

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ПРОМЫШЛЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ДИЗАЙНА»**

---

**ВЫСШАЯ ШКОЛА ТЕХНОЛОГИИ И ЭНЕРГЕТИКИ**

**Г.Ф. Пругло, О.В. Фёдорова, Р.А. Смит**

# **ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА**

**Учебное пособие**

**Санкт-Петербург  
2017**

УДК 543.544 (075)

П 850

ББК 24.4я7

ПРУГЛО Г.Ф., ФЁДОРОВА О.В., СМИТ Р.А. Хроматографические методы анализа: учебное пособие / ВШТЭ СПбГУПТД. - СПб., 2017. - 85 с.

В учебном пособии изложены теоретические основы хроматографических методов анализа и методики выполнения ряда лабораторных работ, необходимые при изучении курса «Аналитическая химия и физико-химические методы анализа».

Учебное пособие предназначено для студентов всех форм обучения, проходящих подготовку по направлениям 18.03.01 «Химическая технология», 18.03.02 «Энерго- и ресурсосберегающие процессы в химической технологии, нефтехимии и биотехнологии», 29.03.03 «Технология полиграфического и упаковочного производства» по программам академического и прикладного бакалавриата, а также для магистров, обучающихся по направлению «Химическая технология».

Рецензенты: доцент кафедры физической и коллоидной химии Высшей школы технологии и энергетики СПбГУПТД, канд.хим.наук Е.Ю. Демьянцева.  
доцент кафедры неорганической химии РГПУ им. А.И. Герцена, канд.хим.наук А.Н. Борисов.

Рекомендовано к изданию Редакционно-издательским советом ВШТЭ СПбГУПТД в качестве учебного пособия

© Высшая школа технологии и энергетики  
СПбГУПТД, 2017

© Пругло Г.Ф., Федорова О.В., Смит Р.А.,  
2017

## ВВЕДЕНИЕ

*Хроматография* (от греч. *chroma*, *chromatos* – цвет, краска) — физико-химический метод разделения смесей на компоненты в результате распределения компонентов между двумя фазами – неподвижной, с большой поверхностью контакта (сорбент), и подвижной (элюент), которая представляет собой поток, фильтрующийся через неподвижный слой.

По мнению экспертов, хроматография относится к 20 выдающимся открытиям прошлого столетия.

Хроматографический метод анализа был впервые применён русским ученым-ботаником Михаилом Семёновичем Цветом в 1900 г. Он использовал колонку, заполненную карбонатом кальция, для разделения пигментов растительного происхождения. Несмотря на то, что М.С. Цвет был ботаником, его вклад в развитие хроматографии был столь значительным, что Федерация европейских химических обществ приводит фамилию Цвета наряду с такими известными фамилиями как Ломоносов, Менделеев, Бутлеров, Семенов в числе ста выдающихся учёных прошлого. В 1907 г. Цвет демонстрирует образец хроматографа – прибора для осуществления хроматографического метода анализа. В 1917 г. Михаил Семенович даже был номинирован на Нобелевскую премию, но рецензенты не смогли по достоинству оценить значение его работ.

Через 10-15 лет после своего появления как метода исследования хроматографии получила своё развитие в Германии и Швейцарии. В 1933 г. А. Винтерштайн выпустил публикации по хроматографии.

Ученые Мартин и Синг были удостоены в 1952 г. Нобелевской премии за открытие распределительной хроматографии. Известный химик-органик П. Каррер при получении Нобелевской премии подчеркнул решающую роль хроматографического метода при исследованиях каротиноидов, флавинов, витаминов А и В<sub>2</sub>. Сейчас многие научные исследования были бы невозможны без применения знаний по хроматографии.

В настоящее время хроматографические методы анализа широко используются в химической, нефтехимической промышленности, медицине, фармации, биологии, для охраны окружающей среды и в других отраслях народного хозяйства.

## 1. КЛАССИФИКАЦИЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Хроматография – это физико-химический метод разделения и концентрирования, характерной особенностью которого является многократность *повторения процессов сорбции и десорбции компонентов*, содержащихся в подвижной фазе, на поверхности неподвижной фазы. В каждый момент времени на любом месте сорбента наступает динамическое сорбционное равновесие, когда концентрации отдельного компонента в подвижной фазе отвечает определенное количество сорбированного вещества, т. е. вещества в неподвижной фазе, в соответствии с его константой распределения между подвижной и неподвижной фазами. Константа распределения

$$K = \frac{c_1}{c_2},$$

где  $c_1$  – концентрация вещества на сорбенте (в неподвижной фазе);

$c_2$  – концентрация вещества над сорбентом (в подвижной фазе).

Можно подобрать условия, при которых каждый компонент смеси характеризуется своей константой распределения, тогда скорости продвижения компонентов смеси через слой неподвижной фазы в потоке подвижной фазы будут различны за счет различия в длительности нахождения вещества в сорбированном состоянии на неподвижной фазе. Вещества с меньшей сорбционной способностью проходят через слой неподвижной фазы с большей скоростью, чем вещества, сорбирующиеся лучше, концентрация которых на неподвижной фазе больше. В результате происходит разделение смеси на компоненты и образование зон, или полос, каждая из которых содержит один компонент анализируемой смеси. Задача

исследователя состоит в обнаружении этих зон и определении их качественного и количественного составов.

*Классификацию хроматографических методов* проводят по четырём признакам в зависимости от:

1) природы подвижной и неподвижной фазы (табл. 1.1 «Название метода»); 2) аппаратного оформления (табл. 1.1 «Вид хроматографии»); 3) метода проведения - элюентная, вытеснительная и фронтальная хроматография; 4) по механизму сорбции – молекулярная и хемосорбционная.

Таблица 1.1. Классификация хроматографических методов

| Название метода                              | Подвижная фаза | Неподвижная фаза          | Метод фиксации неподвижной фазы                                             | Вид хроматографии       |
|----------------------------------------------|----------------|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| Адсорбционная (жидкостная)                   | жидкость       | твёрдое тело              | послойно в колонке                                                          | колоночный              |
| Распределительная (жидкостная) хроматография | жидкость       | жидкость                  | адсорбция на пористом веществе                                              | колоночный              |
| Бумажная хроматография                       | жидкость       | жидкость                  | удерживается волокнами бумаги                                               | плоскостной             |
| Тонкослойная хроматография                   | жидкость       | жидкость или твёрдое тело | сорбент или твёрдый носитель, нанесенный на стеклянную пластинку или фольгу | плоскостной (планарный) |
| Газо-адсорбционная хроматография             | газ            | твёрдое тело              | послойно в колонке                                                          | колоночный              |
| Газо-жидкостная хроматография                | газ            | жидкость                  | адсорбция на пористом веществе или в капилляре                              | колоночный              |
| Гель-хроматография                           | жидкость       | жидкость                  | удерживается в порах твёрдого полимера                                      | колоночный              |
| Ионообменная хроматография                   | жидкость       | твёрдое тело              | послойно в колонке                                                          | колоночный              |

Элюентная (проявительная) хроматография – наиболее распространенный метод, при котором порцию анализируемой смеси **А + В** вводят в верхнюю часть колонки в поток подвижной фазы **Е**, после чего компоненты смеси распределяются между подвижной и неподвижной фазами (рис.1а). Поскольку сорбция является обратимой, осуществляется непрерывный переход из подвижной фазы в неподвижную, и наоборот. Компонент в подвижной фазе продвигается сквозь слой сорбента, и скорость прохождения колонки веществом с большей сорбционной способностью ниже, чем с меньшей. Различие в скоростях приводит к разделению компонентов на полосы, расположенные вдоль всей длины колонки. Продвижение полос к выходу из колонки происходит в подвижной фазе (рис.1б, в, г). Процесс вымывания вещества называется элюированием. Если в конце колонки поместить прибор - детектор, регистрирующий изменение концентрации в потоке, и откладывать значение величины сигнала **С** от времени, получится серия пиков. Такой график называется дифференциальной *хроматограммой* (рис.1д). Хроматограмму можно использовать для качественного и количественного определения состава смеси.

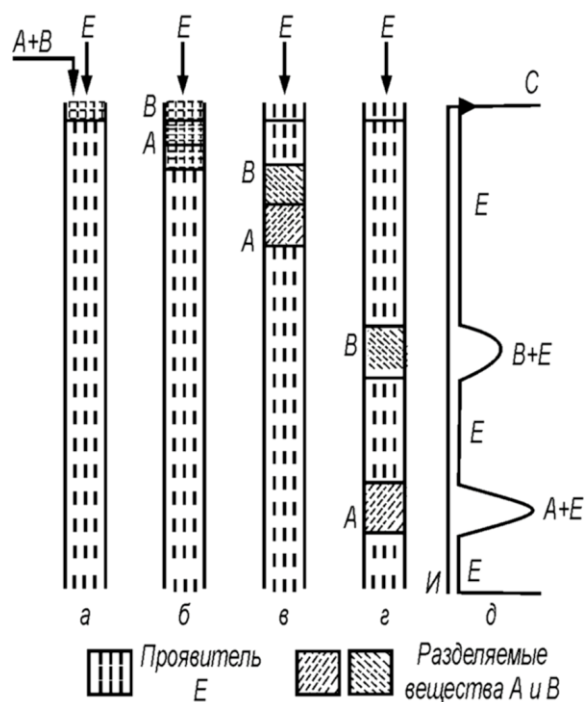


Рис. 1. Элюентная хроматография:  
а – ввод смеси веществ **А** и **В** в хроматографическую колонку в поток подвижной фазы **Е**;  
б, в, г – прохождение веществ через слой неподвижной фазы в потоке подвижной фазы **Е**;  
д – дифференциальная хроматограмма

В *вытеснительном методе* анализируемую смесь компонентов **A** и **B** в растворителе **E** вводят в колонку и промывают раствором вещества **D** (вытеснитель), которое сорбируется лучше, чем любой из компонентов анализируемой смеси, и вытесняет остальные (рис.2а, б, в). Детектор фиксирует изменение концентрации на выходе из колонки. Зависимость концентрации **C** от объема пропущенного раствора **V** называется *интегральной хроматограммой* (рис.2г). Недостатком этого метода является частое наложение зоны одного вещества на зону другого, поскольку зоны компонентов в этом методе не разделены зоной растворителя.

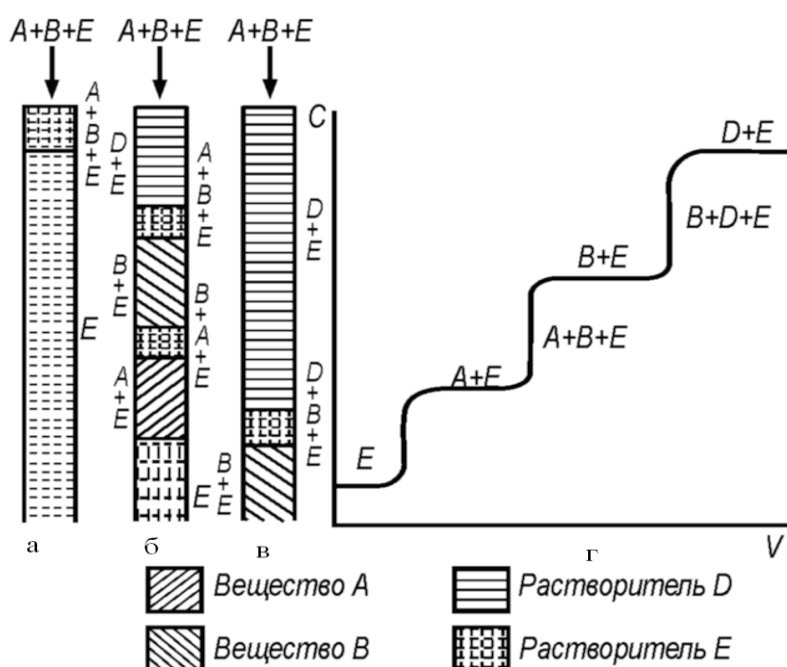


Рис. 2. Вытеснительная хроматография:  
 а – ввод смеси веществ **A** и **B** в хроматографическую колонку в поток подвижной фазы **E**;  
 б – ввод растворителя **D**;  
 в – вытеснение компонентов;  
 г – интегральная хроматограмма

*Фронтальный метод* состоит в том, что через колонку с адсорбентом непрерывно пропускают анализируемую смесь, например, компонентов **A** и **B** в растворителе **E** (рис. 3а, б, в). В растворе, вытекающем из колонки, определяют концентрацию каждого компонента и строят график в координатах концентрация вещества – объем раствора, прошедшего через колонку. Вследствие сорбции веществ **A** и **B** сначала из колонки будет вытекать растворитель **E**, затем растворитель и менее сорбирующийся компонент **A**, а затем, вместе с **A**, и компонент **B**, и через некоторое время

состав раствора при прохождении через колонку меняться не будет. Детектор фиксирует изменение концентрации на выходе из колонки. Зависимость концентрации  $C$  от объема пропущенного раствора  $V$  описывается интегральной хроматограммой (рис.3г).

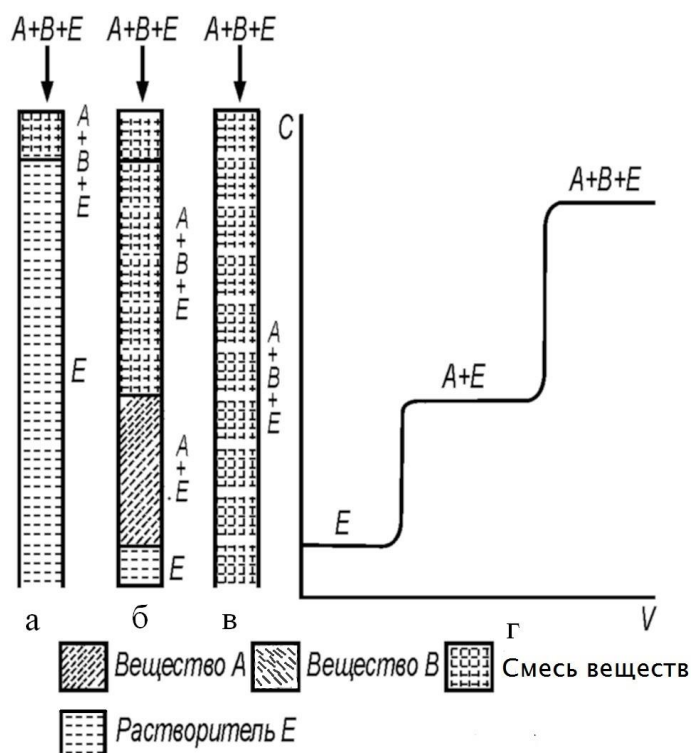


Рис. 3. Фронтальная хроматография:

а, б, в – ввод смеси веществ А и В в растворителе Е в хроматографическую колонку; г – интегральная хроматограмма

Выходная кривая при фронтальном анализе на колонке с ионообменником отличается от кривой фронтального анализа в адсорбционной хроматографии тем, что при ионном обмене общая концентрация (в эквивалентах) вытекающего раствора всегда остаётся постоянной, тогда как в адсорбционной хроматографии с каждым очередным фронтом она ступенчато поднимается.

Фронтальный метод используется сравнительно редко вследствие низкой разделительной способности. Он применяется, например, для очистки раствора от примесей, если они сорбируются существенно лучше, чем основной компонент, или для выделения из смеси наиболее слабо сорбирующегося вещества.

В зависимости от механизма сорбции различают молекулярную и хемосорбционную хроматографию.

В *молекулярной хроматографии* природа сил между сорбентом и компонентами разделяемой смеси – межмолекулярные силы типа сил Ван-дер-Ваальса. Она может быть адсорбционной и абсорбционной. В адсорбционной хроматографии неподвижная фаза твердая, подвижная – жидкость или газ. Абсорбция – процесс, при котором поглощаемое вещество проникает внутрь массы поглотителя, т.е. распределяется во всем его объеме. Такой процесс происходит, например, при растворении газа в жидкости. В абсорбционной, или распределительной, хроматографии неподвижная фаза может быть жидкой (жидкостная распределительная хроматография) или газообразной (газовая распределительная хроматография).

К *хемосорбционной хроматографии* относятся ионообменная и осадочная. В ионообменной хроматографии разделение основано на различной способности ионов смеси обмениваться на одноименно заряженные ионы твердого сорбента – ионита. В осадочной хроматографии разделение основано на различии в способности компонентов смеси образовывать малорастворимые соединения.

## **2. ТЕОРИЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ**

В теории элюентной хроматографии существует два подхода к объяснению поведения анализируемого вещества при его миграции через сорбент и формы концентрационных профилей – теория теоретических тарелок и теория скоростей, или кинетическая теория.

Согласно *теории теоретических тарелок*, предложенной английскими учеными А. Мартином и Р. Сингом (1941), хроматографическую колонку представляют как ряд дискретных (отдельных), но сообщающихся друг с другом узких горизонтальных слоев, называемых *теоретическими тарелками*. Предполагается, что в процессе разделения в каждой тарелке устанавливается равновесие между подвижной

и неподвижной фазами. Движение вещества в подвижной фазе рассматривается как ряд ступенчатых переходов из одной тарелки в другую. Эффективность разделения смеси на компоненты в хроматографической колонке тем выше, чем больше таких равновесий устанавливается, т. е. чем больше число теоретических тарелок. *Таким образом, число теоретических тарелок  $N$  является мерой эффективности колонки.*

Кроме того, эффективность колонки определяется высотой  $H$  эквивалентной теоретической тарелке (ВЭТТ). Высота  $H$  – это участок колонки, на котором устанавливается динамическое равновесие в распределении определяемого компонента между неподвижной и подвижной фазами. Чем меньше этот участок, тем эффективнее разделение. Если обозначить длину хроматографической колонки через « $L$ », то между всеми указанными выше параметрами существует следующее соотношение:

$$N = \frac{L}{H}.$$

Из этого соотношения следует, что чем меньше  $H$ , тем больше равновесий устанавливается при данной длине колонки, и тем выше ее эффективность. Таким образом, теория теоретических тарелок позволяет оценить эффективность хроматографической колонки.

Однако эта теория не может дать практических рекомендаций, позволяющих избежать размывания хроматографических пиков на кривой элюирования, что связано со взаимозависимостью величин  $N$  и  $H$ . На эти вопросы отвечает *кинетическая теория*, предложенная датскими химиками Ван-Деемтером и Клинкенбергом, которая устанавливает связь скорости движения вещества в хроматографической колонке с его концентрацией.

### 3. МЕТОДЫ ХРОМАТОГРАФИИ

#### 3.1. АДсорбЦИОННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

##### 3.1.1. Колоночная адсорбционная хроматография

В своей работе по разделению смеси растительных пигментов (рис. 5) М.С. Цвет дал достаточно четкое определение адсорбционного хроматографического метода анализа, основанного на избирательной адсорбции (поглощении) отдельных компонентов анализируемой смеси соответствующими адсорбентами. Адсорбентами называют твердые тела, на поверхности которых происходит поглощение адсорбируемого вещества (сорбата) (рис. 4).

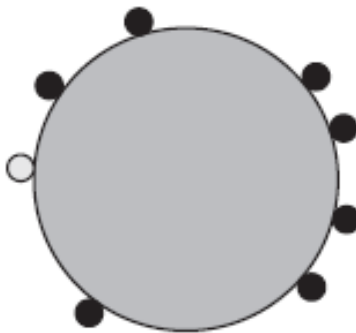


Рис. 4. Схематическое изображение процесса закрепления вещества на сорбенте при адсорбционной хроматографии

Раствор смеси веществ, подлежащих разделению, пропускают через стеклянную трубку, т. е. адсорбционную колонку (в случае проведения колоночной хроматографии), заполненную адсорбентом (силикагелем,  $Al_2O_3$ ,  $CaCO_3$  и др.). В результате различной способности к адсорбции и, соответственно, десорбции веществ, входящих в состав смеси, они будут адсорбироваться на различной высоте столба адсорбента, образуя хроматографические зоны. При этом вещества, которые легче адсорбируются, будут располагаться в верхней части колонки, а те, которые адсорбируются труднее, образуют нижнюю зону.

Если адсорбент был бесцветным или белым, а адсорбируемые вещества — окрашенными, то на адсорбенте появляются цветные зоны, образующие хроматограмму.

В случае веществ, способных флуоресцировать в УФ-лучах, зоны можно наблюдать (проявлять) при облучении колонки.

Если адсорбируемые вещества бесцветны, то образуемые ими зоны тоже бесцветны. В этом случае их приходится «проявлять» пропусканием через колонку реактива, который образует с адсорбируемыми веществами или ионами цветные соединения, окрашивая бесцветные зоны в соответствующие цвета.

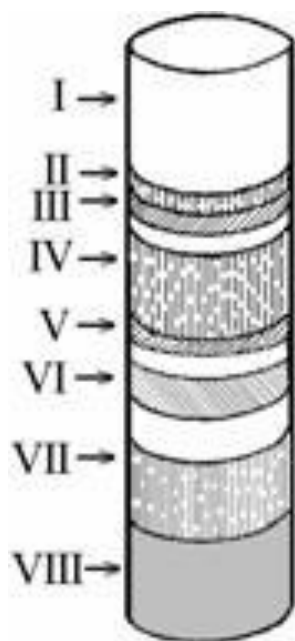


Рис. 5. Хроматограмма хлорофилловых пигментов по М.С. Цвету. Слои:

- I – бесцветный;
- II – ксантофилл  $\beta$  (жёлтый);
- III – хлорофиллин  $\beta$  (жёлто-зелёный);
- IV – хлорофиллин (зелёно-синий);
- V – ксантофилл (жёлтый);
- VI – ксантофилл  $\alpha'$  (жёлтый);
- VII – ксантофилл  $\alpha$  (жёлтый);
- VIII – хлорофиллин (серо-стальной).

Четкие зоны компонентов при разделении смеси получают очень редко. Чаще всего эти зоны расположены слишком близко друг к другу, и их приходится «раздвигать». Это достигается пропусканием через колонку подходящего растворителя, который десорбирует разделяемые компоненты с различной скоростью. В результате этого они продвигаются вместе с растворителем, и разделение компонентов становится более четким вследствие разной скорости элюирования отдельных компонентов. При этом через колонку медленно, при постоянной скорости, пропускают элюент – растворитель, который используют для разделения компонентов и их извлечения из слоя сорбента, и собирают отдельные порции вытекающего

раствора, содержащие соответствующие компоненты смеси, называемые элюатами.

Для выделения компонентов из соответствующих зон поступают следующим образом: выталкивают из хроматографической колонки сорбент, столбик которого разрезают на зоны, и с помощью подходящих растворителей из них извлекают (элюируют) соответствующий компонент.

Качественный и количественный анализ выделенных из колонки компонентов проводят любым подходящим методом.

### **3.1.2. Тонкослойная адсорбционная хроматография**

Тонкослойная хроматография (ТСХ) – плоскостной вид хроматографии (планарная хроматография) – представляет собой твердожидкостную адсорбционную хроматографию, в которой сорбент находится в виде тонкого слоя на пластинке (стеклянной, полимерной или фольге). В качестве сорбента используют силикагель,  $Al_2O_3$ ,  $CaCO_3$  и другие вещества. Толщина слоя мелкозернистого сорбента составляет 1 мм. Слой сорбента может быть закрепленным или незакрепленным.

Метод разработан советскими учеными Н. А. Измайловым и М. С. Шрайбер. Он широко используется для качественного и полуколичественного экспрессного контроля промышленных процессов органического синтеза, при научных исследованиях в химии природных соединений, клинической диагностике и т. д. По чувствительности и возможности определения веществ в сложных смесях и в малых количествах ТСХ превосходит все известные приемы аналитической химии.

Для проведения анализа каплю раствора анализируемой смеси наносят на слой сорбента недалеко от конца пластинки. Затем этот конец стеклянной пластинки опускают в хроматографическую камеру с растворителем (пластинку располагают наклонно под углом  $20-30^0$ ). Под влиянием капиллярных сил растворитель движется вдоль пластинки, а компоненты анализируемой смеси движутся вместе с растворителем, но с

различной скоростью, разделяясь на отдельные зоны (хроматографические пятна). После того, как фронт растворителя пройдет расстояние, несколько меньшее длины пластинки, пластинку вынимают из растворителя, подсушивают, определяют положение хроматографических пятен (визуально, при УФ-освещении или после проявления подходящим реагентом) и рассчитывают для отдельных компонентов смеси величину  $R_f$  – отношение расстояния от старта до середины пятна  $l$  к расстоянию от линии старта до линии финиша растворителя  $L$  (рис. 6). Данные величины  $R_f$  сравнивают с величинами, полученными в опыте с чистым компонентом (веществом - стандартом). Величина  $R_f$ , качественно характеризующая вещество, может изменяться в пределах 0,00...1,00, и чем ближе ее значение к нулю, тем хуже разделение данного вещества. Лучше, если ее значение находится в пределах 0,2...0,7, иногда и до 0,8.

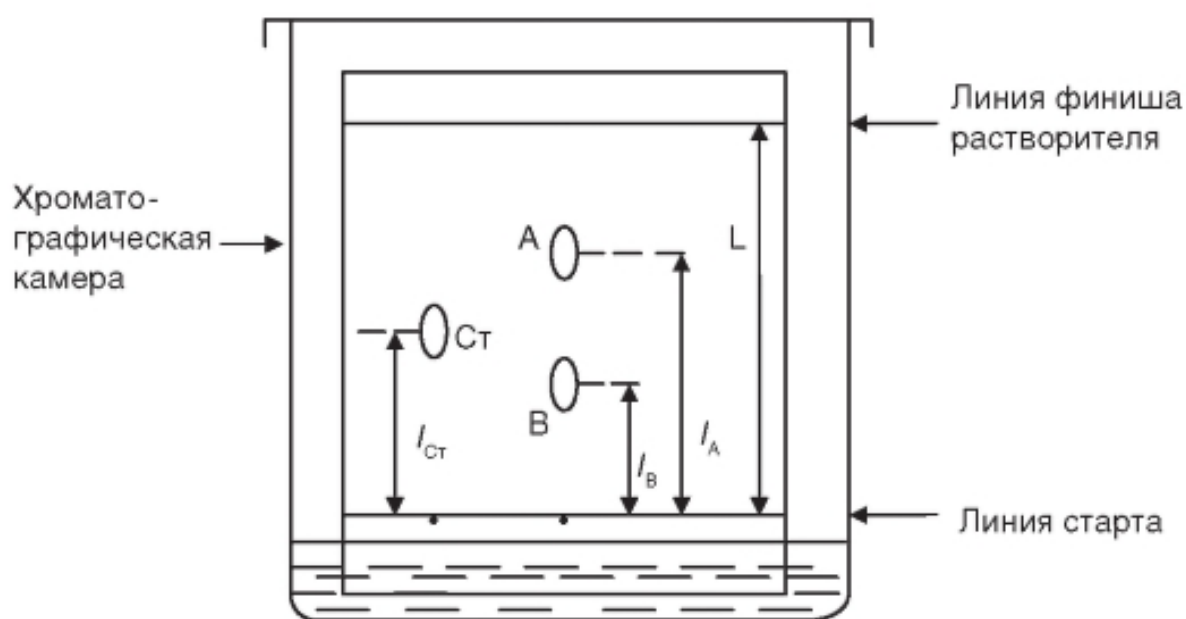


Рис.6. Хроматограмма смеси веществ **A** и **B** и вещества стандарта **Ст**

Для установления химической природы и количества компонентов разделенные зоны соскабливают с пластинки, вещество вымывают из сорбента подходящим растворителем и после фильтрации анализируют

соответствующими микроаналитическими методами (чаще всего спектральными).

В ТСХ различают методы восходящей, нисходящей и горизонтальной хроматографии, зависящие от направления поступающего на пластинку растворителя.

Хроматография называется *восходящей*, если растворитель поступает на пластинку вверх под действием капиллярных сил. Хроматография называется *нисходящей*, если растворитель поступает на пластинку сверху вниз. Этот метод не имеет никаких преимуществ по сравнению с методом восходящей хроматографии.

*Горизонтальный* проточный метод ТСХ применяют для лучшего разделения веществ с близкими значениями  $R_f$ . Он основан на непрерывном поступлении свежего растворителя на пластинку. Этим достигаются удлинение «разделительной дорожки» и увеличение степени разделения. После прохождения всего слоя сорбента растворитель стекает с пластинки или испаряется.

Для количественной оценки хроматограмм в тонком слое можно концентрацию разделенных веществ определить непосредственно на слое или до анализа веществ вымывать их из слоя адсорбента.

Исследование вещества непосредственно на слое сорбента проводят измерением площади и плотности пятна на хроматограмме. Эти величины связывают с количеством вещества в пятне, используя стандарты и калибровочные кривые.

Для определения концентрации веществ в пятнах применяют спектрофотометрию, денситометрию, флуориметрию и метод меченых атомов. При получении хроматограмм для прямого количественного анализа необходимо соблюдать определенные условия:

- на пластинку наносят одинаковые объемы веществ и стандартов; площадь пятен на старте должна быть одной и той же, поэтому раствор

нужно наносить по каплям и давать растворителю испаряться после добавления каждой капли;

- при приготовлении образцов и стандартов следует пользоваться одним и тем же растворителем;

- чтобы уменьшить погрешности, связанные с изменением концентрации по толщине слоя, хроматографировать вещество и стандарты нужно на одной пластинке рядом;

- концентрации образцов и стандартов выбирают таким образом, чтобы они были как можно ближе;

- расстояния, пройденные всеми стандартами и компонентами образца на одной и той же пластинке, должны быть одинаковыми.

Выбор сорбента и растворителя производят так же, как и при колоночной хроматографии.

Для получения закрепленного слоя сорбент фиксируют на стекле. В качестве фиксаторов применяют гипс медицинский, рисовый и маисовый крахмал. Для приготовления хроматографических пластин устанавливают по уровню стол для закрепления пластин, закрепляют в нем необходимое количество вымытых и высушенных стеклянных пластин и с помощью шаблона наносят на пластины слой массы, состоящей из сорбента, связующего вещества и воды. После подсыхания слоя в течение 10-15 мин пластины переносят в кассеты и досушивают в горизонтальном положении при комнатной температуре. Для приготовления пластины с незакрепленным слоем ее кладут на специальную подставку, насыпают на пластину сорбент и, раскатывая его валиком с уступом выбранной величины, получают равномерный слой сорбента необходимой толщины.

Пробу вещества наносят из микропипетки через отверстия в специальном шаблоне. Хроматографирование проводят в специальной камере. При отсутствии камеры можно воспользоваться чашкой Петри и эксикатором или любой плоской кюветой и стеклянным колпаком необходимых размеров.

Для обнаружения на хроматограмме бесцветных веществ обычно пользуются осветителями (ультрахемископами) с УФ-излучением, соответствующим длине волны 254 или 365 нм.

Наиболее распространенный химический метод обнаружения хроматографических пятен заключается в опрыскивании пластины из пульверизатора реагентом, дающим цветные реакции с исследуемыми веществами. В качестве "проявителя" часто используется  $I_2$  в виде 1%-го раствора в метаноле или камеры с парами  $I_2$  (йодная камера). Соединения проявляются в виде коричневых пятен. Можно использовать также 50-98%-ю серную кислоту. После опрыскивания кислотой пластинки нагревают до 100-150 °С. При этом соединения проявляются в виде черных пятен.

## **3.2. РАСПРЕДЕЛИТЕЛЬНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ**

### **3.2.1. Принцип метода распределительной хроматографии**

Распределительная хроматография основана на различии коэффициентов распределения компонентов анализируемой смеси между двумя несмешивающимися фазами (жидкость – жидкость, газ – жидкость). При этом одна из них (неподвижная фаза) находится в порах твердого вещества (носителя), а вторая (подвижная фаза) представляет собой другой растворитель, не смешивающийся с первой. Коэффициент распределения характеризует установившееся равновесие концентраций компонента в неподвижной и подвижной фазах, определяется соотношением концентрации компонента в соответствующих фазах.

В качестве неподвижного растворителя чаще всего используют воду, которая находится в порах носителя. Неподвижная фаза может быть гидрофильная (силикагель, целлюлоза) или гидрофобная (тефлон, полиэтилен, поливинилхлорид).

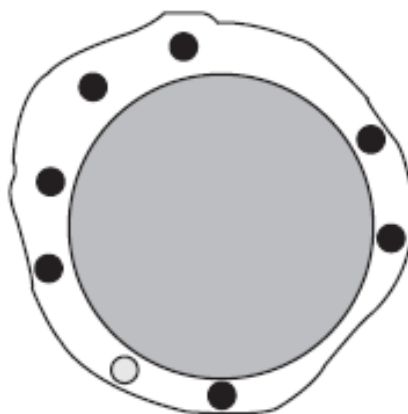


Рис. 7. Схематическое изображение процесса распределения вещества между подвижной и неподвижной фазами при распределительной хроматографии

В зависимости от характера носителя, который используется в распределительной хроматографии, различают следующие ее варианты: *колоночную, бумажную, тонкослойную.*

### **3.2.2. Колоночная распределительная хроматография**

Колоночная распределительная хроматография - распределительная хроматография, выполняемая в колонках, по характеру происходящих процессов аналогична адсорбционной. Разница состоит в том, что в случае распределительной хроматографии сорбентом является неподвижный растворитель, который удерживает распределяемые вещества.

Водный (чаще всего) раствор анализируемой смеси вводят в колонку с твердым сорбентом и, после того как раствор впитается верхней частью носителя, начинают медленное промывание колонки подвижным растворителем (бутиловым спиртом, хлороформом или смесью растворителей). При прохождении вдоль колонки подвижного растворителя происходит непрерывное распределение веществ разделяемой смеси между этими двумя несмешивающимися жидкостями.

Различные величины коэффициента распределения обеспечивают различную скорость движения компонентов смеси с подвижным растворителем и, следовательно, различную эффективность их разделения. Наибольшая скорость движения наблюдается у того компонента, который

имеет наименьший коэффициент распределения. И наоборот: разделение тем эффективнее, чем больше разница в значениях коэффициента распределения компонентов.

При достаточной длине колонки можно произвести полное разделение компонентов любой смеси. А после элюирования разделенных компонентов в отдельные фракции (элюаты) можно определить количество компонентов смеси (оно соответствует количеству элюатов), установить их качественный состав, определить количество каждого из них, используя соответствующие методы количественного анализа.

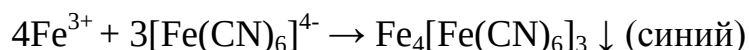
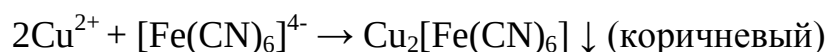
### **3.2.3. Бумажная хроматография**

Бумажная хроматография относится к плоскостным видам хроматографии. Техника её выполнения аналогична тонкослойной хроматографии. Для этого на полоске фильтровальной бумаги, волокна которой, вследствие ее большой гигроскопичности, покрыты тонким слоем влаги, поглощенной из воздуха и играющей роль неподвижной фазы, карандашом на расстоянии 2 см от края отмечают линию старта. На линию старта наносят каплю раствора разделяемых веществ в растворителе. После испарения растворителя полоску бумаги помещают в закрытую хроматографическую камеру и закрывают. Погружение проводят так, чтобы линия старта была чуть выше поверхности подвижного растворителя. Под действием капиллярных сил подвижный растворитель движется вверх по бумаге. Компоненты разделяемой смеси движутся, увлекаемые растворителем, в том же направлении, но с различной скоростью — в зависимости от растворимости в подвижном растворителе (т. е. от коэффициента распределения). По этой причине они будут концентрироваться в виде пятен на различном расстоянии от линии старта, т. е. таким образом разделяться. Когда граница подвижной фазы (растворителя) достигнет заранее установленного уровня от линии старта — фронта

растворителя, полоску фильтровальной бумаги извлекают из камеры и высушивают.

Если разделяемые компоненты интенсивно окрашены, то на полоске бумаги появляются пятна, количество которых соответствует количеству разделяемых компонентов. Если разделяемые компоненты бесцветны или концентрация их мала, то хроматограмма оказывается нерасцвеченной. В этом случае ее проявляют, обрабатывая соответствующим реактивом, с которым разделяемые компоненты образуют окрашенные или флуоресцирующие соединения.

Так, например, при разделении  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  в качестве реактива для проявления хроматограммы можно использовать раствор  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ . Ионы меди и железа взаимодействуют с ферроцианид-ионами с образованием малорастворимых осадков:



Для идентификации веществ разделение исследуемой смеси производится параллельно со «свидетелем» (стандартным раствором). Расстояние между пятном и линией старта зависит от природы растворителя, продолжительности элюирования, типа бумаги, температуры и других факторов. Но главным образом, его величина зависит от природы вещества. Поэтому при постоянных условиях хроматографирования оно является величиной постоянной для данного вещества и служит его качественной характеристикой.

Для количественного определения разделяемых компонентов отдельные пятна на бумаге вырезают, обрабатывают подходящим растворителем, извлекающим компонент, и концентрацию его определяют соответствующим методом.

По методу получения хроматограммы на бумаге различают восходящие (рассмотренный выше случай) и нисходящие (если подвижный растворитель движется сверху вниз), круговые или радиальные, если

растворитель (подвижный) наносится на середину пятна, откуда начинается его движение по кругу.

Кроме того, хроматограммы бывают одно- и двумерные. В случае двумерной хроматограммы, после первого хроматографирования вертикальным элюированием выполняют второе хроматографирование в направлении, перпендикулярном первому.

По природе подвижной и неподвижной фаз различают нормальнофазовую и обращённофазовую бумажную хроматографию. В первом случае жидкой неподвижной фазой является связанная в волокнах целлюлозы вода, подвижной – другая жидкая фаза, например, органический растворитель с добавлением кислот и воды. В варианте обращённофазовой хроматографии на бумаге жидкой неподвижной фазой является органический растворитель, тогда как в роли жидкой подвижной фазы выступают вода, водные или спиртовые растворы, смеси кислот со спиртами.

#### **3.2.4. Тонкослойная распределительная хроматография**

Тонкослойная распределительная хроматография - распределительная плоскостная хроматография, по характеру происходящих процессов аналогична адсорбционной ТСХ (см. п. 3.1.2). Разница состоит в том, что в случае распределительной хроматографии пористый носитель, закрепленный на пластинке или фольге, пропитывается неподвижным растворителем, который удерживает распределяемые вещества. В качестве твердого носителя могут быть использованы силикагель,  $Al_2O_3$ ,  $CaCO_3$ .

### **3.3. ОСАДОЧНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ**

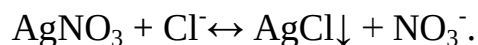
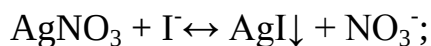
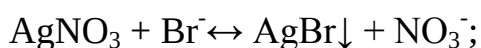
Осадочная хроматография — это метод разделения, основанный на образовании малорастворимых соединений компонентами разделяемой смеси с осадителями, находящимися в порах твердого сорбента. Различия в растворимости образующихся осадков обуславливают их разделение.

Осадочные хроматограммы могут быть получены как в колонке на носителе, содержащем осадитель, так и на бумаге, пропитанной осадителем.

Носителем в осадочной хроматографии может являться малорастворимое вещество с высокоразвитой поверхностью, обладающее определенным сродством к применяемому осадителю или осадку и химически индифферентное к компонентам хроматографируемого раствора, за исключением случая, когда носитель одновременно выполняет и роль осадителя, например, диметилглиоксим и др.

В качестве носителей применяют силикагель, крахмал, оксид алюминия, гидроксид алюминия, сульфат бария, кварц, асбест, аниониты, катиониты, оксид цинка, оксид кальция, стеклянный порошок и т. п.

Анализируемый раствор пропускают через колонку, заполненную пористым носителем, который предварительно промывают реактивом-осадителем. Образовавшиеся осадки, в зависимости от растворимости, располагаются по высоте колонки в определенной последовательности, образуя различные зоны. Таким образом происходит их разделение. Например, при пропускании раствора, содержащего  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ , через колонку с сорбентом, пропитанным предварительно раствором  $\text{AgNO}_3$ , образуются три зоны — соответственно  $\text{AgCl}$ ,  $\text{AgBr}$ ,  $\text{AgI}$ . Так



Разделение тем эффективнее, чем больше различаются осадки по растворимости. Растворимость галогенидов серебра в воде увеличивается в последовательности:  $\text{PP}_{\text{AgI}} = 8,3 \cdot 10^{-17} < \text{PP}_{\text{AgBr}} = 5,3 \cdot 10^{-13} < \text{PP}_{\text{AgCl}} = 1,78 \cdot 10^{-10}$ . Вначале будет образовываться осадок йодида серебра, как наименее растворимого; на хроматограмме будет наблюдаться жёлтая зона. Затем образуется зона осадка бромида серебра кремового цвета. В последнюю очередь образуется белый осадок хлорида серебра.

При формировании осадочных хроматограмм происходит многократное повторение элементарного акта – процесса образования и растворения осадков. Многократность элементарного акта определяется различием в растворимости образующихся в колонке осадков, а также возможностью их закрепления в месте образования.

Таким образом, формирование осадочных хроматограмм является результатом двух процессов: распределения образующихся осадков в колонке в порядке увеличения их растворимости и закрепления осадков на колонке в месте их образования. При слабом закреплении осадков они сползают вниз по колонке, и хроматографирование оказывается невозможным.

Разделение осадков происходит тем лучше, чем сильнее различаются осадки по своей растворимости. Для того чтобы разделение веществ происходило с наибольшей эффективностью, каждый элементарный акт должен сопровождаться значительным изменением концентрации одного вещества по отношению к концентрации другого.

Разделение хроматографируемых веществ в колонке улучшается при промывании хроматограммы чистым растворителем. Зоны при этом обособляются, границы их становятся более резкими. Осадочные хроматограммы имеют четкие нижние границы и равномерное распределение осадка по высоте зоны. Эта особенность осадочных хроматограмм используется для количественного определения веществ по высоте зоны.

Осадочная хроматография в сочетании с методом предельного разбавления может быть использована для определения микроколичеств веществ в растворе.

### **3.4. ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ**

#### **3.4.1. Принцип метода газовой хроматографии**

Газовая хроматография – метод разделения летучих соединений. Подвижной фазой здесь служит инертный газ (газ-носитель), который

проходит через неподвижную фазу. Подвижной фазой могут быть водород, гелий, аргон, азот – эти газы-носители не взаимодействуют с разделяемыми веществами и неподвижной фазой.

В зависимости от агрегатного состояния неподвижной фазы различают:

- газотвердофазную (газоадсорбционную) хроматографию (неподвижная фаза – силикагель, алюминия оксид, уголь, пористое стекло и др.);

- газожидкостную хроматографию (неподвижная фаза – жидкость, нанесенная на твердый носитель).

Процесс разделения основан на различиях в адсорбируемости в случае газоадсорбционной или растворимости (или абсорбируемости) при газожидкостной хроматографии разделяемых компонентов. Через хроматографическую колонку быстрее движется тот компонент, сорбируемость которого на неподвижной фазе меньше, а летучесть (упругость пара) при данной температуре выше.

Этим методом можно проанализировать газообразные, жидкие или твердые вещества, необходимыми требованиями к которым являются их летучесть, инертность и термостабильность.

Анализ смесей проводят на газовом хроматографе, принципиальная схема которого представлена на рис. 8.

Подвижная фаза (газ-носитель) непрерывно подается из баллона 1 через блок подготовки газов 2, в котором происходит осушение газа-носителя и стабилизация потока, в хроматографическую колонку 4 в термостате 6. Давление газа-носителя измеряется манометрами 3 и 3', скорость потока – расходомером 9.

Газообразную анализируемую пробу вводят дозатором в поток газа-носителя, жидкую – шприцем через резиновую мембрану в испаритель 5. Из испарителя проба переносится газовым потоком в хроматографическую колонку 4.

Вследствие специфических различий в сорбции или растворимости при движении через слой неподвижной фазы компоненты группируются в зоны, отделенные друг от друга газом-носителем. Изменение состава выходящей из колонки смеси фиксируется детектором 7, устройством, в котором образуется электрический сигнал при изменении какого-либо химического или физического свойства выходящей из колонки смеси компонента и газа-носителя. Колонки и детектор помещены в термостат 6. Полученный сигнал записывается на движущейся ленте регистратора (самописца) 8, в результате получается дифференциальная хроматограмма – зависимость величины сигнала детектора  $U$ ,  $V$ , от времени выхода компонента  $t$ , мин, пример которой приведен на рис.9.

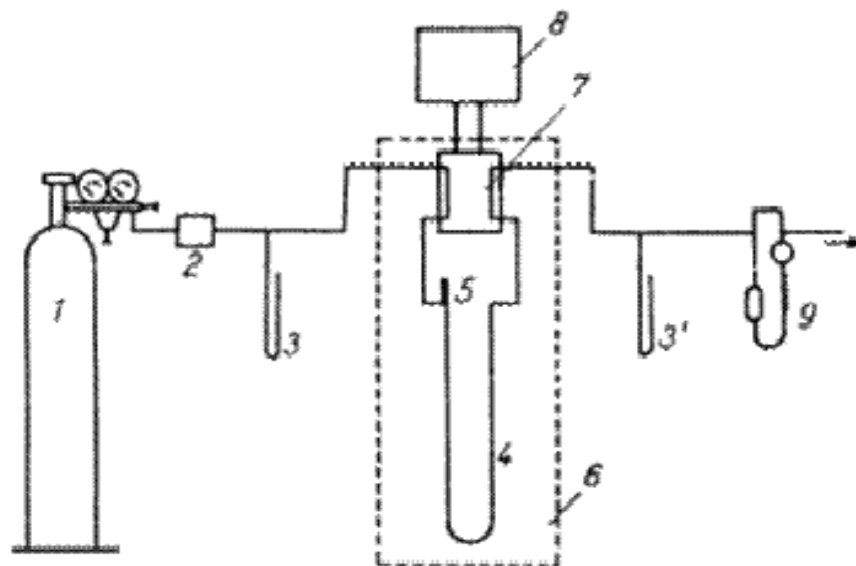


Рис. 8. Принципиальная схема газового хроматографа:

1 – баллон высокого давления с газом-носителем с присоединенным редуктором для снижения давления; 2 – стабилизатор потока; 3 и 3' – манометры; 4 – хроматографическая колонка; 5 – устройство для ввода пробы (испаритель); 6 – термостат; 7 – детектор; 8 – самописец; 9 – расходомер

Дозатор предназначен для введения точного количества образца пробы в хроматограф. В качестве дозатора газообразных проб используют

специальное устройство – кран - дозатор, жидких – микрошприц (рис. 10). Объем вводимой пробы: от 0,1 мкл до 50 мкл для жидких и от 0,5 см<sup>3</sup> до 20 см<sup>3</sup> для газообразных проб. Жидкие пробы обычно вводят через изолированно обогреваемый испаритель 5 (см. рис. 8), имеющий минимальный объем, чтобы мгновенно испарить образец и ввести его в колонку. Температура испарителя, которая обычно гораздо выше температуры колонки, должна быть оптимальной, чтобы проба испарялась полностью, но вместе с тем не подвергалась разложению. Обычно температура испарителя выбирается равной или на 30-50 °С выше температуры кипения наиболее высококипящих компонентов смеси.

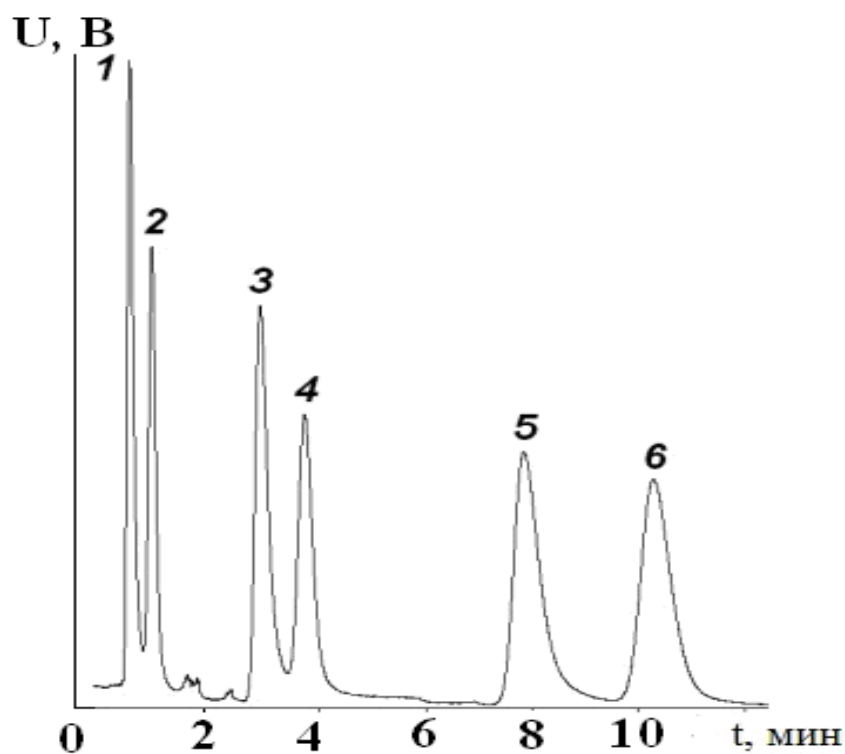


Рис. 9. Дифференциальная хроматограмма смеси насыщенных и ароматических углеводородов C<sub>6</sub> – C<sub>8</sub>: 1- бензол, 2 – гексан, 3– толуол, 4 – гептан, 5 – этилбензол, 6 – октан

Колонки, применяемые в газовой хроматографии, могут быть прямые, U-образные или в форме спирали; стеклянные, металлические или пластмассовые – в зависимости от агрессивности исследуемой смеси и температуры кипения компонентов. Длина колонок, заполненных твердым носителем, составляет 1–10 м, диаметр 3–5 мм.



Рис. 10. Микрошприц для дозирования жидких проб

В существующих хроматографических детекторах для получения электрического сигнала используются различные физические, химические или физико-химические свойства анализируемых веществ. Выбор детектора определяется следующими основными требованиями: высокой чувствительностью к хроматографируемым компонентам, малой инерционностью, линейностью зависимости сигнала от количества пробы, воспроизводимостью и стабильностью показаний, простотой устройства, доступностью.

В практике газовой хроматографии широко применяют детектор, основанный на получении сигнала в результате изменения электрического сопротивления проводника в зависимости от теплопроводности газа (катарометр), и пламенно-ионизационный детектор (ПИД), описанные далее в п. 3.4.5.

В газовой хроматографии качественный и количественный анализ проводится по полученным на ленте самописца графикам зависимости величины сигнала детектора от времени - хроматограммам. Вид хроматограммы зависит от типа применяемого детектора – дифференциального или интегрального. Дифференциальная хроматограмма состоит из ряда последовательных пиков, число которых должно соответствовать числу компонентов анализируемой смеси (см. рис. 9).

### 3.4.2. Проявительный метод в газовой хроматографии

В газовой хроматографии обычно используют проявительный метод. Способ проведения анализа, вид и параметры полученной хроматограммы представлены на рис.11.

Перед анализом предварительно заполненная сорбентом колонка промывается чистым растворителем (газом) **S** (рис.11а), обычно сорбирующимся слабее всех остальных компонентов анализируемой смеси.

Затем, не прекращая потока газа **S**, в колонку вводят порцию анализируемой смеси, например, вещества **A** и **B**, которые сорбируются в верхних слоях сорбента (рис. 11б) и вследствие движения газа **S** постепенно перемещаются вдоль слоя сорбента с различными для каждого компонента скоростями, зависящими от коэффициента распределения **K**.

В результате компоненты анализируемой смеси разделяются на зоны (рис. 11в), которые, в свою очередь, продвигаются по колонке со скоростями, зависящими от скорости потока газа-носителя **S**, температуры и других факторов. Хорошо сорбирующееся вещество, например, **A**, постоянно отстает от зоны хуже сорбирующегося вещества **B** (рис. 11г) и занимает верхнюю часть колонки. При достаточной длине колонки смесь веществ **A** и **B** полностью разделяется, а вследствие движения газа зоны постепенно перемещаются вдоль колонки, и компоненты последовательно выходят из нее в детектор (рис. 11д, е).

Если с помощью детектора регистрировать изменение концентрации выходящих из колонки компонентов, то получится своеобразная непрерывная кривая линия (выходная кривая) в виде симметричных пиков – хроматограмма (рис. 11ж).

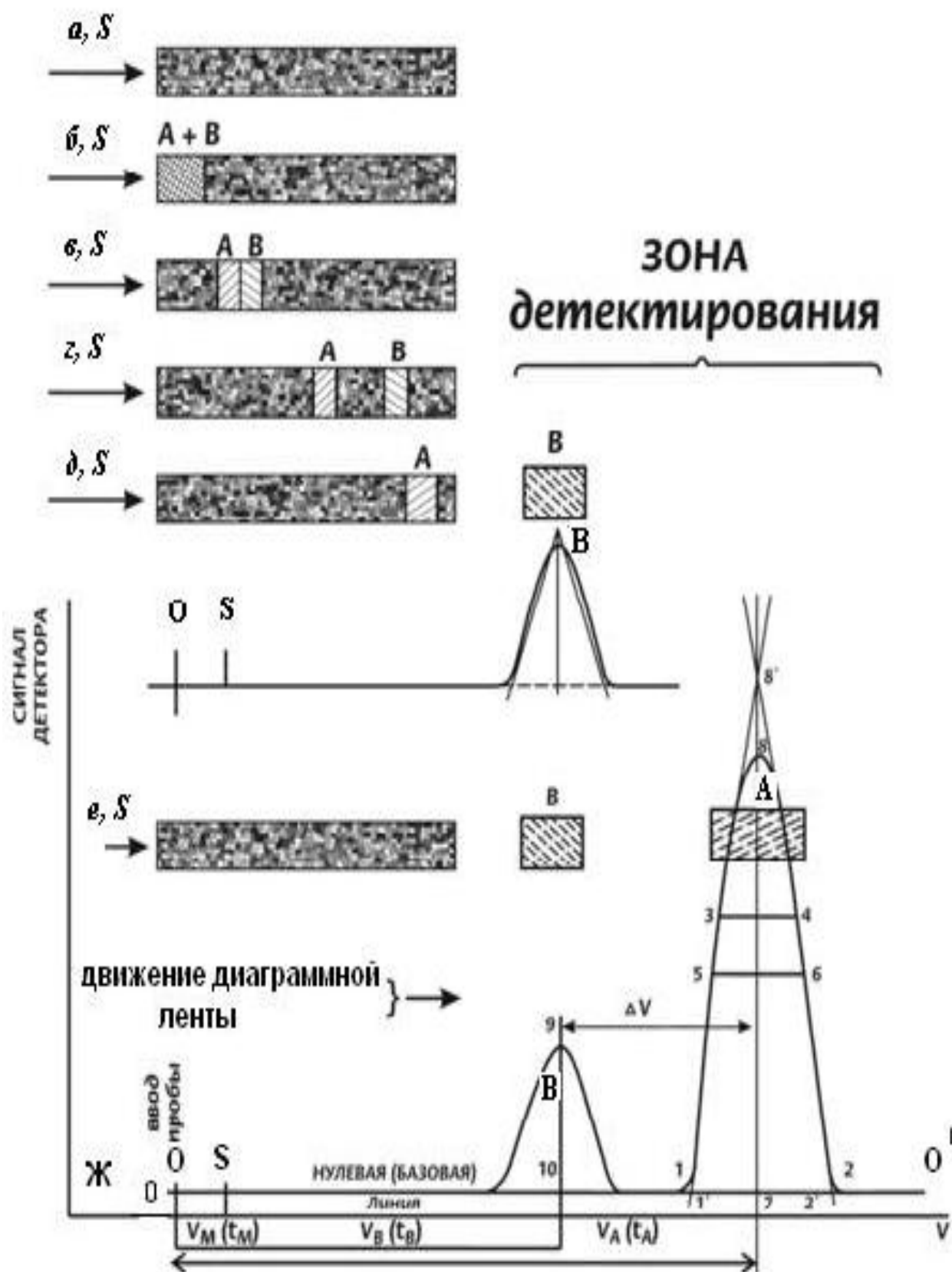


Рис. 11. Вид и параметры выходной кривой проявительного анализа

Обычно на оси абсцисс откладывается объем проходящего через колонку газа-носителя. В случае постоянства скорости газа-носителя по оси абсцисс можно откладывать пропорциональное объему газа время опыта, а по оси ординат – изменение сигнала детектора, пропорциональное изменению концентрации хроматографируемого компонента на выходе из колонки.

Точка О соответствует моменту ввода пробы анализируемого вещества, точка S – появлению на выходе из колонки несорбирующегося газа. Таким образом, отрезок OS соответствует объему колонки, заполненному несорбирующимся газом,  $V_M$  – газовый «мертвый» объем, или свободный объем колонки.

Линия 00', проходящая параллельно оси абсцисс, называется нулевой (базовой) линией, относительно которой ведется измерение высоты и площади хроматографических пиков.

Кривая 1, 8, 2 называется хроматографическим пиком. Кривая 1, 5, 3, 8 называется фронтом пика, а 8, 4, 6, 2 – тылом пика.

Расстояние от нулевой линии до максимума пика 8, т. е. 7, 8, называется высотой пика (**h**). Отрезок 1', 2' называется шириной пика у основания (**μ**). Он определяется расстоянием между точками пересечения касательных, проведенных к точкам перегиба 3, 4 с нулевой линией. Расстояние между точками 5, 6 - ширина пика на половине его высоты (**μ<sub>0,5</sub>**).

Отрезок 0, 7 соответствует удерживаемому объему ( $V_A$ ) вещества А, т. е. объему газа-носителя, который нужно пропустить через слой сорбента в колонке от момента ввода пробы до момента регистрации на выходе из колонки максимальной концентрации вымываемого вещества А. Соответственно отрезок 0, 10 определяет удерживаемый объем вещества В ( $V_B$ ).

Время **t<sub>i</sub>**, мин, соответствующее удерживаемому объему **V<sub>i</sub>**, называется временем удерживания.

Объем удерживания находят по уравнению:

$$V_i = t_i \cdot F_{об}, \text{ см}^3,$$

где  $F_{об}$  – объемная скорость газа-носителя,  $\text{см}^3/\text{мин}$ , рассчитанная при барометрическом давлении на выходе из колонки  $P_B$ , Па, при температуре колонки  $T_K$ , К по формуле:

$$F_{об} = F_{изм} \frac{T_K}{T_{ср}} \left( 1 - \frac{P_{H_2O}}{P_B} \right), \text{ см}^3/\text{мин},$$

где  $F_{изм}$  – измеренная мыльно-пленочным измерителем объемная скорость газа-носителя,  $\text{см}^3/\text{мин}$ ;  $P_{H_2O}$  – давление паров воды в мыльно-пленочном измерителе, Па;  $T_{ср}$  – температура среды, К.

Каждый компонент смеси будет перемещаться вдоль слоя сорбента с постоянной скоростью на всем протяжении слоя сорбента.

Множественность актов сорбции-десорбции при движении зоны обеспечивает разделение веществ при ничтожно малом различии в сорбируемости веществ.

### 3.4.3. Основные критерии хроматографического разделения

Для характеристики процесса хроматографического разделения многокомпонентной смеси предложены критерии, оценивающие:

степень размывания – эффективность колонки;

степень разделения – разрешение колонки;

избирательность – селективность колонки.

Под *эффективностью* в хроматографии понимают способность системы предотвратить (ограничить) размывание зон разделяемых веществ.

Размывание полос характеризует эффективность колонки, которая выражается числом теоретических тарелок  $N$  и рассчитывается по формуле

$$N = 16 \left( \frac{V_i}{\mu} \right)^2,$$

где  $V_i$  – экспериментальное значение удерживаемого объема (или время удерживания), см<sup>3</sup>;

$\mu$  – ширина пика у основания, мм.

На практике число  $N$  рассчитывается по более простой формуле

$$N = 5,5 \left( \frac{L_i}{\mu_{0,5}} \right)^2 ,$$

где  $L_i$  – длина колонки, мм;

$\mu_{0,5}$  – ширина пика на половине его высоты, мм.

Чем больше число теоретических тарелок на единицу длины колонки, тем эффективнее колонка, тем острее и уже получаются пики на хроматографе.

Число теоретических тарелок можно увеличить, увеличивая длину колонки и уменьшая её диаметр. Эффективность также зависит от количества пробы, вводимой в колонку.

Эффективность колонки возрастает с уменьшением отношения количества неподвижной жидкой фазы к количеству твердого носителя, так как с уменьшением толщины пленки разделяемые вещества быстрее будут переходить из неподвижной фазы в газовую фазу.

В реальных условиях разделяемые вещества непрерывно движутся вдоль колонки вместе с газом-носителем, поэтому состояние равновесия между газовой и жидкой фазами для определяемого компонента в какой-либо определенной точке колонки не достигается.

Однако можно рассчитать длину участка колонки, или так называемую высоту, эквивалентную теоретической тарелке (ВЭТТ), на которой устанавливается мгновенное равновесие между подвижной и неподвижной фазами. Эту величину ( $H$ ) рассчитывают по формуле

$$H = \frac{L}{N} ,$$

где  $L$  – длина колонки (длина слоя сорбента в колонке), см.

Для уменьшения величины **N** на практике подбирают оптимальные условия. Размер частиц сорбента выбирают таким, чтобы скорость подвижной фазы удовлетворяла условиям разделения. В конкретной хроматографической системе величину **N** можно изменить, только изменяя скорость движения подвижной фазы.

В большинстве случаев колонки, имеющие около 1000 теоретических тарелок и ВЭТТ, равную 0,1 - 0,2 см, являются достаточно эффективными для решения аналитических задач.

*Разрешение* хроматографической системы является мерой полноты разделения двух анализируемых веществ и характеристикой разделения компонентов хроматографируемой смеси.

Степень разрешения **R** определяется по формуле

$$R = \frac{\Delta V}{\mu^A_{0,5} + \mu^B_{0,5}} = \frac{2V}{\mu^A + \mu^B}.$$

На рис.12 изображены хроматограммы с различными степенями разрешения. Видно, что степень разрешения **R** = 1,5 обеспечивает практически полное разделение веществ **A** и **B**, тогда как при **R** = 0,5 разделения не происходит. Удовлетворительным является разделение при **R** = 1,0.

Поскольку предельным значением перекрывания полос (1 - **R**) принято считать величину около 4 %, то такое разрешение считают достаточным для многих практических целей.

При одинаковом наполнителе разделение можно улучшить удлинением колонки, т. е. увеличением числа теоретических тарелок. В других случаях можно увеличить **R**, изменяя подвижную фазу путем увеличения ее сродства к растворенному веществу за счет изменения **K**.

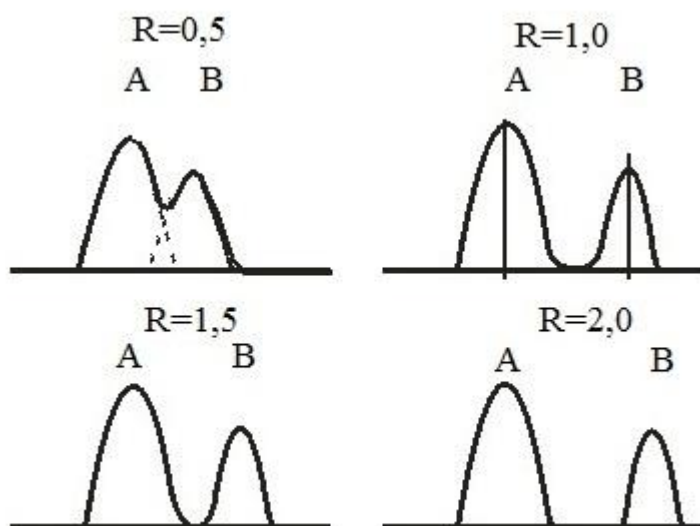


Рис. 12. Хроматограммы с различными степенями разрешения

*Селективность* характеризует разделение центров зон и является мерой взаимного распределения двух или более определяемых веществ в ходе хроматографического процесса.

Хроматографическое разделение основывается на селективности сорбента и различиях термодинамических свойств анализируемых веществ по отношению к хроматографируемой системе (рис.13).

Селективность характеризуется несколькими критериями, в том числе, критерием чистоты фракций ( $\eta$ ), который связан со степенью разрешения  $R$

$$\eta = \frac{h_A + h_B}{h_{\min}},$$

где  $h_A$  — высота пика вещества **A**;

$h_B$  — высота пика вещества **B**;

$h_{\min}$  — высота минимума между пиками.

При постоянном объеме неподвижной фазы селективность можно увеличить, увеличивая площадь адсорбента и повышая содержание неподвижной жидкой фазы в распределительной системе (увеличивая толщину пленки).

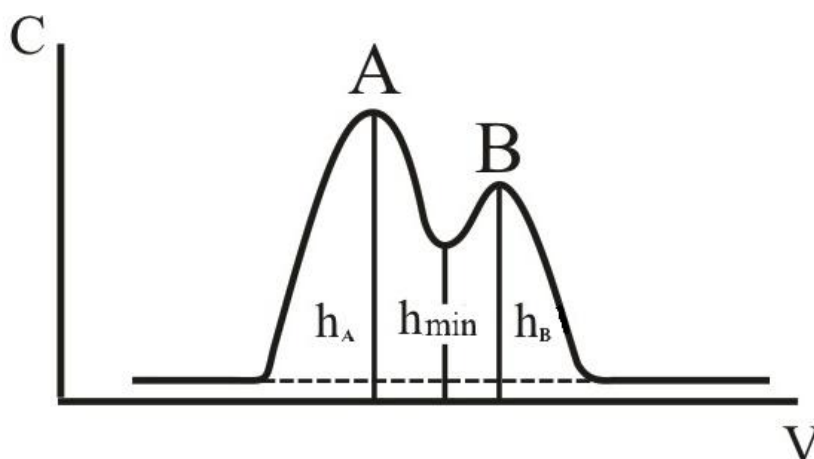


Рис. 13. Определение селективности сорбента

Изменение длины хроматографической колонки является наиболее распространенным способом повышения селективности.

#### 3.4.4. Требования к неподвижной фазе

Газовая хроматография является универсальным методом анализа: с её помощью можно определять неорганические газы, металлы после их перевода в летучие хелатные комплексы, а также большинство органических соединений. Ограничениями в применении газовой хроматографии для определения веществ являются летучесть и устойчивость анализируемых соединений. Кроме того, компоненты пробы должны быть инертными по отношению к системе разделения, в случае газожидкостной хроматографии – инертными по отношению к веществу неподвижной жидкой фазы.

В качестве носителя для *неподвижной фазы* обычно используются различные зернистые материалы, удовлетворяющие следующим требованиям:

- 1) оптимальный размер зерен сорбента, зависящий от диаметра колонки (отношение диаметра колонки к диаметру частиц зерен сорбента должно быть около 25);
- 2) однородный состав зерен по размерам (наиболее часто применяют зерна размером 0,1 и 0,5 мм);
- 3) устойчивость к действиям давления, истирания и температуры;

- 4) нерастворимость в смачивающей жидкости;
- 5) способность удерживать достаточное количество жидкой фазы;
- 6) большая удельная поверхность;
- 7) химическая индифферентность к подвижной фазе и анализируемой пробе, т. е. малая каталитическая и сорбционная способность по отношению к разделяемым веществам.

Обычно носитель изготавливают из кизельгура (хромосорб W, цемент, газохром, дикалит, анахром и др.) или на основе огнеупорного кирпича (хромосорб R, хромосорб P, рисорб, диапорт). Имеются носители, обладающие минимальными адсорбционными свойствами, которые изготавливаются в виде шариков из полиэтилена, политетрафторэтилена, а также стеклянных шариков и шариков из нержавеющей стали, вольфрама, алюминия, меди, никеля и нитрона.

В газожидкостной хроматографии в качестве неподвижной фазы используют жидкую фазу, нанесенную на поверхность зерен указанных выше сорбентов. *Неподвижная жидкая фаза* в этом случае должна обладать следующими свойствами:

- 1) низкой летучестью паров (температура кипения используемой жидкости должна быть на 200 °C выше рабочей температуры колонки);
- 2) термической устойчивостью;
- 3) химической инертностью;
- 4) большой селективностью и чистотой.

При выборе неподвижной фазы учитывают ее химическую природу и полярность, а также химическую природу и полярность исследуемых веществ. Неподвижная жидкая фаза должна быть химически близкой к разделяемым веществам. В ряде случаев руководствуются правилом «подобное растворяется в подобном». Неподвижную фазу наносят на твердый носитель (адсорбент) равномерным слоем. Равномерность слоя зависит от структуры носителя, размера пор и величины удельной поверхности.

С количеством неподвижной жидкой фазы связана толщина пленки этой жидкости. С увеличением толщины пленки уменьшается влияние вредной (остаточной) активности твердого носителя на разделение веществ, появляется возможность увеличения объема пробы, вводимой в хроматограф для анализа. Однако увеличение толщины пленки ведет к понижению числа теоретических тарелок, к слипанию частиц насадки и снижению эффективности колонки.

Наиболее простой способ нанесения жидкой фазы на твердый носитель состоит в том, что определенное количество жидкой фазы растворяют в органическом растворителе. Полученным раствором пропитывают зерна твердого носителя. Растворитель затем испаряют, а носитель сушат на воздухе или в инертной среде. Количество неподвижной фазы обычно составляет 5 – 15 % от массы твёрдого носителя.

### 3.4.5. Хроматографические детекторы

Для газовой хроматографии предложено большое количество детекторов, однако широкое распространение получили только некоторые из них: детектор электронного захвата (ДЭЗ), пламенно-ионизационный детектор (ПИД), термоионный детектор (ТИД), пламенно-фотометрический детектор (ПФД), детектор по теплопроводности (катарометр) и др.

Детекторы можно подразделить на *интегральные*, регистрирующие изменение во времени суммарного количества всех компонентов, и *дифференциальные*, измеряющие мгновенную концентрацию компонентов. Дифференциальные детекторы, в свою очередь, подразделяют на концентрационные и потоковые. В **концентрационном детекторе** сигнал определяется текущей концентрацией в ячейке и многократно регистрируется, зависит от скорости потока. Детектор такого типа – катарометр. **Потоковый детектор** регистрирует сигнал однократно, сигнал определяется мгновенным значением концентрации, не зависит от скорости потока. Пример такого детектора – пламенно-ионизационный детектор.

**Детектор по теплопроводности (катарометр)** применяют для анализа большого количества веществ. Он прост, не дорог, удобен в эксплуатации, достаточно чувствителен и универсален. Принцип действия катарометра основан на изменении электрического сопротивления проводника в зависимости от теплопроводности газов, которая, в свою очередь, определяется их составом. В схему катарометра входят два проволочных сопротивления (филаменты) из тонкой вольфрамовой нити, образующих плечи моста Уитстона. Один из филаментов контактирует с анализируемой смесью, другой (сравнительный) контактирует с чистым газом – носителем, прошедшим через колонку сравнения 5 (рис. 14). Когда нагретые чувствительные элементы в сравнительной и измерительной камерах (рис. 14) обдуваются потоком газа-носителя, их сопротивление приобретает определенное постоянное значение. При прохождении через детектор бинарной смеси, состоящей из газа-носителя и определяемого компонента, теплопроводность которого отличается от теплопроводности чистого газа-носителя, в измерительной ячейке нарушается теплообмен. При изменении условий теплообмена изменяется температура чувствительного элемента и, как следствие, его сопротивление. *Различие сопротивлений чувствительных элементов является функцией мгновенной концентрации компонента в газовом потоке, измеряется с помощью моста и регистрируется самописцем.* Величина сигнала зависит от разности в теплопроводностях газообразного компонента и газа-носителя.

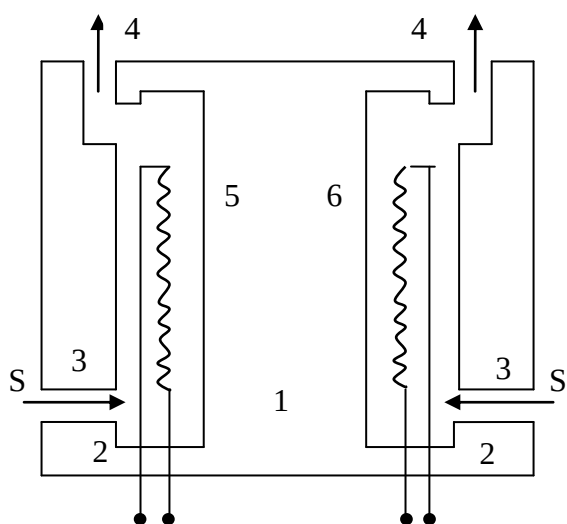


Рис. 14. Схематическое изображение катарометра: 1 – корпус; 2 – чувствительный элемент, соединенный с источником питания; 3 – ввод газа-носителя; 4 – вывод газа-носителя; 5 – сравнительная камера; 6 – измерительная камера

Другим распространенным детектором является **пламенно-ионизационный детектор** (рис. 15). Он обладает большей чувствительностью, и его применяют для анализа большинства органических соединений.

Принцип действия данного детектора основан на измерении тока ионизации, образующегося при сгорании компонентов смеси, выходящих из хроматографической колонки, в пламени водородной горелки. Чисто водородное пламя обладает очень низкой диэлектрической проводимостью. При появлении в водороде примесей органических соединений происходит ионизация пламени, пропорциональная концентрации примеси, что легко может быть измерено. Горение происходит между электродами (одним из которых может служить сопло горелки), на которые подается напряжение 90-300 В. Ток ионизации, пропорциональный количеству вещества, усиливается и подается на регистратор. Высокая чувствительность детекторов этого типа обусловила их широкое применение. Однако высокая чувствительность ПИД проявляется по отношению только к органическим соединениям, а к неорганическим, таким как аммиак, сероводород, оксиды серы, кислород, азот и т. д., чувствительность детектора резко падает. В качестве газа-носителя можно использовать водород, азот, гелий, аргон и т.д.

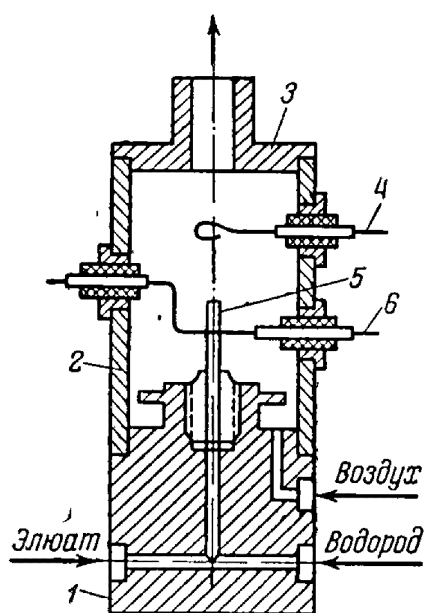


Рис. 15. Пламенно-ионизационный детектор: 1 — корпус; 2 — стакан; 3 — крышка; 4 — коллекторный электрод; 5 — горелка; 6 — полярирующий электрод

Основные требования, предъявляемые к детекторам: достаточная чувствительность для решения конкретной задачи; малая инерционность; малая зависимость показаний от параметров опыта (температуры, давления, скорости потока и др.); линейная связь между показаниями и концентрацией в широком интервале ее изменения; стабильность «нулевой линии»; легкость записи сигнала и передачи его на расстояние; простота, дешевизна.

Наиболее информативным и чувствительным детектором, используемым в газовой хроматографии, является **масс-спектрометрический** детектор. Принцип действия детектора основан на том, что при ионизации молекулы в вакууме образуется группа характеристических ионов. Число образующихся ионов пропорционально количеству поступающего вещества, регистрируется изменение полного ионного тока, который пропорционален числу ионов. Одновременно с записью хроматограммы (зависимости полного ионного тока от времени) в любой ее точке, обычно на вершине хроматографического пика, может быть зарегистрирован масс-спектр (зависимость интенсивности ионного тока от массы иона). Масс-спектрометр, в отличие от других спектроскопических детекторов, регистрирует не излучение или поглощение энергии молекулами или атомами вещества, а сами частицы вещества, измеряет отношение их массы к заряду. Таким образом, масс-спектрометрический детектор можно рассматривать как универсальный детектор, который позволяет определить состав анализируемой смеси и идентифицировать разделяемые компоненты. Хроматографический анализ, реализуемый при детектировании масс-спектрометром, носит название **хромато-масс-спектрометрии**.

#### 3.4.6. Качественный хроматографический анализ

Качественное исследование анализируемых соединений основывается на использовании параметров удерживания – удерживаемого объема и времени удерживания.

Существуют абсолютные и относительные параметры удерживания. *Абсолютные* параметры удерживания определяются от момента ввода пробы до появления на хроматограмме максимума пика. Их величина зависит от условий проведения анализа: природы и количества неподвижной фазы (жидкой); диаметра, длины и температуры колонки; природы, скорости и перепада давления газа-носителя и «мертвого» объема системы.

*Относительные* параметры удерживания – отношение абсолютных параметров удерживания анализируемого компонента и вещества стандарта, вводимого в анализируемую смесь. Эти параметры менее зависят от условий проведения анализа.

Идентификация может проводиться различными методами.

1. Сравнивают абсолютные параметры удерживания компонентов исследуемой смеси и параметры удерживания эталонных веществ, определенные в одинаковых условиях хроматографирования. Совпадение параметров свидетельствует о наличии данного компонента в смеси.

2. При отсутствии эталонных веществ используют табличные данные об относительных параметрах удерживания, при этом определение параметров проводят относительно того же стандарта, что и в таблице.

3. Используют графические или аналитические зависимости между характеристиками удерживания и другими физико-химическими свойствами веществ, такими как число углеродных атомов в молекуле, температура кипения, давление насыщенного пара и т.д. Соответствующие графики широко используются для идентификации и приводятся в различных публикациях.

4. Для качественного определения вещества на выходе из колонки используют методы качественного химического анализа или проводят специальные химические реакции в сочетании с хроматографическим процессом - **реакционная газовая хроматография**.

5. Проводят измерение каких-либо индивидуальных физических или физико-химических характеристик компонента на выходе из колонки с

использованием ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии (хромато-масс-спектрометрии), или специфических детекторов (электронного захвата, термоионный, пламенно-эмиссионный, кулонометрический).

Первые два из указанных методов идентификации по параметрам удерживания являются наиболее простыми и чаще используются.

### 3.4.7. Количественный хроматографический анализ

Для всех способов количественного хроматографического анализа необходимо рассчитывать площади пиков. Эти расчеты основаны на использовании геометрических приемов вычисления площади треугольника (триангуляция).

Известно несколько приемов триангуляции:

- 1) умножение полувысоты пика  $1/2 h$  на его ширину при основании  $\mu$ ;
- 2) умножение высоты пика  $h$  на его полуширину  $\mu_{0,5}$ ;
- 3) умножение полувысоты треугольника, образованного основанием и касательными к ветвям пика,  $h'$  (расстояние 8', 7 см. рис. 11) на основание  $\mu$  и т.п. При этом  $1/2 h \cdot \mu = 0,80 S_{\text{ист}}$ ;  $h \cdot \mu_{0,5} = 0,90 S_{\text{ист}}$ ;

$$1/2 h' \cdot \mu = 0,97 S_{\text{ист}}; \quad h \cdot \mu_{0,368} = S_{\text{ист}},$$

где  $S_{\text{ист}}$  – истинное значение площади пика, найденное с использованием интегратора.

На практике  $S_{\text{ист}}$  предпочитают определять по формулам  $S_{\text{ист}} = h \cdot \mu_{0,5}$  (рис. 16в) или  $S_{\text{ист}} = h \cdot \mu_{0,368}$ , т. е. умножением высоты пика  $h$  на его ширину на расстоянии  $h/e$  ( $e$  – основание натуральных логарифмов), так как эти приемы не требуют дополнительных геометрических построений, а значит экономят время анализа.

При определении площадей взаимоналагающихся неразделенных пиков, для исключения искажения полуширины интересующего пика, измеряют лишь его половину, обращенную в противоположную от соседнего пика сторону (рис.16а), затем ее удваивают и умножают на высоту:

$$S_I = 2BD \cdot CF; \quad S_{II} = 2KL \cdot GM.$$

Площадь пиков над плавающей нулевой линией определяется умножением высоты (опущенной из вершины перпендикулярно линии, параллельной краю диаграммной ленты) на удвоенную проекцию его полуширины на эту линию, как показано на рис. 16б, г :

$$S = 2B'F' \cdot CF'; \quad S = 2F'D' \cdot CF'.$$

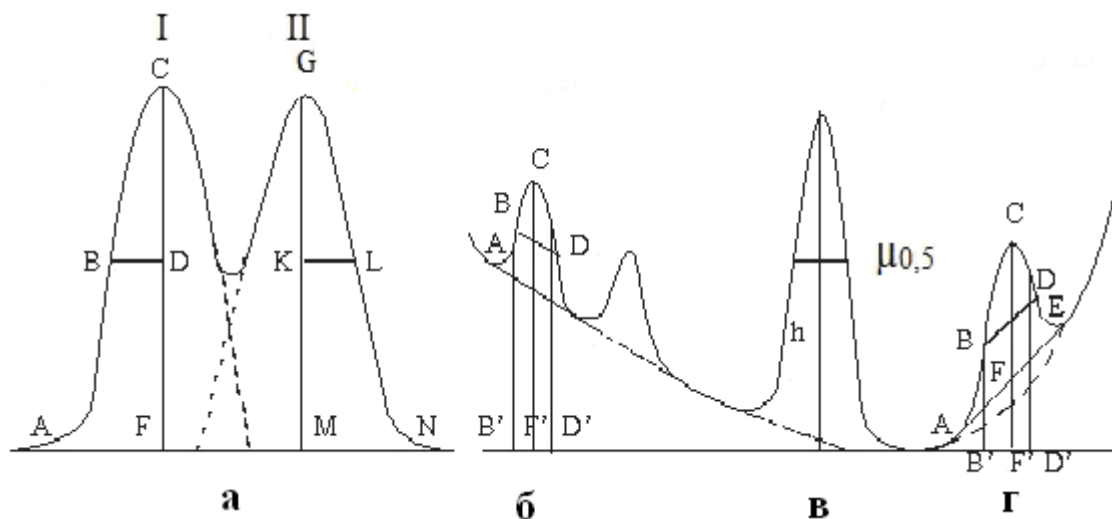


Рис. 16. Графическое определение площади пиков

В аналитической практике получили наибольшее распространение три способа количественной оценки хроматограмм:

- 1) метод абсолютной калибровки;
- 2) метод нормализации;
- 3) метод внутреннего стандарта.

По методу *абсолютной калибровки* количество компонента в пробе определяют по калибровочному графику – зависимости площади пика ( $S_i$ ) или высоты пика ( $h_i$ ) от дозируемого количества вещества ( $C_i$ ).

В случаях, когда зависимость  $h_i(S_i) = f(c_i)$  линейна, можно вычислить угловой коэффициент  $k_i$  (калибровочный множитель) и определить содержание в пробе  $i$ -го компонента по формуле

$$C_i = \frac{k_i \cdot h_i}{g} \cdot 100 = \frac{k_i \cdot S_i}{g} \cdot 100 ,$$

где **g** – величина пробы, см<sup>3</sup> (для газов), мкл или мкг (для жидкости).

В этом случае при выполнении анализа к эксперименту предъявляются следующие требования:

1) точность и воспроизводимость дозирования пробы чистого и анализируемого вещества;

2) строгое соблюдение режима работы колонки при калибровке и измерениях.

Метод абсолютной калибровки применяется в том случае, когда определяют не все компоненты смеси, а лишь один или два её составляющих.

Метод *нормализации* основан на том, что сумма площадей всех пиков на хроматограмме с учетом соответствующих поправочных коэффициентов принимается за 100 %, а площадь каждого пика составляет определенную часть от суммы площадей всех пиков. Предварительно площади всех пиков приводятся к единой шкале чувствительности детектирования.

При расчетах пользуются следующей формулой:

$$C_i = \frac{f_i \cdot h_i}{\sum f_i \cdot h_i} \cdot 100 = \frac{f_i \cdot S_i}{\sum f_i \cdot S_i} \cdot 100 ,$$

где **f<sub>i</sub>** – нормировочный множитель.

При работе с детектором по теплопроводности и использовании в качестве газа-носителя **He** и **H<sub>2</sub>** **f<sub>i</sub>** не учитывается, если определяемая смесь содержит **C<sub>10</sub>** и более атомов углерода.

Метод нормализации не требует точного знания количества вводимой пробы, но необходимо знать природу всех компонентов смеси (иначе не определить **f<sub>i</sub>**) и быть уверенным, что все они проявляются на хроматограмме.

Метод *внутреннего стандарта* (эталона) предусматривает прибавление к известному количеству анализируемого вещества известного количества не содержащегося в нем эталонного соединения (внутреннего стандарта) и последующее хроматографирование приготовленной смеси.

Концентрацию компонентов в анализируемой смеси  $C_i$  (% , масс. или об.) находят по формуле

$$C_i = \frac{f_i \cdot h_i \cdot g_{cm}}{h_{cm} \cdot g_{cm}} \cdot 100 = \frac{f_i \cdot S_i \cdot g_{cm}}{S_{cm} \cdot g_{cm}} \cdot 100 ,$$

где  $g_{cm}$ ,  $g_{cm}$  – количества стандартного вещества и анализируемой смеси (г, моль, см<sup>3</sup>), отобранные и смешанные для анализа.

### 3.5. ИОНООБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Решение проблемы анализа многокомпонентных систем, возникающей при варке и переработке целлюлозы, а также при очистке сточных вод, невозможно без применения хроматографических методов, в частности, ионного обмена. В практике количественного анализа метод ионообменной хроматографии применяется только при анализе растворов, но он не имеет самостоятельного значения для определения количеств вещества, а применяется в основном как метод разделения многокомпонентных смесей, а также для концентрирования микропримесей из растворов. Количественную оценку содержания вещества проводят после хроматографического разделения подходящими химическими или физико-химическими методами.

Явление ионного обмена было известно уже достаточно давно, но ионообменная хроматография (ИОХ) стала актуализироваться только в начале 1940-х гг. Однако широкое распространение для решения широкого круга аналитических задач ИОХ получила после создания ионной хроматографии в 1975 г.

#### 3.5.1. Классификация, состав и свойства ионитов

Ионообменная хроматография — это один из видов хроматографического метода, в основе которого лежит обратимый процесс обмена между ионами анализируемого вещества и ионогенными группами сорбентов, называемых ионитами (рис. 17).

Иониты — это твердые минеральные или органические вещества как естественного, так и синтетического происхождения, практически не растворимые в воде и органических растворителях, но способные к набуханию в них. К природным неорганическим ионообменникам можно отнести цеолиты (кристаллические силикаты) и монтмориллониты, к органическим — целлюлозу и гуминовые кислоты. Еще в древние времена было известно о способности почвы опреснять морскую воду и о засолении почвы при фильтровании воды из каналов. Процесс удобрения почвы минеральными удобрениями также связан с процессом ионного обмена. В результате специальной обработки цеолиты приобретают пористую структуру, на поверхности пор располагаются ионы щелочных и щелочноземельных металлов, способных выступать в качестве ионообменных. Гуминовые кислоты, являясь высокомолекулярными соединениями амфолитной природы, способны обменивать в зависимости от pH среды как анионы, так и катионы.

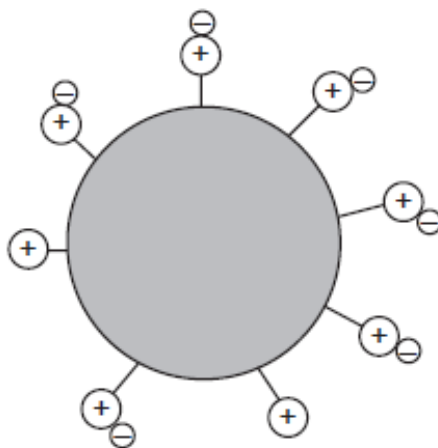


Рис. 17. Схематическое изображение процесса закрепления вещества на ионите

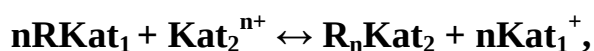
Особое распространение получили синтетические ионообменные смолы. Открытая Г. Штаудингером полимеризация стирола и дивинилбензола (получение «сшитого» полистирола) и прививка к такому полимеру сульфогрупп позволили создать массовые синтетические органические ионообменники типа КУ-2, Дауэкс-50 и пр. Кроме органических, также получены и широко используются синтетические

неорганические полимерные вещества, обладающие ионообменными свойствами. К таковым относятся гидратированные окислы (силикагель, окись алюминия, окись железа, двуокись циркония и пр.), соли поливалентных металлов с многоосновными кислотами (фосфат циркония, фосфат титана, арсенат циркония и пр.), соли гетерополиокислот.

Ионообменная группа состоит из фиксированного иона и противоиона (обменного иона). Фиксированный ион прочно связан с матрицей макрорадикала и придает ей соответствующие свойства и заряд, который компенсируется обменными ионами. Если в качестве фиксированного иона в составе ионита находится анион, то суммарный отрицательный заряд макрорадикала компенсируется способными к обмену катионами. Такой ионит обладает катионообменной функцией и называется катионитом. При фиксации катиона макрорадикал ионита несет положительный заряд, который компенсируется свободными к обмену анионами. Такой ионит называется анионитом и способен обмениваться анионами в растворе электролита. Существуют также иониты, обладающие амфотерными свойствами, — амфолиты, которые при различных значениях pH могут осуществлять обмен катионов и анионов.

*Катиониты* содержат обычно следующие функциональные химически активные группы, обменным ионом в которых является водород или натрий, способный замещаться другими катионами из воды: сульфогруппу —  $\text{SO}_3\text{H}$ , карбоксильную группу —  $\text{COOH}$  и фенольную группу —  $\text{OH}$ .

Катиониты, содержащие сульфогруппу, являются сильнокислотными и способны к обмену катионов как в кислой, так и в щелочной средах. Катиониты, содержащие карбоксильные и фенольные группы, являются слабокислотными и способны к обмену катионов только в щелочной среде. Схематично реакцию катионного обмена изображают:



где R — высокомолекулярная матрица ионита с прикрепленной неподвижной частью функциональной группы;

Kat<sub>1</sub>, Kat<sub>2</sub> – катион, составляющий подвижную часть функциональной группы ионита, и катион, удаляемый из раствора, соответственно.

*Аниониты* содержат в качестве функциональных групп различные аминогруппы ( $[-N(CH_3)_3]^+OH^-$ ,  $[-NH(CH_3)_2]^+OH^-$ ,  $[-NH_2CH_3]^+OH^-$ ,  $[-NH_3]^+OH^-$ ) или радикалы других органических оснований. В зависимости от химического состава, аниониты делятся на слабоосновные (содержат первичные, вторичные, третичные аминогруппы), способные к обмену анионами только в кислой среде, и сильноосновные (содержат четвертичные аммониевые основания), способные к обмену анионами, как в кислой, так и в щелочной средах.

Ионный обмен на ионитах обладает следующими особенностями:

- Эквивалентностью, т.е. ионный обмен происходит исключительно в эквивалентных количествах, что позволяет определить необходимое количество ионита по данным его сорбционной ёмкости.
- Обратимостью, что позволяет провести процесс регенерации отработанного ионита путём изменения направления реакции за счет повышения в регенерирующем растворе концентрации ионов, первоначально входивших в состав ионита, т.е. изменения природы обменного иона в составе смолы. Состояние равновесия, например, по реакции ионного обмена  $RA' + B \leftrightarrow RB' + A$  характеризуется термодинамической константой равновесия (константой обмена)  $K_o$ .

Ионообменное равновесие достигается в результате одновременного действия сил различной природы (электростатические силы, ван-дер-ваальсовское взаимодействие). Состояние равновесия обмена двух ионов на практике обычно характеризуют условной константой, зависящей от условий опыта

$$K_y = \frac{[B'] [A]}{[A'] [B]}.$$

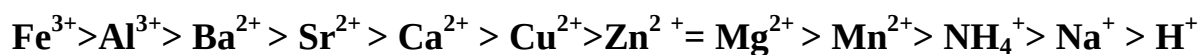
Символы [A] и [B] означают нормальную, молярную или моляльную концентрации ионов в растворе. Символ «'» относится к концентрации этих ионов в фазе ионита, выражаемой в молях или эквивалентах на литр или на килограмм ионита. Условную константу обмена называют *коэффициентом селективности*. При обмене ионов, различающихся по величине заряда, коэффициент селективности определяется по уравнению

$$K_y = \frac{[B']^{Z_a}[A]^{Z_b}}{[A']^{Z_b}[B]^{Z_a}}$$

где  $Z_a$  и  $Z_b$  – заряды ионов A и B, соответственно.

- Селективностью (избирательностью), т.е. различным сродством ионита к поглощаемым ионам, обуславливаемое многочисленными факторами (различные заряды ионов и величины ионных радиусов, степень гидратации или закомплексованности ионов, степень диссоциации электролита и его ионная сила, структура ионита и его химические особенности – природа матрицы, удельная поверхность и пористость, степень сшитости или набухаемости ионообменной смолы, природа функциональной группы, внешние условия эксперимента и др.).

Сорбируемость ионов возрастает от одновалентных к двух- и трехвалентным. Приблизительную закономерность сорбируемости ионов сильноокислотными катионитами можно представить в виде «сорбционных рядов», в которых сродство к катионам уменьшается в следующей последовательности:



Для сильноосновных анионитов такой ряд можно представить в виде:



Характеристикой ионообменной способности ионита является его величина рабочей обменной ёмкости, которая характеризуется количеством ионов, поглощённых ионитом при пропускании раствора солей или кислот определённой концентрации через лабораторный или промышленный

фильтр, загруженный испытуемым ионитом, до начала «проскока» в фильтрат поглощаемых ионов. РОЕ ионита выражается в грамм-эквивалентах ионов, поглощённых 1 м<sup>3</sup> набухшего ионита (в случае процесса, где ионный обмен идёт в динамических условиях, РОЕ называется ДОЕ (динамическая обменная ёмкость)). Статическая обменная ёмкость СОЕ определяется по изменению концентрации сорбирующихся ионов в определённом объёме раствора при равновесии в данных рабочих условиях:

$$COE = \frac{(C_{исх} - C_{конт}) \cdot V_{р-ра}}{V_{ионита}}.$$

Полная обменная емкость (ПОЕ) определяется числом функциональных групп, способных к ионному обмену, в единице массы воздушно-сухого или набухшего ионита и выражается в мг-экв/г. Полная обменная ёмкость ионита характеризуется количеством ионов, которое может быть поглощено ионитом при полной замене всех ионов. Выражается, как и РОЕ, в грамм-эквивалентах ионов, поглощённых 1 м<sup>3</sup> набухшего ионита.

Обменная ёмкость ионита зависит от числа активных функциональных групп, имеющих на поверхности ионита, его удельной поверхности, величины константы ионного обмена, скорости прохождения подвижной фазы, концентрации и характера обмениваемых ионов, размера зёрен, pH и температуры.

Иониты, относящиеся к ВМС, обладают следующими специфическими свойствами: набухаемостью, нерастворимостью в воде, механической прочностью, химической и термической стойкостью, способностью к реакциям ионного обмена.

Ионогенные группы гидрофильны. Когда ионит приводится в контакт с водой, эти группы стремятся раствориться, но поскольку ионогенные группы прочно связаны с полимером, они стремятся перевести в раствор весь полимер. Однако этого не происходит, так как ионит имеет пространственную трехмерную структуру, которая подавляет его тенденцию

к растворению. Ионит в большей или меньшей степени набухает, но остается нерастворимым в воде и других растворителях. Набухаемость определяется коэффициентом набухания, т.е. отношением объёмов ионита в набухом и воздушно-сухом состоянии.

При разделении смеси катионов методом ионообменной хроматографии в верхнюю часть хроматографической колонки, наполненной, например, катионитом в Н-форме, вводится смесь разделяемых катионов. Поскольку их сорбируемость различна, то происходит их разделение – на слое катионита образуется хроматограмма, представляющая собой отдельные зоны разделяемых катионов. Для получения компонентов в чистом виде производят элюирование (вытеснение или вымывание) отдельных зон раствором кислоты при постепенно возрастающей ее концентрации (градиентное элюирование). Таким образом получают ряд элюатов, содержащих отдельные катионы, в которых их определяют качественно, а если нужно, – и количественно.

Ионообменная хроматография успешно используется для удаления ионов, мешающих некоторым определениям. Например, гравиметрическому определению  $\text{SO}_4^{2-}$  в виде  $\text{BaSO}_4$  мешают  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  вследствие их значительного осаждения. Если раствор предварительно пропустить через сильнокислотный катионит, то указанные катионы останутся в колонке, а свободная  $\text{H}_2\text{SO}_4$  перейдет в раствор, в котором концентрацию  $\text{SO}_4^{2-}$  можно определить с большой точностью.

Аналогичным образом поступают при гравиметрическом определении  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  в виде гидроксидов. Мешающие их определению  $\text{PO}_4^{3-}$ -ионы удаляют методом ионного обмена.

### **3.5.2. Практические методы ионообменной хроматографии**

Для проведения процесса разделения ионов используют колонки в виде узких длинных стеклянных трубок, которые снабжены в верхней части

резервуаром для раствора, а в нижней – поддерживающей ионит пористой перегородкой.

Наличие пузырьков воздуха в колонке со смолой нарушает однородность потока жидкости и снижает эффективность использования смолы. Заполнение колонки проводят влажным ионитом в виде суспензии с водой, которую заливают в колонку по стенке. Воздух, прошедший в колонку с ионитом, можно удалить противоточным промыванием колонки водой.

Перед анализом ионит должен быть предварительно подготовлен. Подготовка включает несколько этапов:

- навеску воздушно-сухого ионита с размером зерен 0,20-0,25 мм помещают в стакан и заливают на 24 ч насыщенным раствором, после чего набухший ионит отмывают водой от избытка электролита и примерно  $10 \text{ см}^3$  переносят в ионообменную колонку;

- для удаления органических примесей в колонку приливают 10%-й раствор NaOH, оставляя его в контакте 30-40 мин до исчезновения окраски в последней порции фильтрата (примеси  $\text{Fe}^{3+}$  удаляют из ионита промыванием HCl до отрицательной реакции с  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , после чего отмывают водой до нейтральной среды);

- для перевода катионита в H-форму его обрабатывают 2 М раствором HCl и промывают водой;

- для перевода анионита в OH-форму обрабатывают 4%-м раствором NaOH и промывают водой;

- для получения ионита в  $\text{Cl}^-$  форме его также обрабатывают 2 М раствором HCl, а отмывку от избытка кислоты проводят водой или водным раствором этилового спирта.

Для проведения процесса разделения на ионите раствор пропускают через колонку со скоростью  $1-10 \text{ см}^3/(\text{см}^2 \cdot \text{мин})$  (1-2 капли в секунду). Постоянную скорость пропускания раствора регулируют с помощью зажимного винта или микронасоса.

Ионнообменный процесс проводят обычно при постоянной температуре с постоянной скоростью пропускания, без взмучивания верхнего слоя. Фракции растворов после сорбции отбираются для анализа с постоянной частотой.

### **3.6. ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ**

Современная высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) — жидкостная хроматография высокого давления, скоростная жидкостная хроматография — начала развиваться в начале 70-х гг. прошлого века. С ее помощью могут быть реализованы почти все механизмы разделения, применяемые в хроматографии (адсорбция, распределение, ионный обмен). Независимо от механизма разделения, подвижная фаза в ВЭЖХ — жидкость. Благодаря этому возможно разделение различных смесей молекул (включая смеси всех типов изомеров); макромолекул синтетических и биополимеров (включая вирусы и молекулы с массами до нескольких миллионов а.е.м.); ионы и устойчивые радикалы. Велика роль ВЭЖХ и в таких жизненно важных областях науки и производства, как биология, биотехнология, пищевая промышленность, медицина, фармацевтика, судебно-медицинская экспертиза, контроль загрязнения окружающей среды и др. ВЭЖХ сыграла одну из основных ролей в расшифровке генома человека, в последние годы успешно решает задачи протеомики.

Разработка этого метода обусловлена, во-первых, необходимостью анализа высококипящих (при  $\sim 400$  °C) или неустойчивых соединений, которые не разделяются методом газовой хроматографии; во-вторых, необходимостью увеличить скорость разделения и повысить эффективность метода колоночной жидкостной хроматографии. Для этого применяют колонки из нержавеющей стали с малым внутренним диаметром (2–6 мм) и длиной (30–300 мм) и мелкозернистые поверхностно-пористые адсорбенты (ППА), обеспечивающие не только высокую селективность, эффективность

(до 300000 теоретических тарелок на метр длины колонки), но и достаточную скорость процесса хроматографирования. Доля применения различных сорбентов в ВЭЖХ такова: силикагели — 70 %, пористые полимеры (сополимер стирола и дивинилбензола, полиметакрилаты, целлюлозы и др.) — 20 %, пористые углеродные сорбенты, оксид титана, оксид циркония — 4 %, оксид алюминия — 1 %.

В зависимости от природы подвижной и неподвижной фаз различают нормально-фазовую (НФХ) и обращенно-фазовую (ОФХ) хроматографию. В *нормально-фазовой ВЭЖХ* неподвижная фаза – полярная (чаще всего силикагель), а подвижная фаза – неполярная (гексан либо смеси гексана с более полярными органическими растворителями – хлороформом, спиртами и т.д.). Удерживание веществ растет с увеличением их полярности. Разделения компонентов достигают, меняя элюирующую силу подвижной фазы, которая зависит от энергии взаимодействия компонентов подвижной фазы с поверхностью неподвижной. В нормально-фазовой хроматографии элюирующая способность подвижной фазы увеличивается с ростом ее полярности.

В *обращенно-фазовой хроматографии* неподвижная фаза – неполярная (гидрофобные силикагели с привитыми группами  $C_8$ ,  $C_{18}$ ); подвижная фаза – полярная (смеси воды и полярных растворителей: ацетонитрила, метанола, тетрагидрофурана и др.). Удерживание веществ растет с увеличением их гидрофобности (неполярности). Наименьшей элюирующей способностью обладает вода, а для повышения элюирующей способности в подвижную фазу вводят ацетонитрил, метанол и другие растворители. Чем больше содержание органического растворителя, тем выше элюирующая способность подвижной фазы.

Обращенно-фазовый вариант ВЭЖХ (ОФ ВЭЖХ) имеет ряд преимуществ перед другими вариантами жидкостной хроматографии:

– это очень гибкий метод, так как, изменяя состав водно-органических смесей, используемых в качестве подвижной фазы, можно на одной колонке обеспечить разделение соединений различной природы;

– селективность данного метода почти всегда значительно выше, чем других вариантов хроматографии для всех соединений, кроме сильнополярных;

– при использовании гидрофобизированных силикагелей быстро устанавливается равновесие между подвижной и неподвижной фазами, эти сорбенты отличаются высокой эффективностью разделения;

– можно осуществлять разделение соединений, растворимых как в воде, так и в органических растворителях;

– возможность использования в подвижной фазе буферных растворов может улучшить селективность и эффективность разделения ионогенных соединений.

Применение мелкозернистых адсорбентов создает дополнительные трудности в связи с тем, что возникает значительное сопротивление потоку, требующее повышения перепадов давления, что, в свою очередь, приводит к необходимости увеличить давление на входе колонки до 0,5–40 МПа.

Современные жидкостные хроматографы изготавливают с учетом этих требований. Они обеспечивают достаточно высокую скорость анализа, низкий предел обнаружения вещества ( $10^{-9}$ – $10^{-10}$  г), высокую эффективность колонки, возможность разделять любые вещества (кроме газов).

Схема прибора представлена на рис. 18. Прибор работает следующим образом. Насос высокого давления создает регулируемый поток элюента через колонку, помещенную в термостат. Через кран-дозатор шприцем в поток элюента вводится анализируемая проба, которая потоком растворителя переносится в колонки и разделяется на компоненты. Перед основной колонкой обычно помещают защитную предколонку, которая адсорбирует несмывающиеся компоненты и защищает аналитическую колонку. Сорбент в

предколонке идентичен сорбенту в основной колонке, однако длина предколонки существенно меньше.



Рис. 18. Схема проведения высокоэффективной жидкостной хроматографии

Поток после выхода из колонки поступает в детектор, где регистрируется или оптическая плотность, или показатель преломления каждого компонента смеси.

Хроматографические пики записываются электронным автоматическим устройством.

Детекторы, применяемые в жидкостной хроматографии, предназначены для непрерывного определения концентрации растворенного вещества в подвижной фазе на выходе из колонки. Они бывают нескольких типов:

1) детекторы, измеряющие на выходе из колонки изменение каких-либо физических свойств растворителя, обусловленное присутствием в нем постороннего вещества, – рефрактометрический детектор, детектор по электрической проводимости и диэлектрической проницаемости и др.;

2) детекторы, чувствительные к таким физическим свойствам растворенного вещества, которыми не обладает подвижная фаза, –

спектрофотометрический (УФ-, ИК- или флуоресцентный), полярографический, масс-спектрометрический детектор и др.;

3) детекторы транспортного типа, например, ионизационный, при работе с которыми необходимо удалять растворитель.

Включение хроматографа и вывод его на рабочий режим осуществляют по инструкции для конкретной марки прибора.

### 3.7. ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФИЯ

Гель-хроматография (или гель - проникающая, ситовая, гель - фильтрационная и т. д.) — это один из вариантов жидкостной распределительной хроматографии, в котором растворенное вещество распределяется между свободным растворителем, окружающим гранулы геля, и растворителем, находящимся внутри гранул, представляющих собой органические полимеры с трехмерной сетчатой структурой, придающей им свойства гелей (рис.19). К материалам для проникающей хроматографии относятся декстрины с поперечными сшивками (торговое название сефадекс), агарозные гели (сефароза, биогель А), полиакриламидный гель, полиакрилоилморфин (энзокрилгель), полистиролы, поливинилацетатные гели, пористый силикагель. Применяют также пористые стеклянные шарики, известные под названием биоглас, и пористый кварц – порастил.

Чаще всего используют декстрановые гели – *сефадексы*. Их получают из декстрана  $(C_6H_{10}O_5)_m$ , образующегося из сахарозы под действием бактерий и представляющего собой растворимый полисахарид с высокой молекулярной массой (до десяти миллионов а.е.м.). При кислотном гидролизе декстрана возникают фракции с разной молекулярной массой. В результате реакций декстрана с эпихлоргидрином образуется не растворимый в воде гель – сефадекс. Его преимуществами являются инертность, нерастворимость в воде, устойчивость к действию кислот и щелочей при pH 2-10, способность к значительному набуханию.



Рис. 19. Схематическое изображение процесса закрепления вещества в порах сорбента при гелепроникающей хроматографии

В отличие от распределительной, в геле-хроматографии подвижной и неподвижной фазами является одна и та же жидкость – растворитель. При этом та часть жидкости, которая протекает вдоль слоя твердого носителя – зерен геля, выполняет функцию подвижной фазы и переносит компоненты разделяемой смеси вдоль колонки. Другая часть той же жидкости проникает в поры зерен геля и выполняет функцию неподвижной фазы.

Способность молекул анализируемого соединения проникать в растворитель, поглощенный частицами набухшего геля, зависит от степени пористости частиц геля и от размера молекул соединения. Распределение вещества на колонке, заполненной набухшим гелем, зависит от общего объема растворителя внутри и снаружи частиц геля. Для данного вида геля распределение анализируемого вещества в растворителе внутри и снаружи частиц геля определяется коэффициентом распределения  $K_d$ , который зависит от размера молекул вещества. Если молекулы крупные, в растворителе внутри частиц геля их не будет совсем; величина  $K_d$  в этом случае равна 0. Если молекулы вещества достаточно малы и могут беспрепятственно проникать внутрь частиц геля,  $K_d$  будет равен 1. Поскольку размеры пор варьируют, молекулы среднего размера будут проникать в растворитель, находящийся в порах, лишь частично; следовательно, величина  $K_d$  в этом случае будет лежать между 0 и 1. Это позволяет разделять на данном геле вещества, молекулярные массы которых различаются лишь весьма незначительно.

При прохождении через колонку с гелем компоненты смеси разделяются на фракции в соответствии с их молекулярными массами. Первыми вымываются (элюируются) наиболее крупные молекулы, размеры которых превышают размеры пор геля.

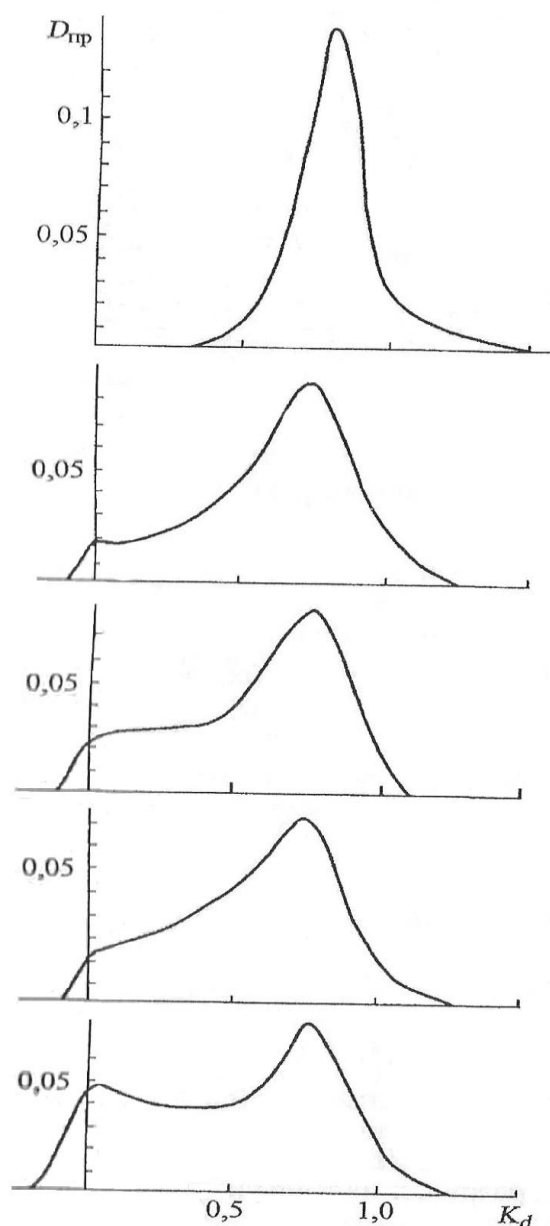


Рис. 20 Гель-хроматограммы лигносульфонатов, отобранных на последовательных стадиях делигнификации

массового распределения побочного продукта сульфитной варки — лигносульфонатов.

Хроматографические данные, полученные для щелоков лабораторных варок, свидетельствуют о том, что лигносульфонаты, диффундирующие из клеточной стенки в раствор на последовательных стадиях делигнификации, имеют различное молекулярно-массовое распределение (рис. 20). С

Они не в состоянии проникнуть в поры гранул геля и остаются только в окружающем их слое растворителя (внешнем объеме). При промывании колонки растворителем эти молекулы начинают двигаться в первую очередь. Более мелкие молекулы, проникая в поры геля, задерживаются в растворителе, содержащемся в этих порах, и движутся вдоль слоя геля медленнее, чем крупные молекулы. Таким образом, гель-хроматография позволяет разделить смесь веществ в зависимости от размеров и молекулярной массы частиц этих веществ. Этот метод разделения достаточно прост и быстр.

Метод гель-хроматографии выполняется в двух вариантах — колоночном и тонкослойном.

Основное направление гель-хроматографии — разделение смесей ВМС и определение молекулярных масс белков, полимеров, углеводов и других веществ, а также в равной степени гель-хроматография применяется для разделения смеси веществ средней молекулярной массы и даже низкомолекулярных соединений.

В целлюлозно-бумажном производстве гелипроникающая хроматография нашла широкое применение при анализе молекулярно-

увеличением длительности варки наблюдается рост доли «высокомолекулярного» пика.

### 3.8. КАПИЛЛЯРНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ

Близкий к хроматографическим, хотя и не совсем хроматографический метод капиллярного электрофореза (КЭ) сформировался в конце 1970-х-начале 1980-х гг. К началу 1990-х гг. метод стал очень популярным, на него возлагали большие надежды, оправдавшиеся не полностью. Уже к концу прошлого столетия бум стал ослабевать, хотя метод широко используется в различных направлениях химического анализа. В настоящее время многие фирмы, в том числе и в Санкт-Петербурге, разрабатывают и выпускают приборы для капиллярного электрофореза.

Движение заряженных коллоидных частиц под действием внешнего электрического поля носит название электрофорез. Электрофорез как метод разделения предложен в 30-х гг XX в. Тизелиусом. Он поместил смесь белков сыворотки крови в буферный раствор и при наложении электрического поля обнаружил, что компоненты пробы мигрируют в направлении и со скоростью, определяемыми их размером, формой и электрическим зарядом. В 1948 г. работа была удостоена Нобелевской премии по химии.

В основе капиллярного электрофореза лежат электрокинетические явления — *электромиграция ионов* и других заряженных частиц и *электроосмос*. Эти явления возникают в растворах при помещении их в электрическое поле высокого напряжения. Микрообъем анализируемого раствора (~2 нл) вводят в кварцевый капилляр, предварительно заполненный подходящим буфером - электролитом. После подачи высокого напряжения (до 30 кВ) к концам капилляра компоненты смеси начинают двигаться с разной скоростью, зависящей, в первую очередь, от заряда и массы (точнее, величины ионного радиуса), и, соответственно, в разное время достигают зоны детектирования. Полученная последовательность пиков называется электрофореграммой (рис. 21). Качественной характеристикой вещества

является время миграции, а количественной — высота или площадь пика, пропорциональная концентрации вещества. Перед проведением анализа необходимо проводить калибровку прибора.

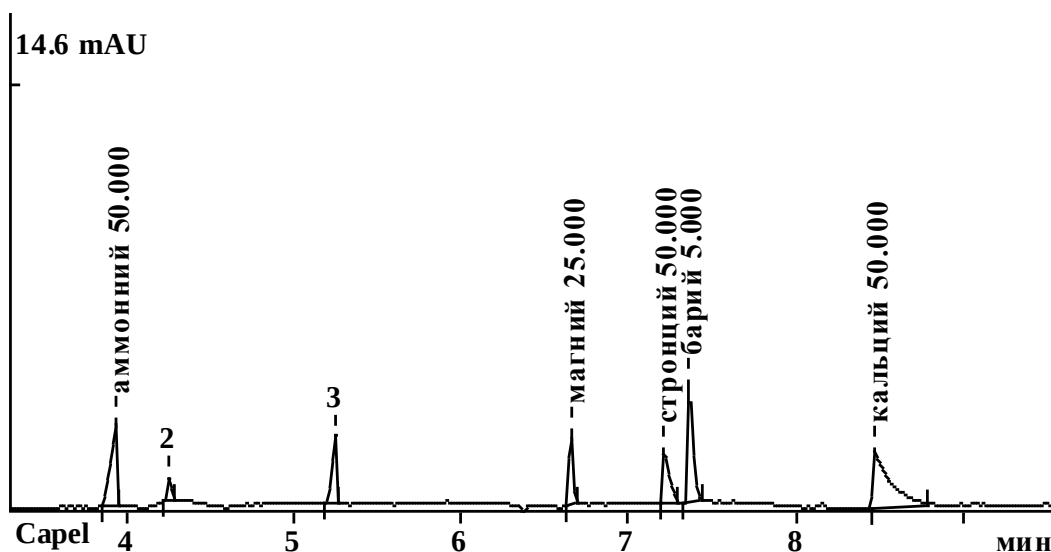
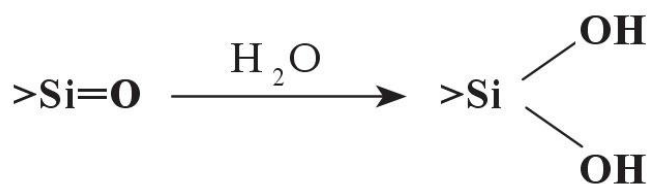


Рис. 21. Электрофореграмма пробы, содержащей катионы. Идентифицированные пики подписаны

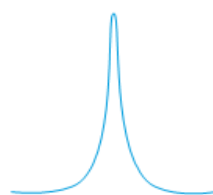
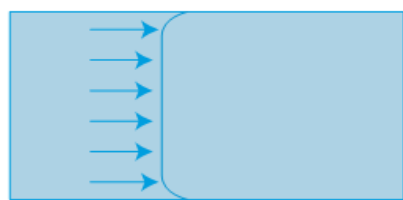
Для того чтобы получить более подробное представление о методе, необходимо рассмотреть ряд процессов, происходящих в капилляре, заполненном электролитом и помещенном в продольное электрическое поле. Находящиеся на поверхности плавленого кварца силоксановые группы при контакте с водой или водными растворами гидролизуются с образованием удвоенного количества силанольных групп, которые затем гидратируются:



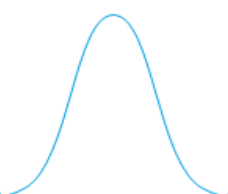
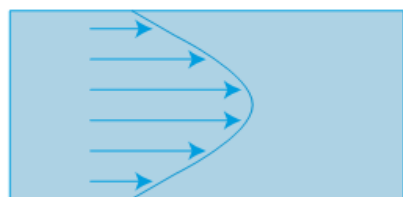
Диссоциация силанольных групп вызывает на границе раздела кварц–водный раствор электролита образование *двойного электрического слоя (ДЭС)*. Первую его обкладку составляют неподвижные отрицательно заряженные силанольные группы. Вторую обкладку двойного слоя составляют положительно заряженные катионы, существующие в растворе. Диэлектриком, разделяющим обкладки этого конденсатора, являются молекулы воды, гидратирующие как силанольные группы, так и катионы.

Положительная часть ДЭС, в свою очередь, делится на две части: первую (или неподвижную), непосредственно примыкающую к поверхности кварца, и вторую (или диффузную), располагающуюся на некотором удалении от поверхности. В неподвижной части количество положительных зарядов меньше, чем отрицательных зарядов на поверхности кварца из-за увеличения размеров катионов вследствие гидратации. В результате в диффузной части ДЭС образуется некоторая избыточная концентрация катионов. Между этими двумя слоями проходит *граница скольжения* — при наложении вдоль капилляра электрического поля неподвижная часть остается на месте, в то время как диффузная часть начинает мигрировать к катоду, увлекая за собой в силу межмолекулярного сцепления всю массу жидкости в капилляре. Возникает *электроосмотический поток (ЭОП)*, который осуществляет пассивный перенос раствора внутри капилляра. Скорость ЭОП в сильной степени зависит от pH раствора: в сильноокислых растворах ЭОП отсутствует, в слабокислых — его скорость незначительна, а при переходе в нейтральную и щелочную область pH скорость ЭОП возрастает до максимально возможной. С другой стороны, эта величина зависит от концентрации электролита в ведущем буфере: чем она больше, тем выше становится доля катионов в неподвижной части ДЭС, а толщина

Электроосмотический поток



Ламинарный поток



диффузной части уменьшается и, соответственно, уменьшается скорость электроосмотического потока.

Уникальное свойство ЭОП заключается в плоском профиле потока (в отличие от параболического в ВЭЖХ), который при движении зон компонентов внутри капилляра

Рис. 22. Влияния профиля потока на ширину зоны вещества

практически не вызывает их уширения (рис. 22). Благодаря этому метод КЭ характеризуется высочайшей эффективностью (~ сотни тысяч теоретических тарелок).

В приборах для капиллярного электрофореза капилляр, заполненный раствором электролита, своими концами опущен в два содержащих тот же электролит сосуда, в которые введены электроды. Электролит должен обладать буферными свойствами, чтобы, с одной стороны, воспрепятствовать изменению состава раствора в приэлектродных пространствах, а с другой — стабилизировать состояние компонентов пробы в процессе анализа. При подаче на электроды высокого напряжения в капилляре быстро устанавливается стационарное состояние: через капилляр протекает постоянный электроосмотический поток, на который накладывается взаимно противоположная электромиграция катионов и анионов. Если в капилляр со стороны анода ввести небольшой объем раствора пробы, то ЭОП будет переносить эту зону к катоду (в область детектирования), и зона некоторое время сможет находиться в капилляре под воздействием электрического поля высокого напряжения. В течение этого времени заряженные компоненты пробы будут перемещаться в соответствии с их электрофоретическими подвижностями. Катионные компоненты пробы, двигаясь к катоду, будут обгонять электроосмотический поток. Скорость их движения складывается из скорости ЭОП и скорости электромиграции, поэтому на выходе капилляра катионы появляются первыми и тем раньше, чем больше их электрофоретическая подвижность.

Нейтральные компоненты пробы способны перемещаться только под действием электроосмотического потока, тогда как анионные будут перемещаться к аноду со скоростями меньшими, чем скорость ЭОП. Медленно мигрирующие анионы появятся на выходе после ЭОП, а те, чья скорость электромиграции по абсолютной величине превышает скорость ЭОП, будут выходить из капилляра в прианодное пространство.

Аппаратура для капиллярного электрофореза достаточно компактна, и схематически изображена на рис. 23. В системах капиллярного электрофореза используют, как правило, капилляры из высокочистого

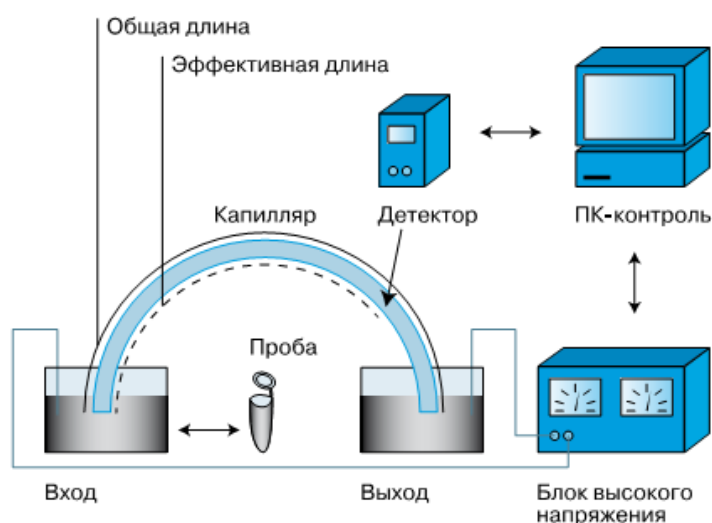


Рис. 23. Устройство системы капиллярного электрофореза

чистого кварца. Внутренний диаметр капилляров может варьироваться от 20 до 100 мкм, но чаще всего используют 50 и 75 мкм. Внешний диаметр составляет 365 мкм, длина капилляров 20–100 см. Типичный объем вводимой пробы в капиллярном электрофорезе составляет 1–20 нл. Основными методами детектирования являются фотометрическое (УФ область), флуориметрическое, масс-спектрометрическое, амперометрическое, кондуктометрическое, рефрактометрическое.

Метод капиллярного электрофореза применяется для анализа разнообразных веществ (неорганических и органических катионов и анионов, аминокислот, витаминов, наркотиков, красителей, белков и т. д.) и объектов (для контроля качества вод и напитков, технологического контроля производства, входного контроля сырья, анализа фармпрепаратов и пищевых продуктов, в криминалистике, медицине, биохимии, целлюлозно-бумажном производстве и т. д.).

плавленого кварца, прозрачного в УФ-области спектра, с внешним полимерным, чаще полиимидным, защитным покрытием. В случае детектирования внутри капилляра (on-line) полиимидное покрытие в зоне детектирования снимают, оставляя для прохождения света зону

## **4. ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ ПО ХРОМАТОГРАФИИ**

### **4.1. ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ**

#### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.**

#### **КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ**

#### **СМЕСИ УГЛЕВОДОРОДОВ**

Цель работы: определить качественный состав смеси углеводородов сравнением полученных абсолютных объёмов удерживания индивидуальных углеводородов. Определить количественный состав углеводородов в заданной смеси метом нормализации. Определить число теоретических тарелок (N) и высоту, эквивалентную теоретической тарелке (ВЭТТ). Рассчитать эффективность, разрешение и селективность.

Условия проведения анализа: хроматограф: ЛХМ-8МД, детектор по теплопроводности (катарометр); материал колонки – нержавеющая сталь, длина 1500 мм, диаметр 3 мм, твердый носитель – Хезасорб (0,2–0,3 мм), неподвижная фаза – силикон 5 %; газ-носитель – гелий; температура колонок 120 °С; температура испарителя 175 °С; множитель шкалы 10; ток детектора-катарометра 100 мА; скорость газа-носителя 40 см<sup>3</sup>/мин; скорость движения диаграммной ленты 720 мм/ч. Дозирование осуществляется микрошприцем МШ-10. Величина дозы 1-5 мкл.

Объекты хроматографирования – растворы индивидуальных углеводородов; контрольные смеси, содержащие углеводороды в различных соотношениях.

Выполнение работы: Включают прибор и выводят его на рабочий режим. Убедившись в записи устойчивой (без дрейфа) нулевой линии при наивысшей чувствительности регистрации фонового сигнала, микрошприцем вводят в испаритель хроматографа пробу индивидуального углеводорода, на хроматограмме отмечают момент ввода пробы для определения абсолютного объема (времени) удерживания данного углеводорода. Таким образом проводят хроматографирование пяти эталонных углеводородов.

Величину дозы и чувствительность регистрации сигнала катарометра (множитель на БУ) выбирают так, чтобы высота пика на хроматограмме составляла 50-90 % шкалы самописца. Если этого нет, то необходимо скорректировать чувствительность и величину дозы.

Проводят анализ контрольной смеси, заданной преподавателем. Пробу анализируют 2-3 раза, стремясь к получению воспроизводимых результатов. Микрошприц перед забором пробы необходимо промыть раствором пробы, освобождая его в промежуточную ёмкость.

#### Обработка результатов:

1. Определяют абсолютные параметры удерживания (времена или объёмы удерживания) стандартных растворов углеводов, измеряя на полученных хроматограммах расстояние в мм от момента ввода пробы до максимума пика с точностью до 0,5 мм. Данные заносят в табл. 4.1.
2. Определяют абсолютные объёмы (времена) удерживания пиков на хроматограмме контрольной пробы. Данные заносят в табл. 4.2.
3. Сравнивая абсолютные объёмы (времена) удерживания стандартных растворов углеводов и пиков на хроматограмме контрольной пробы, определяют, из каких углеводов состоит контрольная проба. Данные заносят в табл. 4.2.
4. Измеряют высоту каждого пика и ширину на половине его высоты и рассчитывают площади всех пиков по формуле  $S = h \cdot \mu_{0.5}$ . Данные заносят в табл. 4.2.
5. Рассчитывают процентное содержание всех компонентов в пробе по формуле

$$C_i = \frac{f_i \cdot h_i}{\sum f_i \cdot h_i} \cdot 100 = \frac{f_i \cdot S_i}{\sum f_i \cdot S_i} \cdot 100 ,$$

где считают  $f_i = 1$ . Данные заносят в табл. 4.2.

6. Рассчитывают число теоретических тарелок  $N$  и ВЭТТ по формулам:

$$N = 5,5 \left( \frac{L_i}{\mu_{0,5}} \right)^2, \quad H = \frac{L}{N}.$$

Данные заносят в табл. 4.2.

Таблица 4.1. Анализ стандартных растворов углеводов

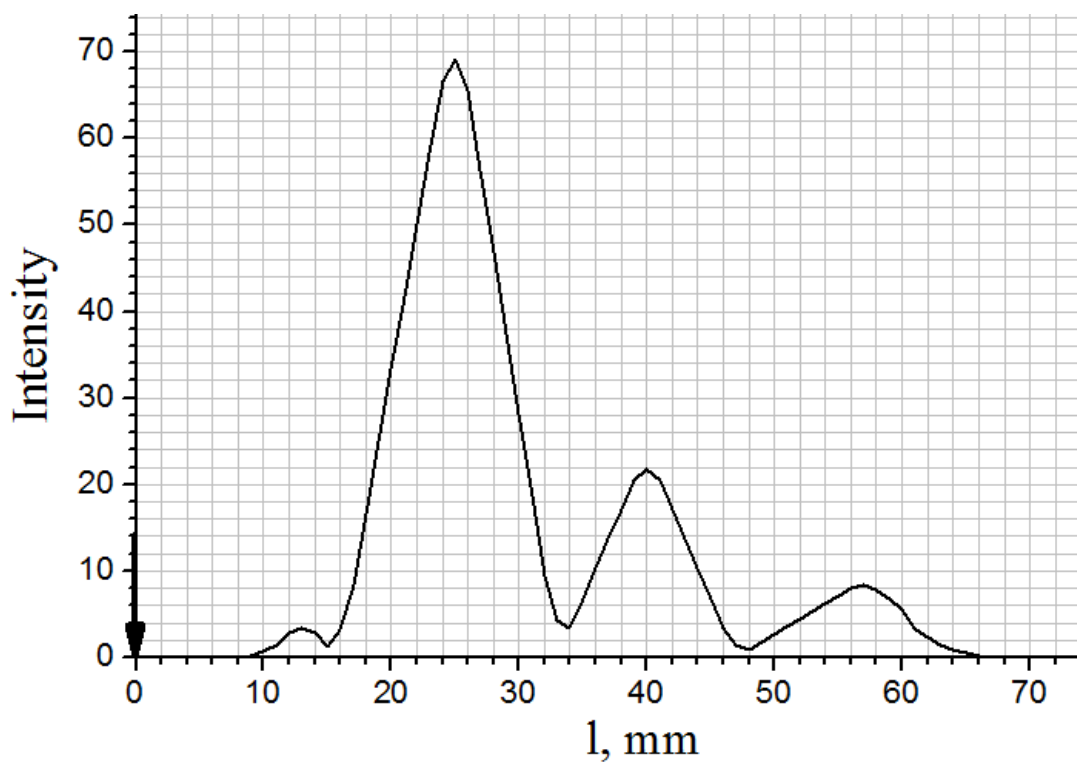
| Наименование<br>стандартного<br>углеводорода | Объём<br>пробы,<br>мкл | $l_{абс}$ , мм |
|----------------------------------------------|------------------------|----------------|
|                                              |                        |                |

Таблица 4.2. Анализ контрольной пробы

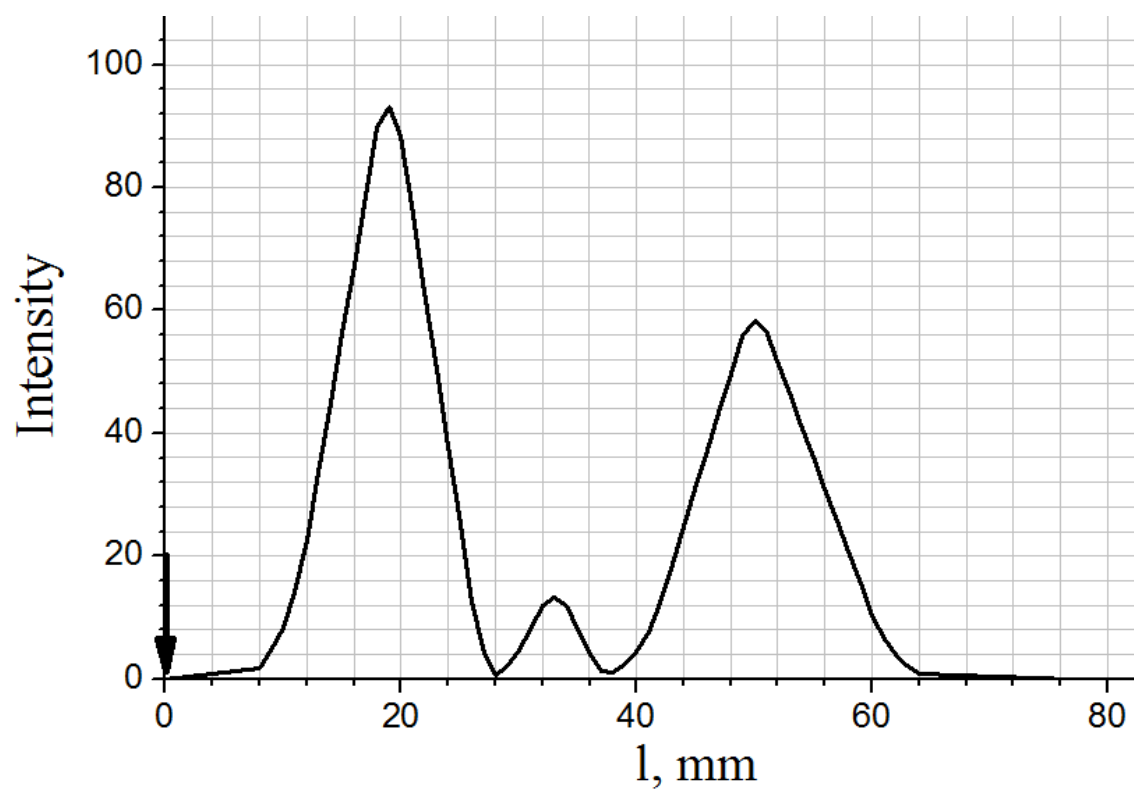
| № об-<br>разца | №<br>пика | $l_{абс}$ ,<br>мм | Название<br>компо-<br>нента<br>смеси | Параметры<br>пика |                     |                       | С ком-<br>понента<br>в смеси,<br>% | N | ВЭТТ |
|----------------|-----------|-------------------|--------------------------------------|-------------------|---------------------|-----------------------|------------------------------------|---|------|
|                |           |                   |                                      | h,<br>мм          | $\mu_{0,5}$ ,<br>мм | S,<br>мм <sup>2</sup> |                                    |   |      |
|                |           |                   |                                      |                   |                     |                       |                                    |   |      |

Примеры хроматограмм, полученных на кафедре аналитической химии  
ЛТИ ЦБП:

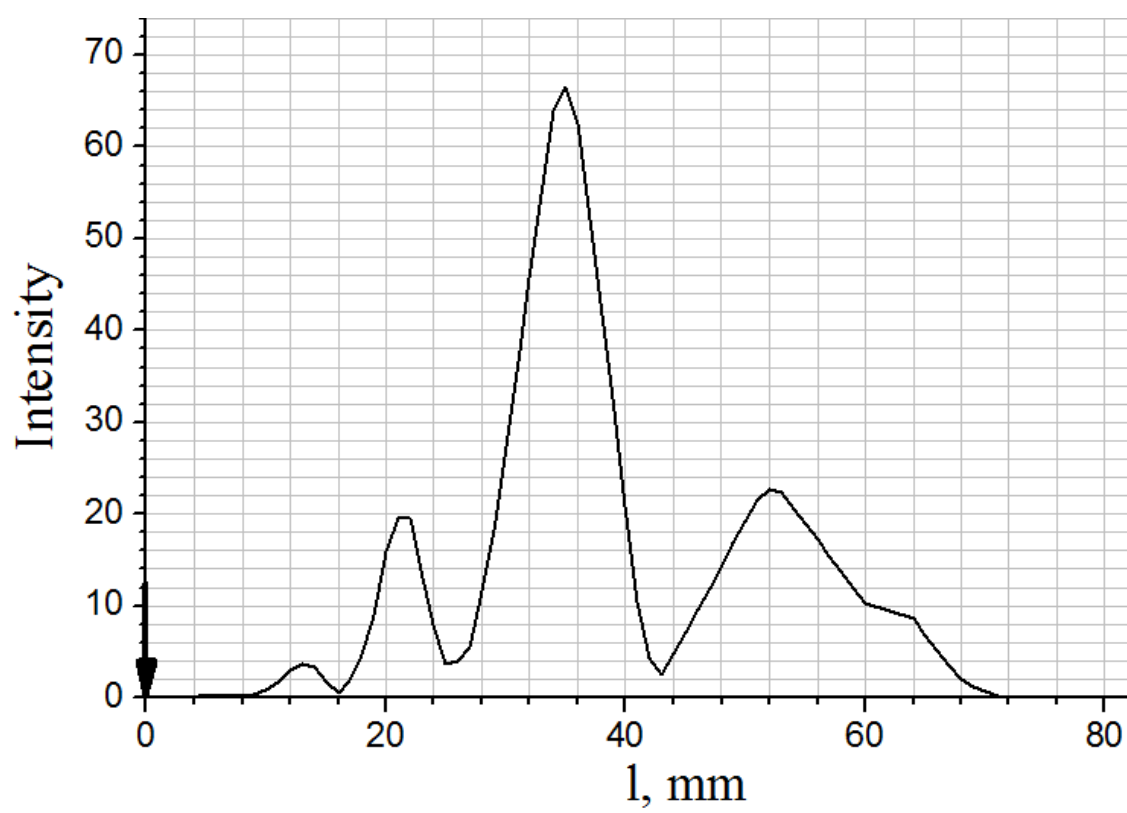
I.



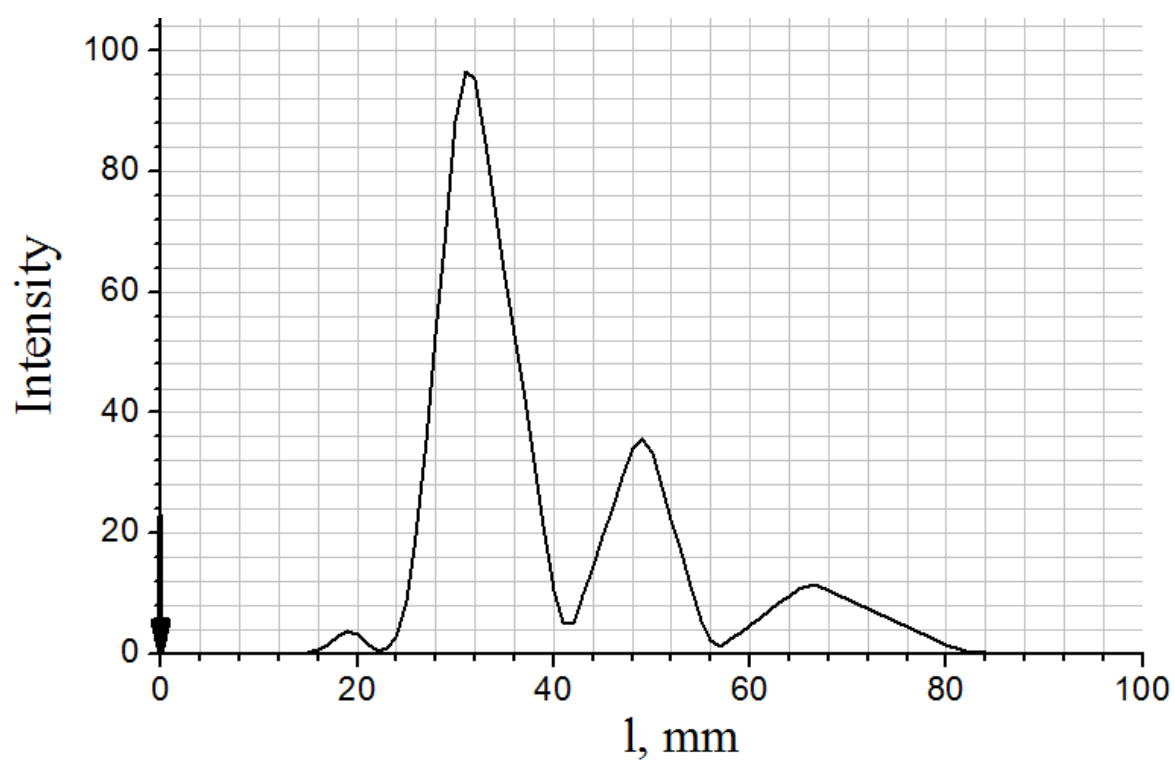
II.



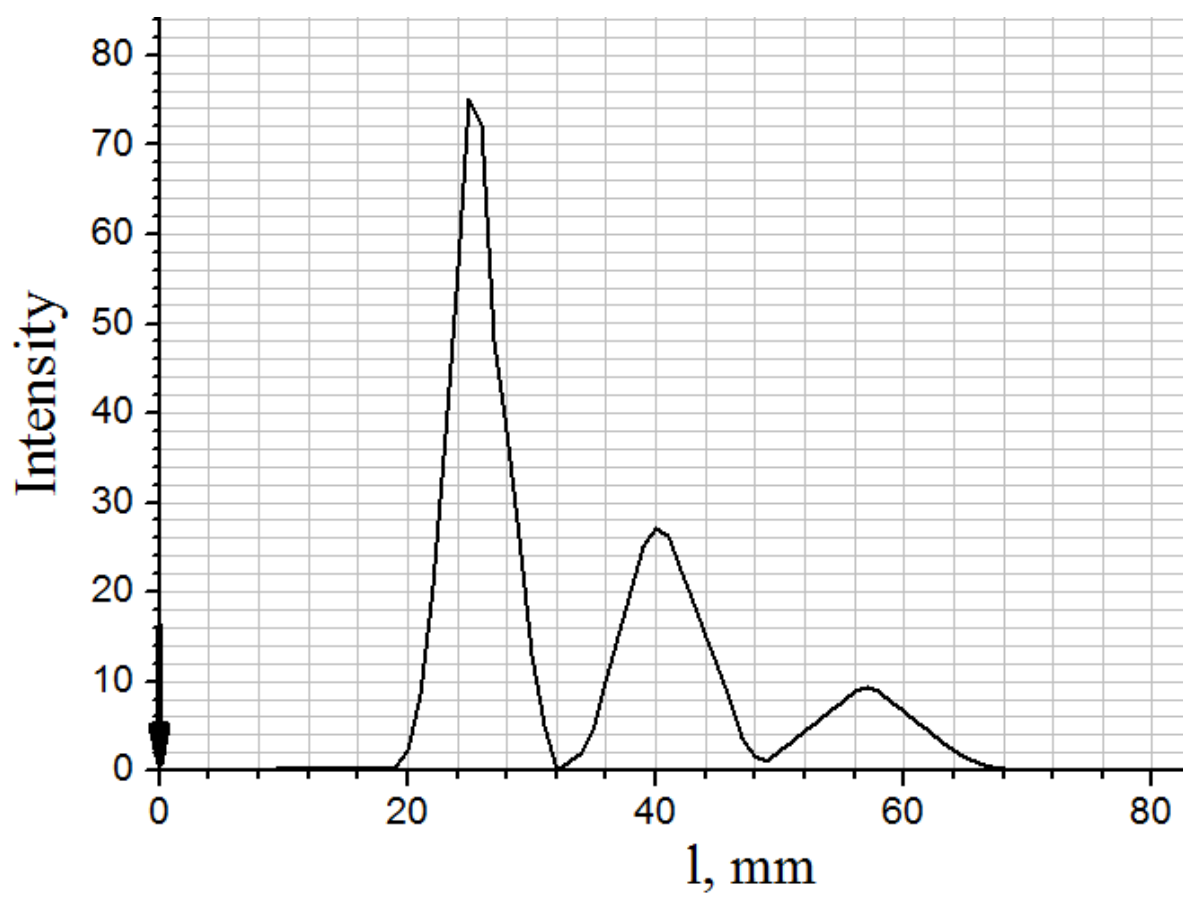
III.



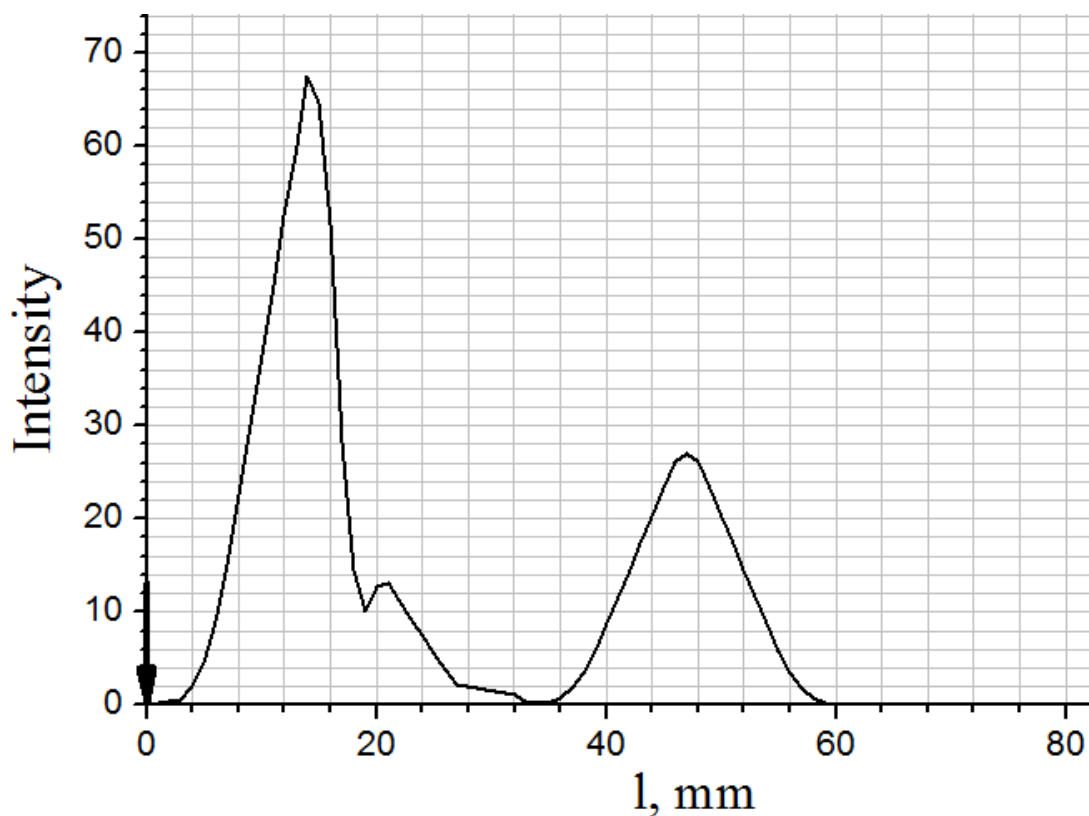
IV.



V.



VI.



7. Необходимо провести расшифровку полученных хроматограмм. Стрелкой обозначен момент ввода пробы. Идентификацию компонентов пробы проводят по параметрам удерживания. Соотнесение параметров удерживания приведено в табл. 4.3.

Таблица 4.3. Идентификация компонентов проб

| №<br>п/п | Абсолютное время<br>удерживания*, мм | Наименование<br>компонента |
|----------|--------------------------------------|----------------------------|
| 1        | 10                                   | Бутан                      |
| 2        | 22                                   | Пентан                     |
| 3        | 27                                   | Гексан                     |
| 4        | 36                                   | Гептан                     |
| 5        | 53                                   | Октан                      |
| 6        | 64                                   | Нонан                      |

\* В единицах расстояния на хроматограмме.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2.

### КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ СКИПИДАРА, ВЫДЕЛЕННОГО ПРИ ВАРКЕ ДРЕВЕСИНЫ

Цель работы: определить качественный состав терпеновых углеводов в скипидаре методом сравнения полученных относительных объемов удерживания с табличными данными относительных объемов удерживания индивидуальных терпенов. В качестве эталона при анализе скипидаров обычно используют  $\alpha$ -пинен (внутренний стандарт). Определить количественный состав терпеновых углеводов в скипидаре методом нормализации.

Условия проведения анализа: хроматограф: Цвет 100, пламенно-ионизационный детектор (ПИД); материал колонки – нержавеющая сталь, длина 1500 мм, диаметр 3 мм; твердый носитель – рисорб (0,2-0,3 мм); неподвижная фаза – полиэтиленгликольадипинат 10 %; газ-носитель - гелий; температура колонок 150 °С; температура испарителя 250 °С; скорость газа-носителя 30 см<sup>3</sup>/мин; скорость потока водорода 30 см<sup>3</sup>/мин; скорость потока воздуха 100 см<sup>3</sup>/мин; скорость движения диаграммной ленты 720 мм/ч. Дозирование осуществляется микрошприцем МШ-10. Величина дозы 1-5 мкл. Объекты хроматографирования – образцы различных видов скипидара.

Выполнение работы: Включают прибор и выводят на рабочий режим. Убедившись в записи устойчивой (без дрейфа) нулевой линии при наивысшей чувствительности регистрации фонового сигнала, записывают хроматограмму пробы скипидара. На хроматограмме отмечают момент ввода пробы для определения абсолютного объема (времени) удерживания каждого компонента. Величину дозы и чувствительность регистрации сигнала катарометра выбирают таким образом, чтобы высота пиков на хроматограмме составляла 50-90 % шкалы самописца. Если это условие не выполняется, следует скорректировать соответствующим образом чувствительность или величину дозы. Раствор скипидара в оптимальных условиях анализируют 2-3 раза, стремясь к получению воспроизводимых

результатов. Микрошприц перед забором пробы следует промывать раствором анализируемого вещества 2-5 раз, полностью наполняя объем шприца соответствующим раствором, который затем сливают в промежуточную ёмкость (стакан, бюкс).

#### Обработка результатов

1. Нумеруют пики на хроматограмме по порядку от отметки ввода пробы.
2. Измеряют расстояния от момента ввода пробы до положения максимума каждого пика для определения абсолютного времени удерживания компонента смеси.
3. Рассчитывают относительные параметры удерживания индивидуальных веществ относительно  $\alpha$ -пинена и проводят качественный анализ путем сравнения с относительными параметрами удерживания, приведенными в табл.4.4 (по данным исследований Пиалкина).
4. Измеряют высоту каждого пика и ширину на половине его высоты и рассчитывают площади всех пиков по формуле:  $S=h \cdot \mu_{0.5}$ .
5. Рассчитывают процентное содержание всех компонентов в пробе по формуле ( $f_i=1$ ):

$$C_i = \frac{f_i \cdot h_i}{\sum f_i \cdot h_i} \cdot 100 = \frac{f_i \cdot S_i}{\sum f_i \cdot S_i} \cdot 100 ,$$

6. Данные сводят в таблицу 4.5.

Таблица 4.4. Относительные параметры удерживания компонентов живичного скипидара (эталон –  $\alpha$  – пинен)

| № п/п | Наименование компонента | Относительный параметр удерживания |
|-------|-------------------------|------------------------------------|
| 1     | $\alpha$ -пинен         | 1,0                                |
| 2     | камфен                  | 1,26                               |
| 3     | $\beta$ -пинен          | 1,48                               |
| 4     | $\Delta^3$ -карен       | 1,71                               |
| 5     | дипентен                | 2,20                               |
| 6     | X                       | 2,34                               |
| 7     | терпинален              | 3,06                               |

Таблица 4.5. Результаты анализа контрольной пробы

| № образца | Номер пика<br>п/п | l <sub>абс</sub> ,<br>мм | L <sub>отн</sub> ,<br>мм | Название компонента смеси | Параметры пика |                          |                       | Содержание компонента в смеси, % |
|-----------|-------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------|--------------------------|-----------------------|----------------------------------|
|           |                   |                          |                          |                           | h,<br>мм       | μ <sub>0.5</sub> ,<br>мм | S,<br>мм <sup>2</sup> |                                  |
|           |                   |                          |                          |                           |                |                          |                       |                                  |

## 4.2. ИОНООБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МАГНИЯ И ЦИНКА В РАСТВОРЕ ПРИ СОВМЕСТИМ ПРИСУТСТВИИ

Цель работы: определение количества ионов цинка и магния после предварительного разделения их методом ионообменной хроматографии.

Для разделения ионов  $Zn^{2+}$  и  $Mg^{2+}$  используется ионообменная смола - анионит марки АВ-17. Анионит, промытый раствором с высокой концентрацией  $Cl^-$  - ионов, имеет состав, условно выраженный формулой  $RCl$ , и способен диссоциировать по схеме:  $RCl \leftrightarrow R^+ + Cl^-$ , где  $R^+$  - высокомолекулярный катион (макрокатион).

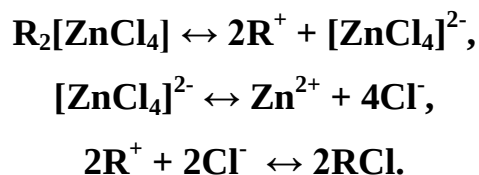
Ион  $Zn^{2+}$ , содержащийся в анализируемом растворе, может быть переведен в комплексный анион, например, при создании достаточно высокой концентрации  $Cl^-$  - ионов путем добавления концентрированного раствора  $HCl$ :  $Zn^{2+} + 4HCl \leftrightarrow [ZnCl_4]^{2-} + 4H^+$ ; магний при этом остается в растворе в виде катиона  $Mg^{2+}$ .

При пропускании такого раствора через колонку с анионитом происходит реакция ионного обмена по схеме



Таким образом, цинк задерживается анионитом, и выходящий из колонки раствор содержит только ион магния.

Промывание колонки водой приводит к понижению концентрации  $Cl^-$  - ионов, что вызывает диссоциацию комплексных ионов:



В результате анионит приходит в первоначальную форму, а катион  $\text{Zn}^{2+}$  оказываются в растворе, вытекающем из колонки.

### Ход работы

#### 1. Разделение ионов

Работу следует начать с промывания колонки 2 М раствором  $\text{HCl}$ . Промывку ведут порциями примерно по  $10 \text{ см}^3$ . Вводят очередную порцию лишь после прекращения вытекания предыдущей (при этом над анионитом должен оставаться жидкий слой 0,5-1,0 см). Расход раствора  $\text{HCl}$  –  $50 \text{ см}^3$ .

Анализируемый раствор дозируют в мерную колбу на  $100 \text{ см}^3$  из бюреток, при этом сливание струей недопустимо (ошибка вытекания). В колбу добавляют дистиллированную воду до метки и тщательно перемешивают содержимое. Приготовленный раствор содержит ионы цинка и магния (раствор № 1).

Пипетку на  $20 \text{ см}^3$  промывают этим раствором, переносят пипеткой порцию раствора в стаканчик на  $50 \text{ см}^3$  и добавляют  $7-8 \text{ см}^3$  6 М раствора  $\text{HCl}$ . Полученный 2 М раствор  $\text{HCl}$ , содержащий ионы  $\text{Mg}^{2+}$  и  $[\text{ZnCl}_4]^{2-}$ , пропускают через подготовленную колонку. Остатки из стаканчика вымывают 2 М раствором  $\text{HCl}$  и также вносят в колонку. Ионы  $[\text{ZnCl}_4]^{2-}$  связываются анионитом. Раствор, который выходит из колонки, содержит  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Cl}^-$  - ионы.

После пропускания раствора из стаканчика колонку промывают 2 М раствором  $\text{HCl}$  ( $50 \text{ см}^3$ ) для того, чтобы вымыть остаток ионов магния. Собранный раствор, содержащий ионы магния и не содержащий ионов цинка, выливают.

Для извлечения цинка через колонку пропускают 100 см<sup>3</sup> горячей (60 °С) дистиллированной воды. Вытекающий из колонки раствор (раствор № 2), содержащий ионы цинка, собирают в колбу для титрования.

## 2. Титрование

Перед началом титрования необходимо 2-3 раза промыть бюретку трилоном Б. Затем наполняют бюретку титрантом - раствором трилона Б с концентрацией 0,1 н. После этого производят титрование раствора № 1, содержащего ионы цинка и магния. Для этого пипеткой на 20 см<sup>3</sup> (промытой ранее этим раствором) отбирают анализируемый раствор и помещают в коническую колбу для титрования. В отобранную пробу вводят 5 см<sup>3</sup> аммиачно-буферного раствора, несколько кристаллов индикатора хромогена черного и медленно титруют раствором трилона Б до перехода окраски в синюю, без фиолетового оттенка.

К раствору № 2, полученному при разделении ионов цинка и магния и содержащему ионы цинка и соляную кислоту, добавляют 1-2 капли индикатора метилового оранжевого и нейтрализуют раствор 6 М раствором аммиака, приливая его по каплям из пипетки, до перехода окраски из розовой в желтую. После нейтрализации добавляют 10 см<sup>3</sup> аммиачно-буферного раствора, индикатор хромоген черный и титруют раствором трилона Б с концентрацией 0,1 н до перехода окраски в сине-зеленую, без фиолетового оттенка.

## 3. Расчет

Если на титрование раствора № 1, содержащего ионы цинка и магния, затратили объем трилона Б –  $V_1$ , а на титрование раствора № 2 –  $V_2$ , то разность этих объемов будет соответствовать массе магния в исходном растворе. Следовательно,

$$m_{\text{Mg}}^{2+} = 5 \cdot (V_1 - V_2) \cdot C_{\text{трБ}} \cdot M_{\text{Mg}}^{2+}, \text{ мг},$$

$$m_{\text{Zn}}^{2+} = 5 \cdot V_2 \cdot C_{\text{трБ}} \cdot M_{\text{Zn}}^{2+}, \text{ мг},$$

где  $M_{\text{Mg}}^{2+}$ ,  $M_{\text{Zn}}^{2+}$  - молекулярные массы эквивалентов магния и цинка, соответственно;

$C_{\text{трБ}}$  – эквивалентная концентрация трилона Б.

#### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАТ-ИОНОВ В РАСТВОРЕ ОБЪЁМНЫМ МЕТОДОМ

Цель работы: определение сульфат-ионов косвенным методом по количеству ионов  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ , вытесненных ионом  $\text{SO}_4^{2-}$  из соответствующей солевой формы сильноосновного анионита.

Метод определения сульфат-ионов с использованием ионного обмена базируется на принципе эквивалентности ионообменных реакций и их селективности. Сульфат-ионы проявляют повышенное сродство к анионитам и в соответствии с рядом сорбируемости могут вытеснять анионы из состава анионитов, т.е. анионы, которые были поглощены анионитом ранее. Если использовать соответствующую форму анионита, то в результате ионного обмена с сульфат-ионами, ионы солевой формы анионита будут вытесняться в раствор в эквивалентном сульфату количестве. Определяя в растворе ионы солевой формы исходного анионита, можно судить о количестве замещённого сульфата, т.е. о его концентрации в пробе исследуемого раствора.

В качестве ионов солевой формы анионита могут быть использованы анионы, степень удерживания которых меньше, чем сульфат-ионов, но определение которых, например, объёмными методами, в отличие от сульфат-ионов, не вызывает затруднений (оксалат-, тиоцианат-, иодид-ионы). При использовании в качестве обменных ионов остатков слабых кислот, таких как  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ , употребляют сильноосновный ионит, так как слабоосновными анионитами подобные анионы не удерживаются.

В данной работе предлагается определить сульфат-ионы путём обмена их на оксалат – ионы сильноосновного анионита, находящегося в соответствующей форме, по реакции



Определение ионов – восстановителей, выделившихся в раствор, можно провести методом окисления – восстановления.

#### Ход работы:

В анализе используется сильноосновный анионит АВ-17х8. Продажный анионит находится в Cl-форме. Для проведения работ приготавливают соответствующую форму смолы. Для этого примерно 10 см<sup>3</sup> отмытого от примесных ионов и набухшего анионита помещают в ионообменную колонку и промывают до нейтральной реакции (по индикаторной бумаге) дистиллированной водой для удаления избытка электролита. Для перевода анионита в C<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup> - форму через колонку пропускают ~100 см<sup>3</sup> 1М раствора Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> и далее ~200 см<sup>3</sup> дистиллированной воды.

Анализируемый раствор дозируют в мерную колбу на 100 см<sup>3</sup> и дистиллированной водой доводят объём раствора до метки. Содержимое колбы тщательно перемешивают.

Аликвотную часть раствора (20 см<sup>3</sup>) отбирают пипеткой и пропускают со скоростью 1-2 капли в секунду через колонку, заполненную подготовленным анионитом. Затем сорбент промывают (примерно 30 мл) дистиллированной водой. Фильтрат и промывные воды количественно переносят и титруют 0,1 н раствором KMnO<sub>4</sub>. Титрование проводят в сернокислой среде (при добавлении 5-10 см<sup>3</sup> 1 н H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Перед титрованием раствор нагревают до 60 °С. Массу сульфат-ионов определяют по формуле

$$m = C (1/z \text{ KMnO}_4) \cdot V_{\text{KMnO}_4} \cdot M (1/z \text{ SO}_4^{2-}) \cdot 5 \text{ мг},$$

где C (1/z KMnO<sub>4</sub>) – молярная концентрация эквивалента раствора KMnO<sub>4</sub>, моль<sub>э</sub>/дм<sup>3</sup>;

V<sub>KMnO<sub>4</sub></sub> – средний объём KMnO<sub>4</sub>, затраченный на титрование 1/5 части пробы, см<sup>3</sup> (5 – фактор аликвотности);

M (1/z SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) – молярная масса эквивалента иона SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, моль<sub>э</sub>/дм<sup>3</sup>.

По окончании работы анионит регенерируют соляной кислотой, отмывают водой и повторно выполняют определение сульфат-ионов.

### 4.3. КАПИЛЛЯРНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ

#### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 5.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ АНИОНОВ В ПРОБАХ ПИТЬЕВЫХ, ПРИРОДНЫХ И ОЧИЩЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД С ПРИМЕНЕНИЕМ СИСТЕМЫ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Для определения содержания хлорид-, нитрит-, сульфат-, нитрат-, фторид- и фосфат-ионов удобно пользоваться системой капиллярного электрофореза «Капель» производства группы компаний «Люмекс».

Необходимые вспомогательные устройства и материалы: весы лабораторные высокого класса точности, мерные колбы на 100, 50, 25, 10 см<sup>3</sup>, градуированные пипетки вместимостью 1, 2, 5, 10 см<sup>3</sup>, микродозаторы с переменным объёмом 5-50 мм<sup>3</sup>, 50-200 мм<sup>3</sup>, 200-1000 мм<sup>3</sup>, рН-метр лабораторный, государственные стандартные образцы (ГСО) определяемых анионов; сбор, обработка и вывод данных осуществляется с помощью персонального компьютера, на котором установлена программа сбора и обработки хроматографических данных «Мультихром для Windows»; бидистиллятор или аппарат для перегонки воды, центрифуга, пробирки одноразовые (типа Эппендорфа) вместимостью 1,5 см<sup>3</sup>, пробирки с притёртой пробкой вместимостью 5-10 см<sup>3</sup> (виалы), стаканы химические вместимостью 100 и 500 см<sup>3</sup>, баня водяная, бумага индикаторная универсальная, электроплитка бытовая, фильтры обеззоленные «синяя лента», фильтры целлюлозно-ацетатные, размер пор 0,2 мкм, диаметр 25 мм, насадка для фильтра.

Необходимые растворы: гидроксида натрия 0,5 М, соляной кислоты 1 М, оксида хрома (VI) 0,05 М, диэтанолamina (ДЭА) 0,1 М, гексадецилтриметиламмония гидроксида (ЦТА-ОН) 0,01 М, глюконата кальция 0,025 М, аммиака 1:1, уксусной кислоты 1:9, трилона Б 0,01 М.

Хроматный рабочий буферный раствор № 1 (ведущий электролит): в чистый сухой стакан вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают 1,4 см<sup>3</sup> раствора оксида хрома (VI), 2,0 см<sup>3</sup> ДЭА, 0,1 см<sup>3</sup> глюконата кальция и 4,5 см<sup>3</sup>

дистиллированной воды. Тщательно перемешивают, затем добавляют 2,0 см<sup>3</sup> ЦТА-ОН. Затем раствор фильтруют через мембранный фильтр в пластиковую вialу. Раствор хранят при комнатной температуре в течение 1 недели.

Для приготовления рабочего буферного раствора № 2 хроматный рабочий буферный раствор разбавляют дистиллированной водой в соотношении 1:9.

Подготовка капилляра к работе. Если капилляр оставляли на ночь в воде, то перед работой его необходимо промыть кислотой, водой, щёлочью и снова водой по 2-3 мин и затем раствором ведущего электролита в течение времени, предусмотренного методикой для режима «Анализ». Далее необходимо проконтролировать состояние капилляра, проанализировав градуировочную смесь №3 с использованием существующей калибровки.

Приготовление градуировочных растворов (состав смесей для градуировки системы приведён в табл. 4.6). *Смесь анионов № 1* с концентрацией 50 мг/дм<sup>3</sup> хлорид-иона, нитрит-иона, сульфат-иона, нитрат-иона, фосфат-иона и 25 мг/дм<sup>3</sup> фторид-иона. *Смесь № 2:* в мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 20 см<sup>3</sup> смеси № 1, доводят до метки дистиллированной водой. *Смесь № 3:* в чистый сухой сосуд с плотно закрывающейся крышкой объёмом не менее 10 см<sup>3</sup> помещают 3 см<sup>3</sup> смеси № 1 и 2 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. *Смесь № 4:* в чистый сухой сосуд с плотно закрывающейся крышкой объёмом не менее 10 см<sup>3</sup> помещают 5 см<sup>3</sup> смеси № 2 и 5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. *Смесь № 5:* в чистый сухой сосуд с плотно закрывающейся крышкой объёмом не менее 10 см<sup>3</sup> помещают 2,5 см<sup>3</sup> смеси № 2 и 7,5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. *Смесь № 6:* в чистый сухой сосуд с плотно закрывающейся крышкой объёмом не менее 10 см<sup>3</sup> помещают 2 см<sup>3</sup> смеси № 4 и 6 см<sup>3</sup> дистиллированной воды.

Таблица 4.6. Состав и концентрация смесей для градуировки системы капиллярного электрофореза, мг/дм<sup>3</sup>

| Анион       | Номер смеси |    |    |    |     |     |
|-------------|-------------|----|----|----|-----|-----|
|             | 1           | 2  | 3  | 4  | 5   | 6   |
| Хлорид-ион  | 50          | 40 | 30 | 20 | 10  | 5,0 |
| Нитрит-ион  | 50          | 40 | 30 | 20 | 10  | 5,0 |
| Сульфат-ион | 50          | 40 | 30 | 20 | 10  | 5,0 |
| Нитрат-ион  | 50          | 40 | 30 | 20 | 10  | 5,0 |
| Фторид-ион  | 25          | 20 | 15 | 10 | 5,0 | 2,5 |
| Фосфат-ион  | 50          | 40 | 30 | 20 | 10  | 5,0 |

Проверка чистоты дистиллированной воды и буферного раствора. Для приготовления растворов и проведения анализов проб в большинстве случаев можно использовать дистиллированную воду, соответствующую требованиям ГОСТ 6709-72 при условии постоянного контроля её качества. При анализе проб очень чистой воды необходимо пользоваться бидистиллированной водой. Для проверки чистоты буферного раствора буферный раствор № 2 разбавляют в соотношении 1:1. Полученный раствор и градуировочную смесь № 6 анализируют по методике ввода и анализа градуировочных смесей с использованием в качестве ведущего электролита буферного раствора № 1. На электрофореграмме должны наблюдаться 6 положительных пиков и один отрицательный, принадлежащий гидрокарбонат-иону.

Параметры ввода градуировочных смесей: давление 30 мбар, время ввода 10 с (эффективная длина капилляра), напряжение 0,0 кВ.

Анализ градуировочных смесей. Устанавливают в рабочее положение пробирку с первым из градуировочных растворов. Рекомендуются следующие параметры анализа: напряжение минус 17 кВ, время анализа 7 мин. По окончании анализа проверяют и, если необходимо, корректируют разметку пиков, удаляют лишние пики и выполняют процедуру градуировки

согласно Руководству пользователя программы «Мультихром для Windows». Порядок выхода положительных пиков следующий: хлорид, нитрит, сульфат, нитрат, фторид, фосфат. Аналогично проводят анализ других градуировочных смесей.

Построение градуировочной зависимости. Градуировочные зависимости, которые формирует программа «Мультихром для Windows», представляют зависимости концентраций анализируемых ионов от площади соответствующих пиков.

Предварительные испытания пробы. Анализируемую пробу (не менее 100 см<sup>3</sup>) фильтруют через сухой фильтр «синяя лента» в сухую посуду, отбрасывая первые 25 см<sup>3</sup> фильтрата. Перед основным анализом определяют кислотность пробы и оценивают мешающее влияние катионов пробы. pH пробы должен находиться в пределах 5-9. Если pH пробы меньше 5, то её нейтрализуют по каплям раствором аммиака до pH 8-9. Если pH пробы > 9, то её нейтрализуют по каплям раствором уксусной кислоты до pH 7-8. Если при нейтрализации пробы выпадает осадок, то её анализируют отдельно.

Для оценки мешающего влияния катионов пробы в сухую стеклянную пробирку помещают 1 см<sup>3</sup> анализируемой пробы, прошедшей контроль pH, добавляют 1 см<sup>3</sup> буферного раствора № 1, перемешивают и помещают на кипящую водяную баню на 5 мин. Если по истечении указанного времени отсутствует осадок, проводят анализ с использованием градуировочных зависимостей.

Измерение массовой концентрации анионов. Для каждой пробы анализируют не менее двух порций подготовленной пробы. В сухую одноразовую пробирку типа Эппендорф помещают 0,5 см<sup>3</sup> профильтрованной пробы и центрифугируют. Анализ проводят аналогично анализу градуировочных смесей.

Анализ проб, содержащих мешающие катионы: Если проба содержит мешающие катионы, то к 5 см<sup>3</sup> пробы (после контроля в ней pH), следует добавить 0,5 см<sup>3</sup> раствора трилона Б. В этом случае используются

градуировочные растворы, полученные с использованием смесей, аналогичных по составу смесям для уже рассмотренной градуировки прибора, но содержащих трилон Б в концентрации 0,001 моль/дм<sup>3</sup>.

Обработка результатов измерений: Массовые концентрации хлорид-, нитрит-, сульфат-, нитрат-, фторид-, фосфат-ионов в пробе рассчитывают с помощью программы «Мультихром для Windows», которая формирует отчёт с указанием концентраций анализируемых анионов, выраженных в мг/дм<sup>3</sup>. Концентрацию анионов в пробе вычисляют по формуле

$$X = X_{\text{изм}} \cdot K_1 \cdot K_2, \text{ мг/дм}^3,$$

где  $X_{\text{изм}}$  – измеренная концентрация аниона по градуировочному графику, мг/дм<sup>3</sup>;

$K_1$  – коэффициент разбавления пробы дистиллированной водой при высокой концентрации анионов, равный соотношению объёмов разбавленной пробы к аликвотной порции исходной;

$K_2$  – коэффициент разбавления пробы за счёт введения дополнительных реагентов (трилон Б, аммиак, уксусная кислота)

$$K_2 = (V_1 + V_2 + V_3)/V_1,$$

где  $V_1$  – объём пробы, взятый для дополнительной обработки, см<sup>3</sup> (рекомендуется 5 см<sup>3</sup>);

$V_2$  – объём добавленного раствора трилона Б, см<sup>3</sup>;

$V_3$  – объём добавленного раствора нейтрализующего раствора, см<sup>3</sup>.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

Васильев В.Т. Аналитическая химия. В 2 кн. Кн. 2. Физико-химические методы анализа: учебник для студентов вузов, обучающихся по химико-технол. спец. -5-е изд., стереотип. - М.: Дрофа, 2005. –383 с.

Дмитревич И.Н., Пругло Г.Ф., Фёдорова О.В., Комиссаренков А.А. Физико-химические методы анализа. Ч.III. Хроматографические методы анализа: учебное пособие для студентов заочной формы обучения / СПб ГТУРП. - СПб., 2014.-53 с.

Золотов Ю. А., Вершинин В.И. История и методология аналитической химии: учебное пособие для студентов высших учебных заведений. - М.: ИЦ «Академия», 2007. – 464 с.

Комарова Н. В., Каменцев Я. С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «Капель». — СПб.: ООО «Веда», 2006. — 212 с.

Красиков В.Д. Основы планарной хроматографии. - СПб.: Химиздат, 2005. –231 с.

Основы аналитической химии /под ред. Ю.А.Золотова. - М.: Высшая школа, 2000. – 463 с.

Тикунова И.В., Дробницкая Н.В., Артеменко А.И. Справочное руководство по аналитической химии и физико-химическим методам анализа: учебное пособие. - М.: Высшая школа, 2009. – 413 с.

Шаповалова Е.Н., Пирогов А.В. Хроматографические методы анализа: метод. пособие для спец. курса. - М.: Изд-во МГУ, 2007. - 204 с.

Яшин Я. И., Яшин А. Я. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Состояние и перспективы // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). 2003. Т. XLVII. № 1. С. 64-79.

Harvey David, Modern analytical chemistry. — 1st ed. McGraw-Hill Higher Education, 2000. – 816 p.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------|----|
| Введение.....                                                | 3  |
| 1. Классификация хроматографических методов.....             | 4  |
| 2. Теория хроматографического разделения.....                | 9  |
| 3. Методы хроматографии.....                                 | 11 |
| 3.1. Адсорбционная хроматография.....                        | 11 |
| 3.1.1. Колоночная адсорбционная хроматография.....           | 11 |
| 3.1.2. Тонкослойная адсорбционная хроматография.....         | 13 |
| 3.2. Распределительная хроматография.....                    | 17 |
| 3.2.1. Принцип метода распределительной хроматографии.....   | 17 |
| 3.2.2. Колоночная распределительная хроматография.....       | 18 |
| 3.2.3. Бумажная хроматография.....                           | 19 |
| 3.2.4. Тонкослойная распределительная хроматография.....     | 21 |
| 3.3. Осадочная хроматография.....                            | 21 |
| 3.4. Газовая хроматография.....                              | 23 |
| 3.4.1. Принцип метода газовой хроматографии.....             | 23 |
| 3.4.2. Проявительный метод в газовой хроматографии.....      | 28 |
| 3.4.3. Основные критерии хроматографического разделения..... | 31 |
| 3.4.4. Требования к неподвижной фазе.....                    | 35 |
| 3.4.5. Хроматографические детекторы.....                     | 37 |
| 3.4.6. Качественный хроматографический анализ.....           | 40 |
| 3.4.7. Количественный хроматографический анализ.....         | 42 |
| 3.5. Ионообменная хроматография.....                         | 45 |
| 3.5.1. Классификация, состав и свойства ионитов.....         | 45 |
| 3.5.2. Практические методы ионообменной хроматографии.....   | 51 |
| 3.6. Высокоэффективная жидкостная хроматография.....         | 53 |
| 3.7. Гель-хроматография.....                                 | 57 |
| 3.8. Капиллярный электрофорез.....                           | 60 |
| 4. Лабораторные работы по хроматографии.....                 | 65 |

|                                                                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1. Газовая хроматография.....                                                                                                                                               | 65 |
| Лабораторная работа № 1. Качественный и количественный анализ смеси углеводородов.....                                                                                        | 65 |
| Лабораторная работа № 2. Качественный и количественный анализ скипидара, выделенного при варке древесины.....                                                                 | 71 |
| 4.2. Ионообменная хроматография.....                                                                                                                                          | 73 |
| Лабораторная работа № 3. Определение содержания магния и цинка в растворе при совместном присутствии.....                                                                     | 73 |
| Лабораторная работа № 4. Определение сульфат-ионов в растворе объёмным методом.....                                                                                           | 76 |
| 4.3. Капиллярный электрофорез.....                                                                                                                                            | 78 |
| Лабораторная работа № 5. Определение массовых концентраций анионов в пробах питьевых, природных и очищенных сточных вод с применением системы капиллярного электрофореза..... | 78 |
| Библиографический список.....                                                                                                                                                 | 83 |

---

Редактор и корректор Н.П. Новикова  
Техн. редактор Л.Я. Титова

Темплан 2017, поз. 26

---

Подп. к печати 21.03.17 Формат 60x84/16. Бумага тип №1. Печать офсетная.  
Печ.л. 5,5; уч.-изд.л. 5,5. Тираж 170 экз. Изд. № 26. Заказ

---

Ризограф Высшей школы технологии и энергетики СПбГУПТД, 198095,  
СПб., ул. Ивана Черных,4.