стандарта к массе пробы,

$k_i$  - 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 -  $R-\underline{SO}_3\underline{H}$

Среднекислотные -  $R-\underline{PO}_3\underline{H}_2$

Слабокислотные -  $R-\underline{COOH}$

$R-\underline{OH}$

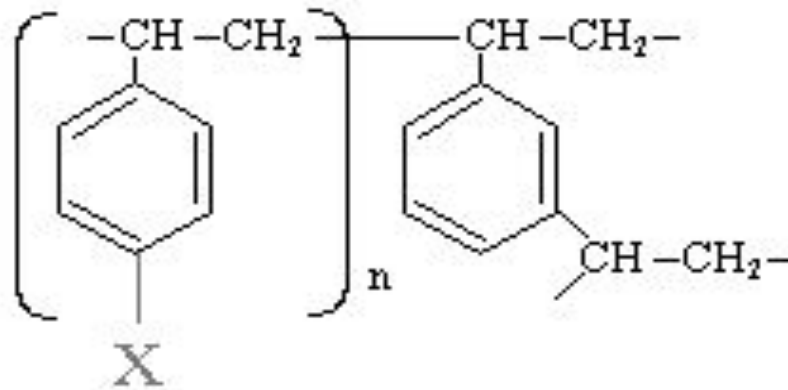




*полимерная  
часть*

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

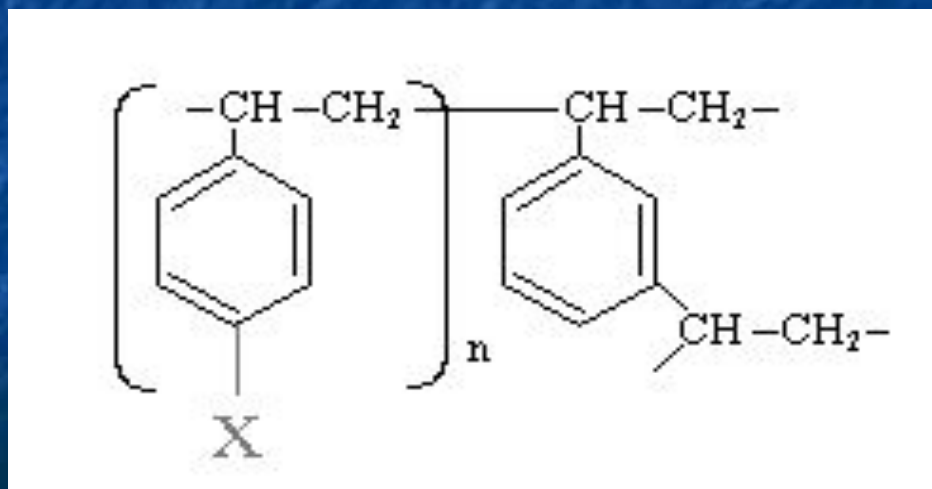


*полимерная  
часть*

*ионогенная  
группа*

*противоион*

Полимерная часть анионита



## Уравнение анионного обмена



*OH*- форма

*Cl*- форма

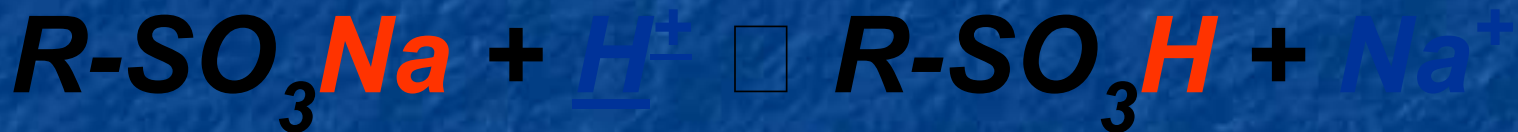
**Амфолиты** – иониты, содержащие как катионогенные, так и анионогенные группы

# Регенерация ионитов

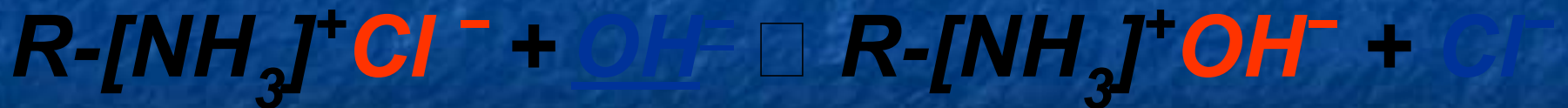
**!Ионный обмен обратим**

**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

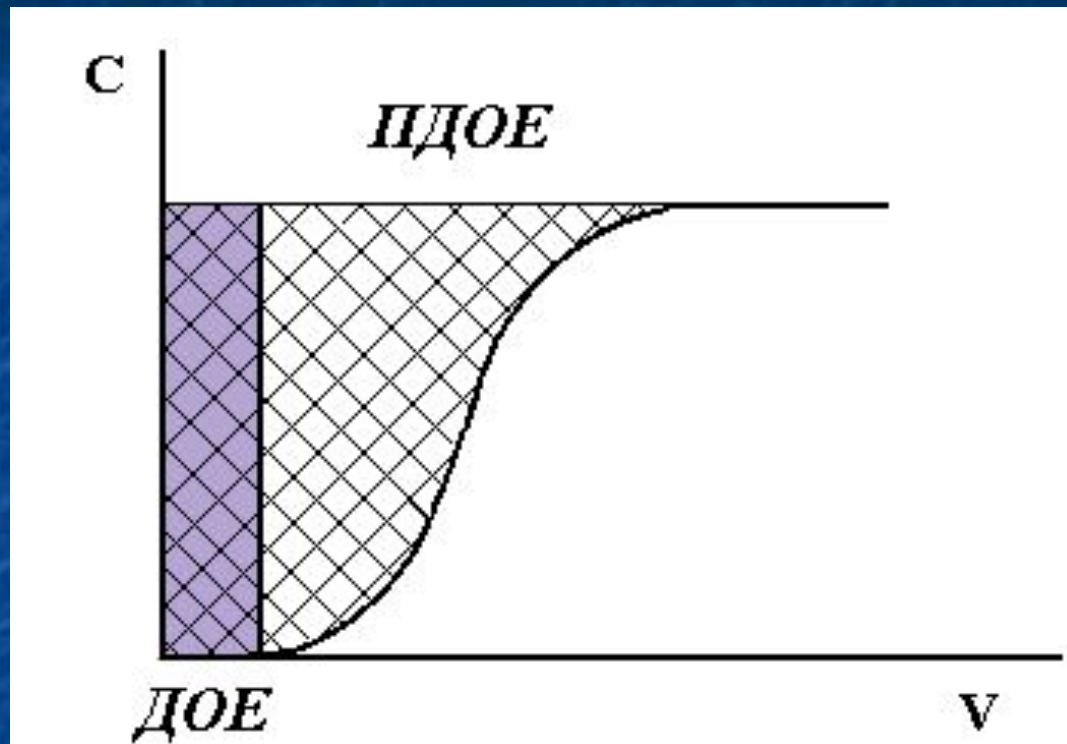
# *Динамическая емкость ионитов*

**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 (слабоосновных) ионитов зависит от pH: катиониты работают в щелочной среде, аниониты – в кислой

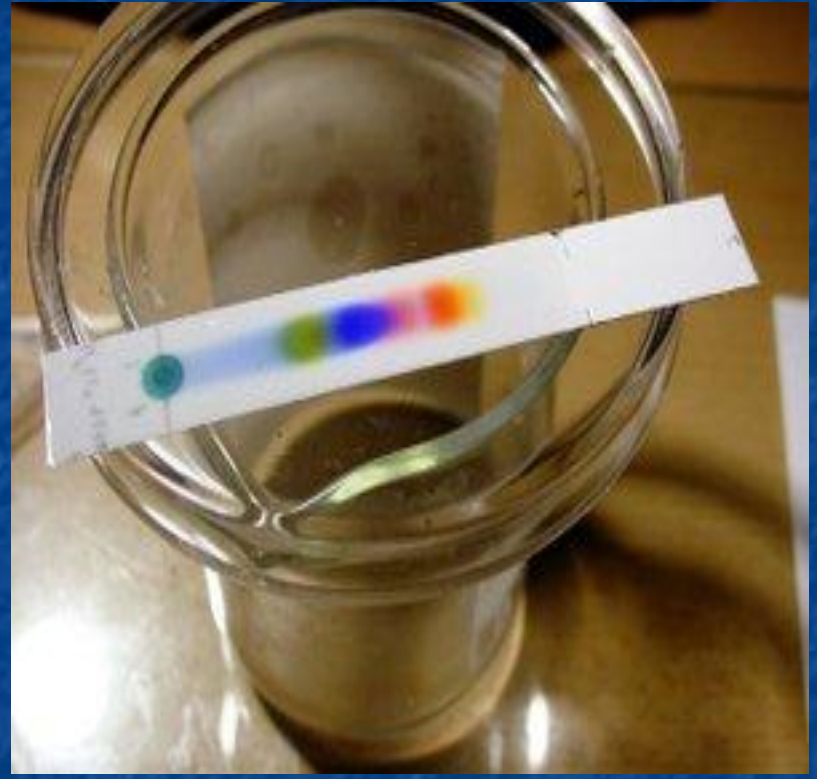
# Плоскостная хроматография

# *Неподвижная фаза*

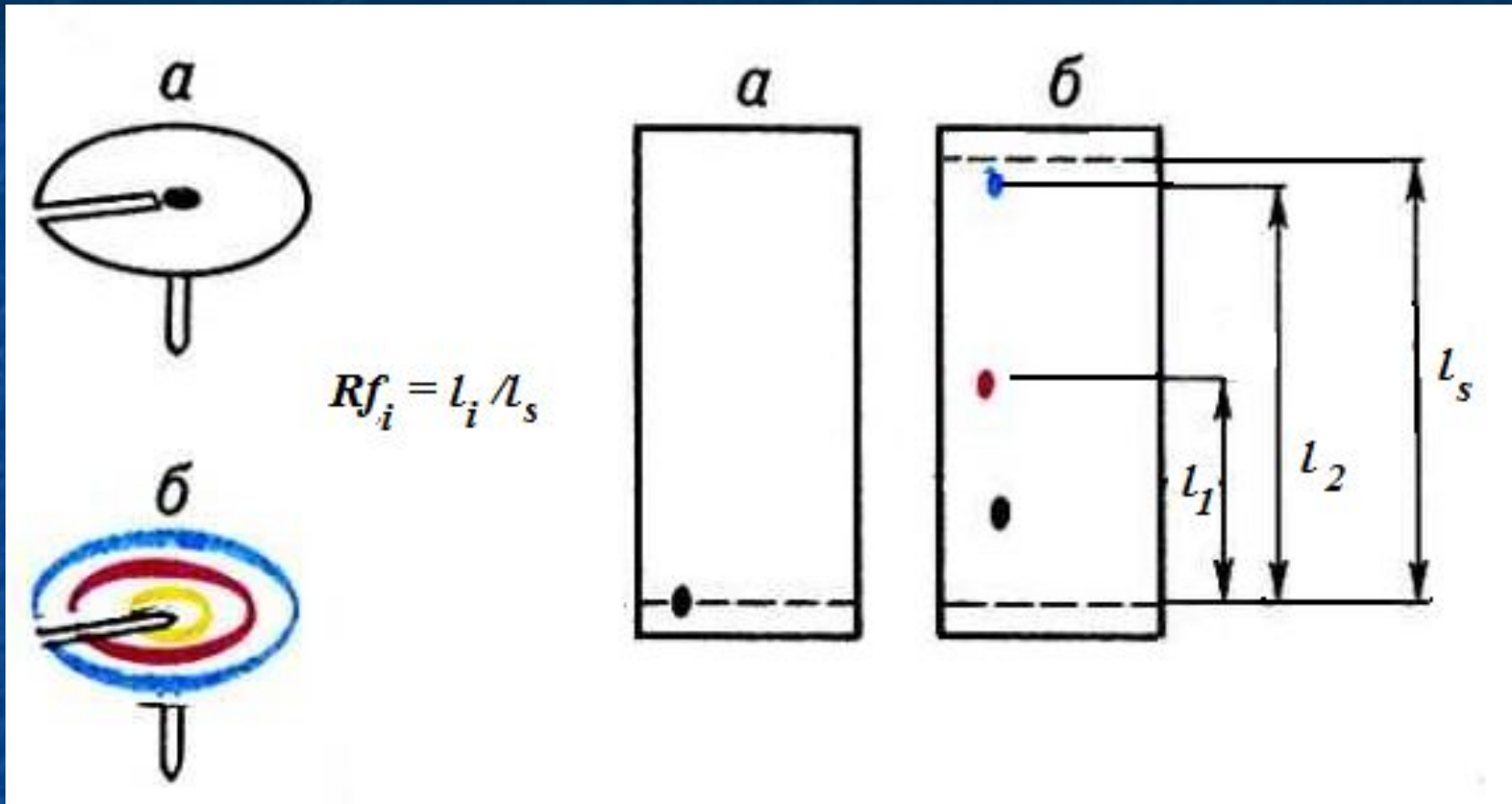


***Неподвижная фаза*** – хроматографическая бумага или пластинки, покрытые тонким слоем сорбента

***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*