

**И.Н.Дмитревич, Г.Ф.Пругло
О.В.Фёдорова, А.А.Комиссаренков**

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Часть III

Хроматографические методы анализа

**Учебное пособие
для студентов заочной формы обучения**

**Санкт-Петербург
2014**

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

«САНКТ – ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИМЕРОВ»

И.Н.Дмитревич, Г.Ф.Пругло,
О.В.Фёдорова, А.А.Комиссаренков

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Часть III

Хроматографические методы анализа

Учебное пособие
для студентов заочной формы обучения

Санкт-Петербург

2014

УДК 543.257.1 (07. 07)

П 17

ББК 543.257.1 (075)

ДМИТРЕВИЧ И.Н., ПРУГЛО Г.Ф., ФЁДОРОВА О.В., КОМИССА-РЕНКОВ А.А. Физико-химические методы анализа. Ч.III. Хроматографи-ческие методы анализа: учебное пособие для студентов заочной формы обучения/ СПб ГТУРП. - СПб., 2014.-53с.

В учебном пособии изложены теоретические основы хроматографических методов анализа, а также вопросы для самопроверки в виде тестов при изучении курса «Физико-химические методы анализа». Учебное пособие предназначено для студентов заочной формы обучения химико-технологического и инженерно-экологического факультетов, проходящих подготовку по направлениям: 18.03.01 «Химическая технология», 18.03.02 «Энерго- и ресурсосберегающие процессы в химической технологии, нефтехимии и биотехнологии», 15.03.04 «Автоматизация технологических процессов и производств», а также для магистров, обучающихся по направлению «Химическая технология», и для специалистов в области аналитической химии.

Рецензенты: канд. хим. наук, доцент кафедры физической и коллоидной химии СПб ГТУРП И.И. Осовская;
канд. хим. наук, профессор кафедры гражданского строительства и прикладной химии СПб ГПУ А.И. Шишкин.

Рекомендовано к изданию Редакционно-издательским советом в качестве учебного пособия.

© И.Н.Дмитревич, Г.Ф.Пругло,
О.В.Фёдорова, А.А.Комиссаренков,
2014

© Санкт-Петербургский
государственный технологический
университет растительных
полимеров, 2014

1. ИСТОРИЯ ХРОМАТОГРАФИИ

Хроматография, от греч. *chroma*, *chromatos* – цвет, краска, это 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 прошедшего 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 Цвет был ботаником, его вклад в развитие хроматографии был столь значительным, что Федерация европейских химических обществ приводит фамилию М.С. Цвета наряду с такими известными фамилиями как Ломоносов, Менделеев, Бутлеров, Семенов.

Первое сообщение о разработке метода было сделано 30 декабря 1901 г. на XI съезде естествоиспытателей и врачей в Санкт-Петербурге. Впервые термин "хроматография" Цвет упомянул в 1906 г. в печатных работах, опубликованных в немецком журнале *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*. А в 1907 г. Цвет демонстрирует образец хроматографа – прибора для осуществления хроматографического метода анализа.

В первые 10-15 лет после появления хроматография не была популярна. Ситуация изменилась, когда этим методом занялись немецкие и швейцарские ученые. В 1933 г. А. Винтерштайн выпустил публикации по хроматографии. При получении Нобелевской премии в 1937 г. химик-органик П. Каррер подчеркнул решающую роль, которую сыграл хроматографический метод в исследовании каротиноидов, флавинов и

витаминов А и В₂. Ученые Мартин и Синг были удостоены в 1944 г. Нобелевской премии за открытие распределительной хроматографии. 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.

2. КЛАССИФИКАЦИЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Характерной особенностью хроматографического метода является многократность *повторения процесса сорбции и десорбции компонентов*, содержащихся в подвижной фазе, на поверхности неподвижной фазы. В каждый момент времени наступает динамическое сорбционное равновесие, когда концентрации отдельного компонента в подвижной фазе отвечает определенное количество сорбированного вещества 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 будут различны за счет различия в длительности нахождения вещества в сорбированном состоянии на неподвижной фазе. 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 состава.

Классификацию хроматографических методов проводят по трем признакам в зависимости от:

- 1) природы подвижной и неподвижной фазы (табл., графа 1);
- 2) аппаратного оформления - (табл., графа 5);
- 3) способа проведения - элюентная, вытеснительная и фронтальная хроматография.

Таблица

Классификация хроматографических методов

Название метода	Подвижная фаза	Неподвижная фаза	Метод фиксирования неподвижной фазы	Вид хроматографии
1	2	3	4	5
Адсорбционная (жидкостная)	жидкость	твердое 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 твердое вещество	сорбент или твердый носитель, нанесенный на стек-лянную пластинку или фольгу	плоскостной (планарный)
Газо-адсорбционная хроматография	газ	твердое 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 твердого полимера	колоночный
Ионообменная хроматография	жидкость	твердое вещество	послойно в колонке	колоночный

Элюентная (проявительная) хроматография – наиболее распространенный вид, 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.

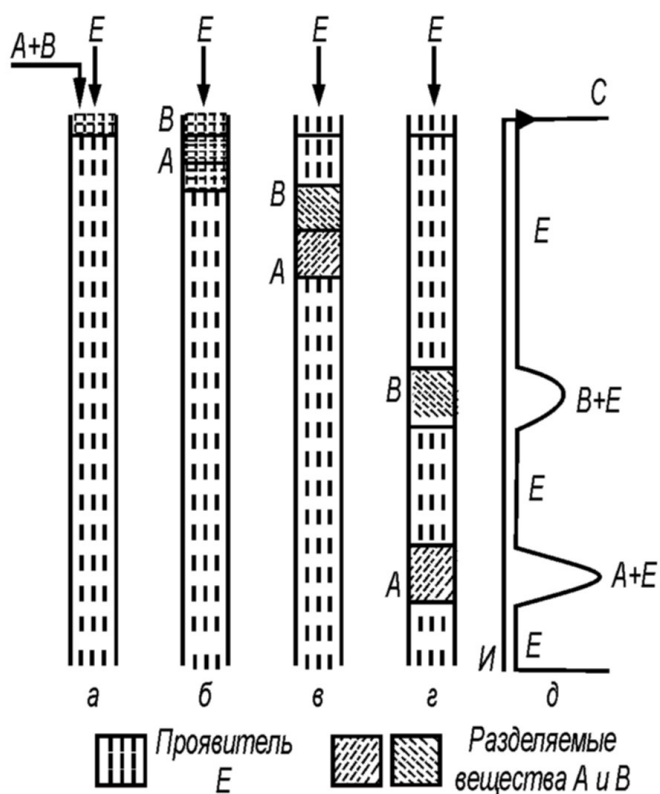


Рис. 1. Элюентная хроматография:
а – ввод смеси веществ **A** и **B** в хроматографическую колонку в поток подвижной фазы **E**;
б, в, г – прохождение веществ через слой неподвижной фазы в потоке подвижной фазы **E**;
д – дифференциальная хроматограмма

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.

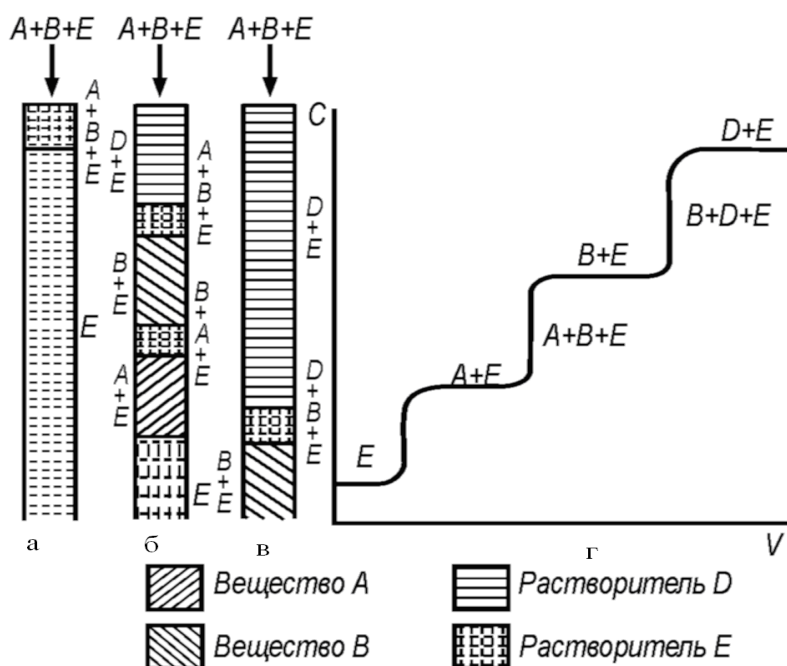


Рис. 2. Вытеснительная хроматография:
а – ввод смеси веществ **А** и **В** в хроматографическую колонку в поток подвижной фазы **Е**;
б – ввод растворителя **Д**;
в – вытеснение компонентов;
г – интегральная хроматограмма

Фронтальный метод состоит в том, что через колонку с адсорбентом непрерывно пропускают анализируемую смесь, например, компонентов **А** и **В** в растворителе **Е** (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 **А** и **В** сначала из колонки будет вытекать растворитель **Е**, затем растворитель и менее сорбирующийся компонент **А**, а затем вместе с **А** и компонент **В**, и через некоторое время состав раствора при прохождении через колонку меняться не будет. Детектор фиксирует изменение концентрации на выходе из колонки. Зависимость концентрации **С** от объема пропущенного раствора **V** описывается интегральной хроматограммой (рис.3г).

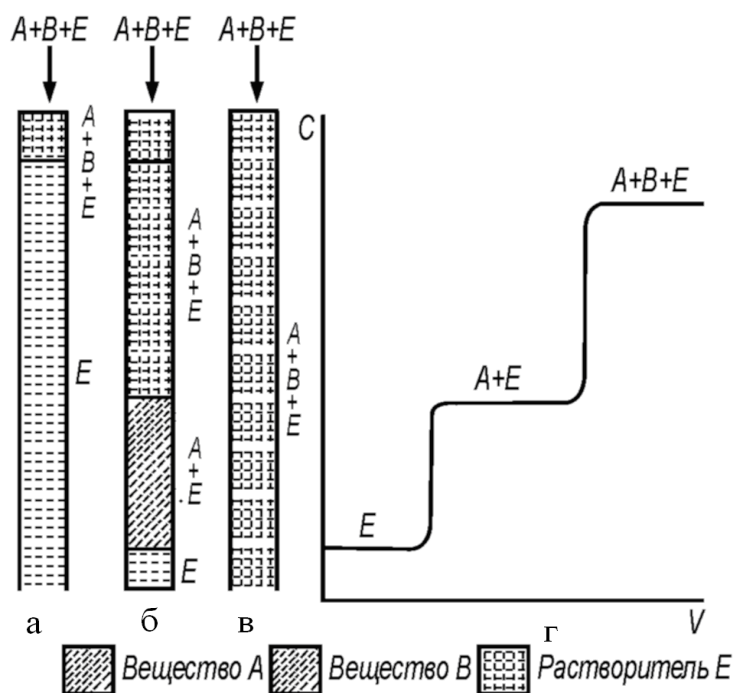


Рис. 3. Фронтальная хроматография:
а, б, в – ввод смеси веществ **А** и **В** в растворителе **Е** в хроматографическую колонку;
г – интегральная хроматограмма

Фронтальный метод используется сравнительно редко. 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.

3. 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.Мartiном 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. А движение вещества в подвижной фазе рассматривается как ряд ступенчатых

переходов из одной тарелки в другую. Эффективность разделения на 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 определяет высота H , эквивалентная теоретической тарелке. 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 с зависимостью 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.

4. МЕТОДЫ ХРОМАТОГРАФИИ

4.1. АДСОРБЦИОННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

4.1.1. Колоночная адсорбционная хроматография

В своей работе по разделению смеси растительных пигментов 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.

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.) (рис.4). 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.

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.

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

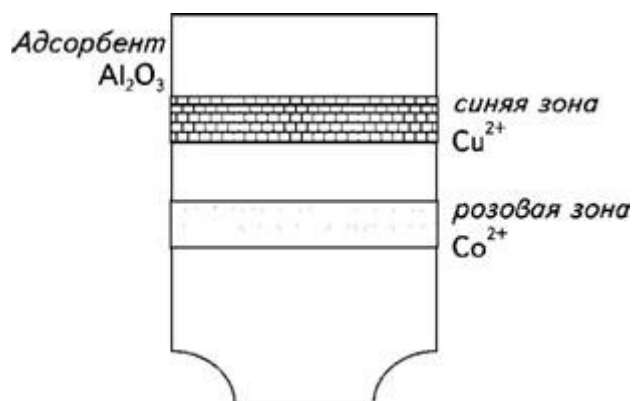


Рис. 4. Схема хроматографической колонки для разделения солей меди (II) и кобальта (II)

Четкие зоны компонентов при разделении смеси получают очень редко. Чаще всего эти зоны расположены очень близко друг к другу, и их приходится «раздвигать». Это достигается пропусканием через колонку подходящего растворителя, который десорбирует разделяемые компоненты с различной скоростью. В результате они с различной скоростью продвигаются вместе с растворителем, и разделение компонентов становится более четким вследствие разной скорости элюирования отдельных компонентов. При этом через колонку медленно, с постоянной скоростью 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.

4.1.2. 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 $20-30^\circ$). 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 верхней кромки пятна l к расстоянию от

линии старта до линии финиша растворителя **L** (рис. 5). Данные величины **R_f** сравнивают с величинами, полученными в опыте с чистым компонентом (веществом стандартом).

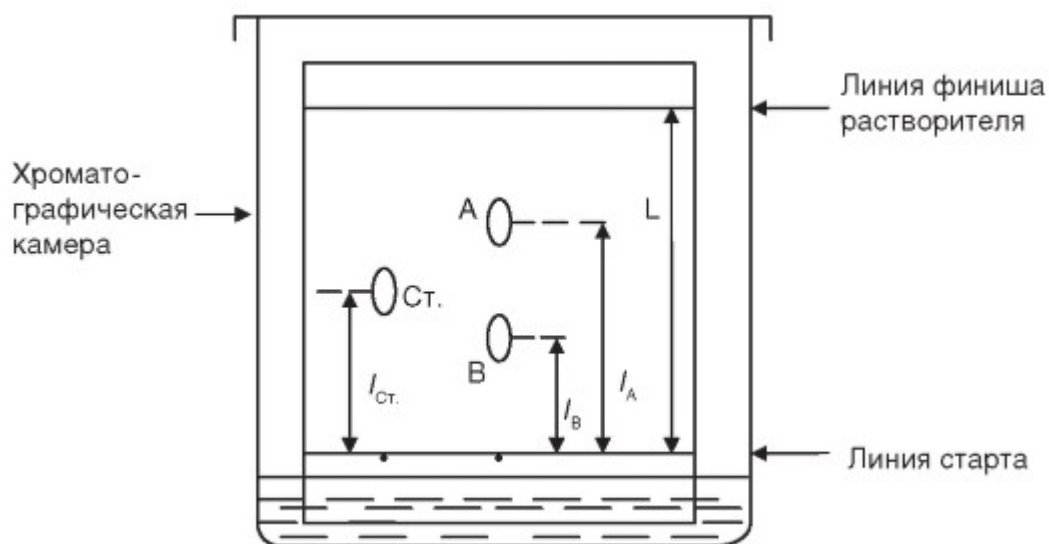


Рис.5. Хроматограмма смеси веществ **A** и **B** и вещества стандарта **Ст**

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.

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 нее 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.

4.2. РАСПРЕДЕЛИТЕЛЬНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

4.2.1. 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.

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

4.2.2. 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.

4.2.3. Бумажная хроматография

Бумажную хроматографию, которая относится к плоскостным видам хроматографии, выполняют следующим образом. 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. Полоску бумаги помещают в закрытую хроматографическую камеру (рис. 6). Погружают ее 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 появляется количество пятен, которое соответствует количеству разделяемых компонентов. Если разделяемые компоненты бесцветны или концентрация их мала, то хроматограмма оказывается не расцвеченной. В этом случае ее проявляют, обрабатывая соответствующим реактивом, с которым разделяемые компоненты образуют окрашенные или флуоресцирующие соединения.

Так, например, при разделении Cu^{2+} и Fe^{3+} в качестве реактива для проявления хроматограммы можно использовать раствор $\text{K}_4\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_4)_6$, который окрашивает пятно Cu^{2+} в красно-коричневый цвет, а Fe^{3+} — в синий.

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, извлекая компонент, и концентрацию его определяют соответствующим методом.

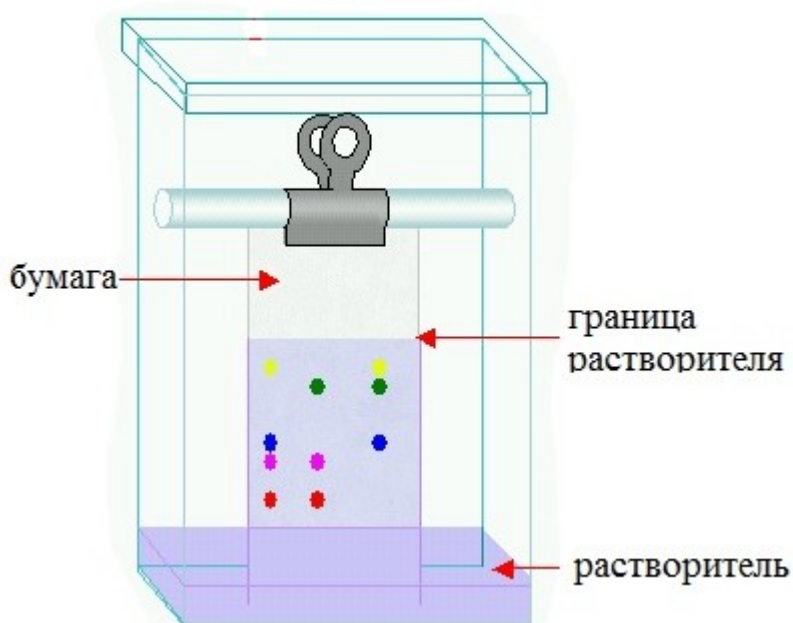


Рис. 6. Проведение бумажной хроматографии

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 двухмерные. В случае двухмерной хроматограммы после первого хроматографирования

вертикальным элюированием выполняют второе хроматографирование в направлении, перпендикулярном первому.

4.2.4. Тонкослойная распределительная хроматография

Тонкослойная распределительная хроматография - распределительная плоскостная хроматография, по характеру происходящих процессов аналогична адсорбционной ТСХ (см. 4.1.2). 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 , $CaCO_3$.

4.3. ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

4.3.1. 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:

– газо-твёрдофазную (газо-адсорбционную) 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 летучести, растворимости (или абсорбируемости) разделяемых компонентов. Через хроматографическую колонку быстрее движется тот компонент, растворимость которого в 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.

На рис.7 представлена принципиальная схема газового хроматографа.

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.

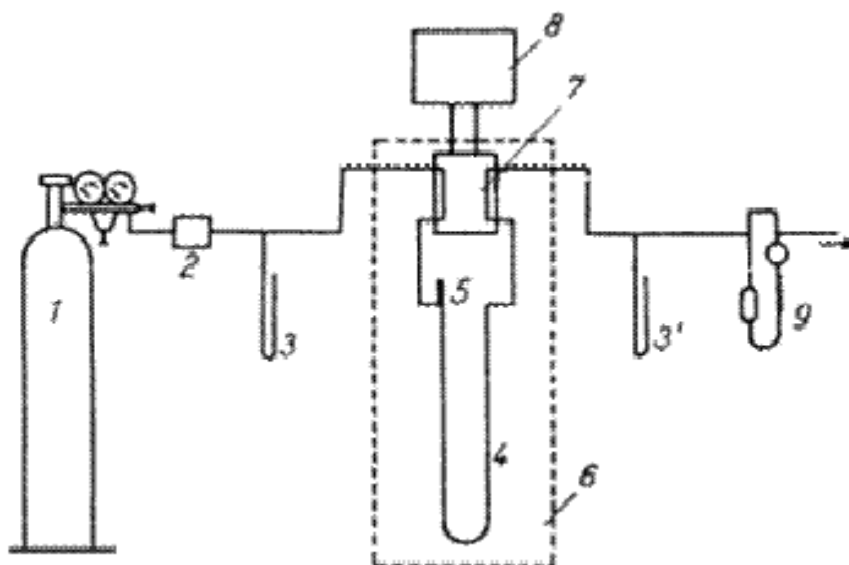


Рис. 7. Принципиальная схема газового хроматографа:

1 – баллон высокого давления с газом-носителем; 2 – стабилизатор потока; **3 и 3' – манометры**; 4 – **хроматографическая колонка**; 5 – испаритель; 6 – термостат; 7 – детектор; 8 – самописец; 9 – расходомер

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 и записывается на ленте регистратора (самописца) 8, т. е. получается дифференциальная хроматограмма – зависимость величины сигнала детектора $U, В$ от времени выхода компонента t , мин (рис.8).

Дозатор предназначен для введения точного количества образца пробы в хроматограф. В качестве дозатора газообразных проб используют специальное устройство – кран - дозатор, жидких – микрошприц (рис. 9). Объем вводимой пробы: от 0,1 мкл до 50 мкл для жидких и от 0,5 см³ до 20 см³ для газообразных проб.

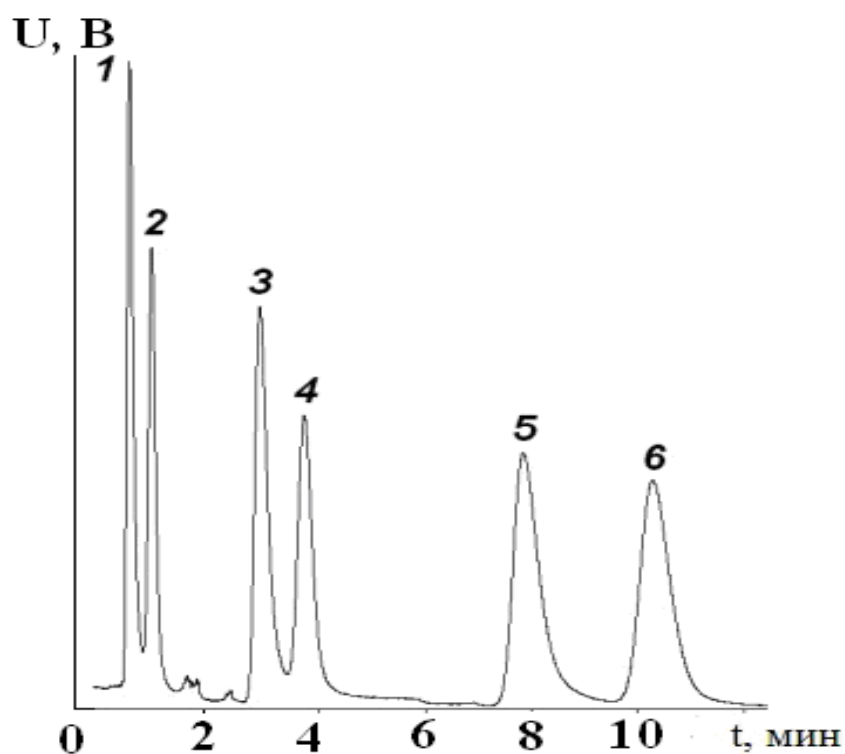


Рис. 8. Дифференциальная хроматограмма смеси насыщенных и ароматических углеводородов $C_6 - C_8$: 1- бензол, 2 – гексан, 3– толуол, 4 – гептан, 5 – этилбензол, 6 – октан

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. 9. Микрошприцы для дозирования жидких проб

Детектор хроматографа – это прибор, позволяющий фиксировать какое-либо физико-химическое свойство бинарной смеси: газ-носитель – компонент пробы. 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 изменении электрического сопротивления проводника в зависимости от теплопроводности газа (катарометр), и детектор по ионизации в пламени (ДИП), описанные в п.4.3.5.

В газовой хроматографии качественный и количественный анализ проводится по полученным на ленте самописца 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. 8).

4.3.2. Проявительный метод в газовой хроматографии

В газовой хроматографии обычно используют проявительный метод. Способ проведения анализа, вид и параметры полученной хроматограммы представлены на рис.10. Перед анализом предварительно заполненная сорбентом колонка промывается чистым растворителем (газом) **S** (рис.10а), 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. 10б) и вследствие движения газа **S** постепенно перемещаются вдоль слоя сорбента с различными для каждого компонента

скоростями, зависящими от коэффициента распределения **K**, определяющего степень удержания. В результате компоненты анализируемой смеси разделяются на зоны (рис. 10в), которые, в свою очередь, продвигаются по колонке со скоростями, зависящими от скорости потока газа-носителя, температуры и других факторов. Хорошо сорбирующееся вещество, например, **A**, постоянно отстает от зоны хуже сорбирующегося вещества **B** (рис. 10г) 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 зону детектирования (рис. 10д, 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. 10ж).

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 **O** 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 половина его высоты (**μ_{0,5}**).

Отрезок 0, 7 соответствует удерживаемому объему (**V_A**) вещества **A**, 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 **A**. Соответственно отрезок 0, 10 определяет удерживаемый объем вещества **B** (**V_B**).

Время **t_i**, соответствующее удерживаемому объему **V_i**, называется временем удерживания.

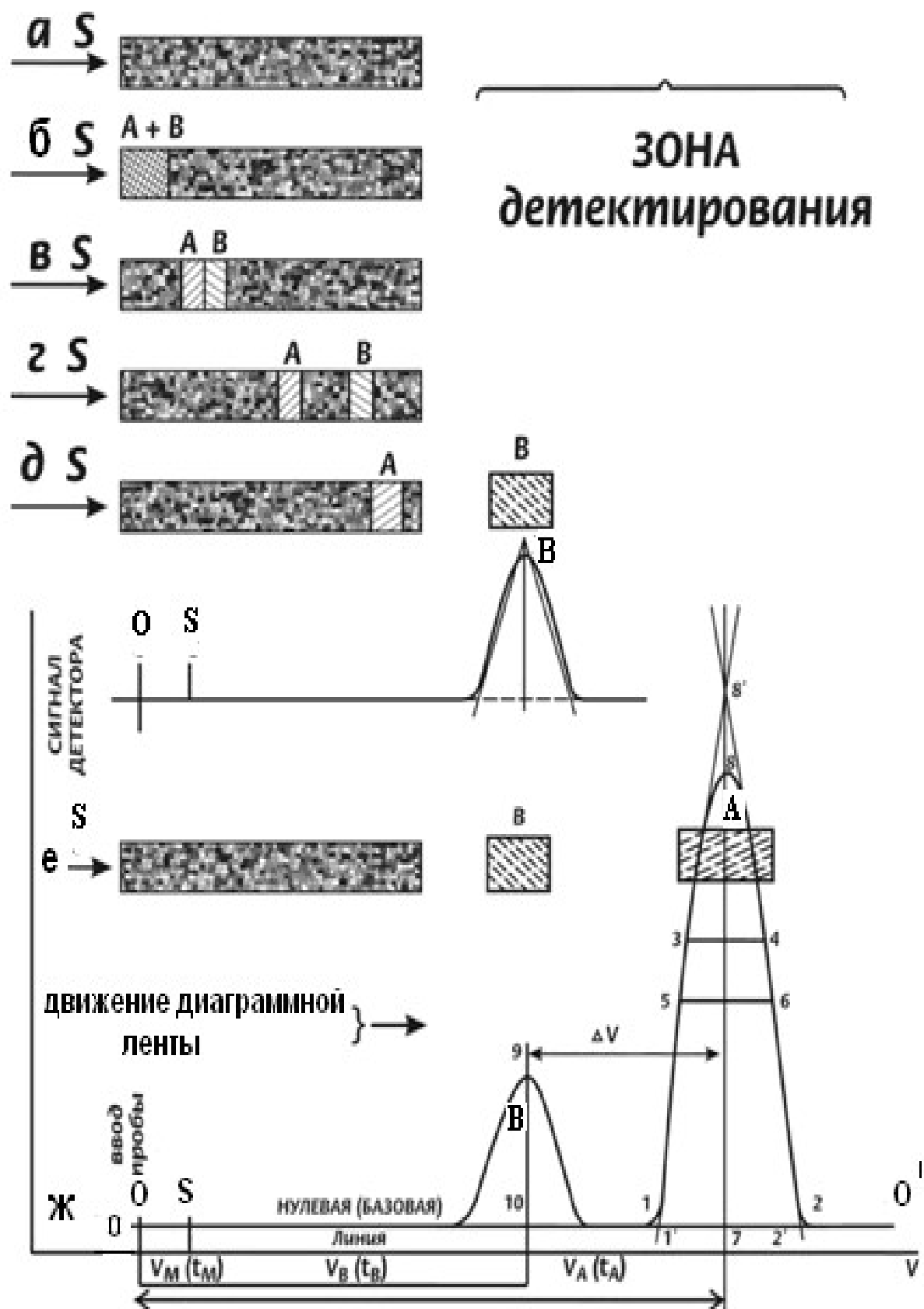


Рис. 10. Параметры выходной кривой проявительного анализа

Объем удерживания находят по уравнению:

$$V_i = t_i \cdot F_{об},$$

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:

$$F_{об} = F_{изм} \frac{T_K}{T_{cp}} \left(1 - \frac{P_{H_2O}}{P_B} \right),$$

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_{cp} – 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.

4.3.3. 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);

μ – 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, см;

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

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

В большинстве случаев колонки, имеющие около 1000 теоретических тарелок и ВЭТТ 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.11 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.

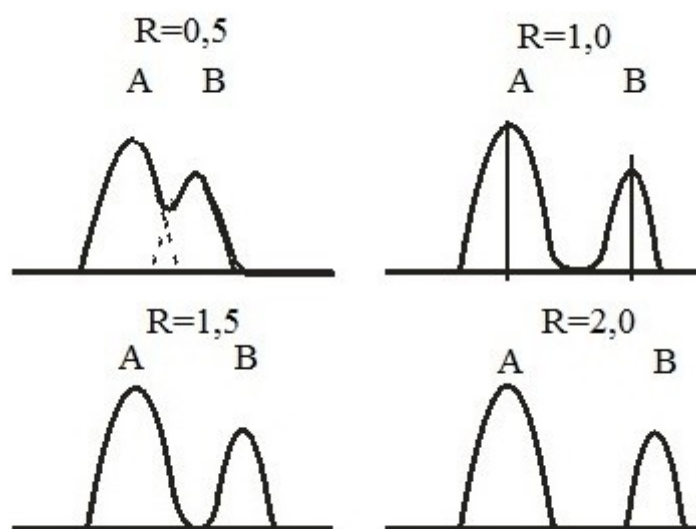


Рис.11. Хроматограммы с различными степенями разрешения

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 .

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. Таким образом, селективность является просто мерой относительного удерживания или относительной подвижности двух веществ (рис.12).

Селективность характеризуется несколькими критериями, в том числе, критерием чистоты фракций (η), 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).

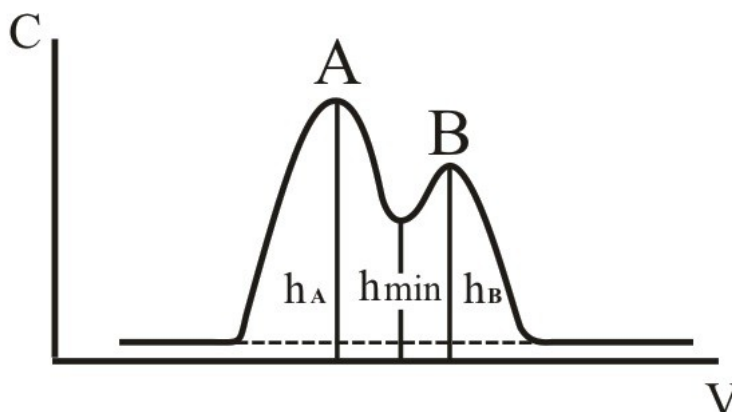


Рис.12. Определение селективности сорбента

Изменение длины хроматографической колонки является наиболее распространенным способом повышения селективности.

4.3.4. 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) способностью 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 °С 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 твердого носителя.

4.3.5. Хроматографические детекторы

Детектор по теплопроводности (катарометр) применяют для анализа большого количества веществ. Он прост, 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.

Для получения дифференциального сигнала через сравнительную камеру катарометра 7 (см. рис.7) проходит чистый газ-носитель, поступающий в колонку 4, через другую (измерительную) – газ, выходящий из неё. Когда нагретые чувствительные элементы в сравнительной и измерительной камерах 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.

Колонки и детектор помещены в термостат 6, температура которого задается на блоке управления.

Другим распространенным детектором является пламенно-ионизационный детектор. 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. 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.

Жидкие пробы обычно вводят через изолированно обогреваемый испаритель 5 (см. рис. 7), 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. В испаритель жидкие пробы вводят специальным микрошприцем (см. рис. 9), позволяющим вводить пробы объемом от 0,1 до 50 мкл.

4.3.6. Качественный хроматографический анализ (идентификация компонентов)

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 (хроматомасс-спектрометрии), или специфических детекторов (электронного захвата, термоионный, пламенно-эмиссионный, кулонометрический).

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

4.3.7. 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 μ ;
- 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. 10), на основание μ и т.п. При этом $1/2 h \mu = 0,80 S_{\text{ист}}$; $h \mu_{0,5} = 0,90 S_{\text{ист}}$;

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

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

На практике $S_{\text{ист}}$ предпочитают определять по формулам: $S_{\text{ист}} = h \mu_{0,5}$ (рис. 13в) или $S_{\text{ист}} = h \mu_{0,368}$, 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. 13а), 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 проекцию его полуширины на эту линию, как показано на рис. 13б, г :

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

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

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

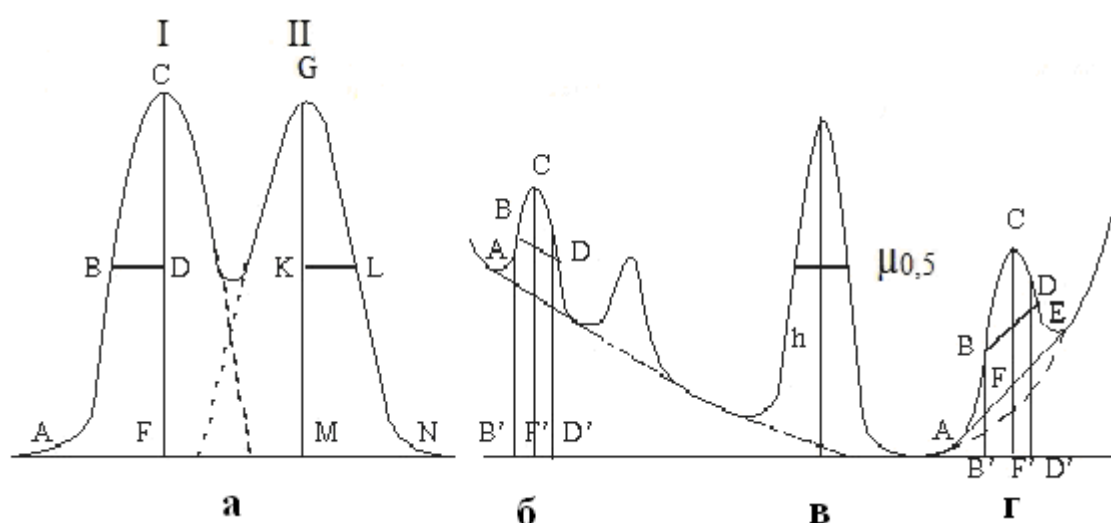


Рис. 13. Графическое определение площади пиков

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, см³ (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_i – нормировочный множитель.

При работе с детектором по теплопроводности и использовании в качестве газа-носителя **He** и **N₂** f_i не учитывается, если определяемая смесь содержит **C₁₀** и более атомов углерода.

Метод нормализации не требует точного знания количества вводимой пробы, но необходимо знать природу всех компонентов смеси (иначе не определить f_i) 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 q_{cm} , q_{cm} – количества стандартного вещества и анализируемой смеси (г, моль, мл), отобранные и смешанные для анализа.

4.4. 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.

Разработка этого метода обусловлена, во-первых, необходимостью анализа высококипящих (при ~ 400 °С) 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 с малым внутренним диаметром (2–6 мм) и мелкозернистые поверхностно-пористые адсорбенты (ППА), обеспечивающие не только

высокую селективность, эффективность, но и достаточную скорость процесса хроматографирования.

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, нижний предел обнаружения вещества (10^{-9} – 10^{-10} г), высокую эффективность колонки, возможность разделять любые вещества (кроме газов).

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.

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

Хроматографические пики записываются электронным автоматическим потенциометром.

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

4.5. ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФИЯ

Гель-хроматография (или гель-проникающая, ситовая, гельфльтрационная и т. д.) — это один из вариантов жидкостной хроматографии, в котором растворенное вещество распределяется между свободным растворителем, окружающим гранулы геля, и растворителем, находящимся внутри гранул.

В отличие от распределительной, в гель-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.

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. 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 – колонном 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.

4.6. ИОНООБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

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.

Обмен ионами на них происходит в эквивалентных количествах и в большинстве случаев является обратимым. Иониты — это твердые вещества минерального или органического происхождения, практически не растворимые в воде и органических растворителях, но способные к набуханию в них.

По характеру ионогенных групп иониты делятся на катиониты, способные к обмену катионов, и аниониты, способные к обмену анионов. Существуют также иониты, обладающие амфотерными свойствами,— амфолиты, которые при различных значениях pH могут осуществлять обмен катионов и анионов.

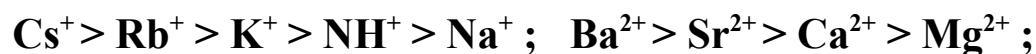
Катиониты содержат обычно следующие функциональные химически активные группы, обменным ионом в которых является водород,

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.

Аниониты содержат следующие функциональные группы: первичные $(-\text{NH}_2)$, вторичные $(=\text{NH})$, третичные $(\equiv\text{N})$ аминогруппы и четвертичные $(-\text{N}^+\text{R}_3)$ аммониевые группы.

Сорбируемость ионов возрастает от одновалентных к двух- и трехвалентным. Приблизительную закономерность сорбируемости ионов с одинаковой валентностью можно представить в виде «сорбционных рядов»:



Эти ряды изменяются в зависимости от природы сорбента, хроматографируемых веществ, растворов, применяемых при элюировании, и внешних условий эксперимента.

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 SO_4^{2-} в виде BaSO_4 мешают Fe^{3+} , Al^{3+} , Cr^{3+} вследствие их значительного осаждения. Если раствор предварительно пропустить через сильнокислотный катионит, то указанные катионы останутся в колонке, а свободная H_2SO_4 перейдет в раствор, в котором концентрацию SO_4^{2-} можно определить с большой точностью.

Аналогичным образом поступают при гравиметрическом определении Fe^{3+} , Al^{3+} в виде гидроксидов. Мешающие их определению PO_4^{3-} -ионы удаляют методом ионного обмена.

4.7. 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 Cl^- , Br^- , I^- , через колонку с сорбентом, пропитанным предварительно раствором AgNO_3 , образуются три зоны — соответственно AgCl , AgBr , AgI .

Причем разделение тем эффективнее, чем больше различаются осадки по растворимости.

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.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Привести пример использования хроматографического анализа при определении компонентов окружающей среды.
2. Объяснить принцип метода хроматографического анализа.
3. Представить классификацию хроматографических методов в зависимости от природы подвижной и неподвижной фазы.
4. Представить классификацию хроматографических методов в зависимости от аппаратного оформления.
5. Представить классификацию хроматографических методов в зависимости от способа проведения процесса хроматографирования.
6. Дать теоретическое обоснование метода газо-жидкостной хроматографии.
7. Представить параметры выходной кривой в методе газо-жидкостной хроматографии.
8. Описать методы качественного анализа по параметрам удерживания в газовой хроматографии.
9. Описать методы количественного анализа газовой хроматографии.

10. Представить способы оценки эффективности хроматографических колонок.

11. Представить способы оценки селективности и разделительной способности хроматографических колонок.

12. Дать принципиальную схему газового хроматографа и технику выполнения анализа.

13. Перечислить вещества, используемые в качестве неподвижных фаз, требования к ним.

14. Описать принцип получения аналитического сигнала.

15. Привести пример хроматографического детектора, описать принцип действия детектора по теплопроводности.

16. Представить методы практического расчёта хроматограмм.

17. Дать теоретическое обоснование метода ионообменной хроматографии.

18. Представить классификацию ионообменных материалов.

19. Представить классификацию методов ионообменной хроматографии.

20. Дать объяснение элюентному методу в ионообменной хроматографии.

21. Дать объяснение фронтальному методу в ионообменной хроматографии.

22. Дать объяснение вытеснительному методу в ионообменной хроматографии.

23. Привести пример разделения смеси катионов на катионитах.

24. Привести пример разделения смеси анионов на анионитах.

25. Описать аппаратное оформление и технику выполнения анализа методом ионообменной хроматографии.

26. Представить классификацию методов бумажной хроматографии.

27. Дать теоретическое обоснование метода распределительной и осадочной хроматографии.

28. Представить варианты качественного анализа в бумажной хроматографии.

29. Описать приемы, используемые при проведении количественного анализа в методе бумажной хроматографии.

30. Описать аппаратное оформление и технику выполнения анализа методом бумажной и тонкослойной хроматографии.

ТЕСТЫ ДЛЯ ПРОВЕРКИ ЗНАНИЙ ПО ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДАМ АНАЛИЗА

Тест № 1

Как классифицируются методы хроматографии по агрегатному состоянию фаз?

Выберите один ответ:

- 1) адсорбционная, осадочная, комплексообразовательная, тонкослойная;
- 2) жидкостно-распределительная, газо-распределительная, газо-адсорбционная, жидкостно-адсорбционная;
- 3) адсорбционно-газовая, жидкостная, ионообменная, газо-жидкостная;
- 4) газовая, жидкостная, газо-жидкостная, газо-адсорбционная.

Тест № 2

Укажите недостатки вытеснительного анализа.

Выберите один ответ:

- 1) компоненты разбавляются промывающим раствором, недостаточное полное разделение зон компонентов смеси;
- 2) необходимо регенерировать колонку;

- 3) недостаточно полное разделение зон компонентов смеси, невозможно выделить компоненты в чистом виде;
- 4) необходимо регенерировать колонку с сорбентом в более жестких условиях, чем в фронтальном анализе, зоны разделяемых компонентов не разделены полностью.

Тест № 3

Можно ли использовать в газовой хроматографии в качестве неподвижной фазы ионообменные смолы?

Выберите один ответ:

- 1) можно, так как они обладают высокой удельной поверхностью и однородны по составу и строению;
- 2) использование ионообменных материалов зависит от условий проведения анализа;
- 3) нельзя, так как они не термостойки и обладают каталитическими свойствами.

Тест № 4

В чем состоит сущность методов хроматографии?

Выберите один ответ:

- 1) разделение гомогенных многокомпонентных смесей в потоке подвижной фазы;
- 2) перемещение зоны вещества вдоль слоя неподвижной фазы, связанном с многократным повторением актов сорбции и десорбции;
- 3) селективное разделение смесей веществ между подвижной и неподвижной фазами;
- 4) различная сорбируемость компонентов смеси, находящихся в подвижной фазе, на неподвижной фазе, в динамических условиях сорбции.

Тест № 5

Укажите виды ионообменной хроматографии.

Выберите один ответ:

- 1) анионитная, катионитная, полифункциональная;
- 2) элюентная, вытеснительная, фронтальная;
- 3) элюентная, проявительная, фронтальная.

Тест № 6

Каковы области применения ионообменной хроматографии?

Выберите один ответ:

- 1) разделение неполярных жидких компонентов и определение состава смесей;
- 2) определение следовых количеств веществ, количественное определение состава смесей;
- 3) качественное определение катионов и анионов в растворах электролитов;
- 4) определение общей концентрации солей в растворе, очистка растворов от примесей, концентрирование при определении следовых количеств веществ.

Тест № 7

Каковы виды тонкослойной хроматографии по технике выполнения?

Выберите один ответ:

- 1) фронтальная, вытеснительная, элюентная;
- 2) вытеснительная, восходящая, фронтальная, нисходящая;
- 3) проявительная, вытеснительная, фронтальная;
- 4) восходящая, двумерная, канальная.

Тест № 8

Чем отличается распределительная газовая хроматография (РХ) от адсорбционной (АХ)?

Выберите один ответ:

- 1) РХ дает возможность точнее разделить смеси веществ;
- 2) в РХ газы поглощаются пленками различных жидкостей, а в АХ - твердым сорбентом;
- 3) различий нет;
- 4) в РХ используют более низкие температуры колонки.

Тест № 9

Назовите основные детекторы, применяемые в газовой хроматографии.

Выберите один ответ:

- 1) катарометр, дифференциальный детектор, интегральный детектор, термистор, термопара;
- 2) катарометр, ДИП, ДЭЗ, ДПФ, ДП;
- 3) рефрактометрический и спектрофотометрический детекторы.

Тест № 10

Можно ли методом газовой хроматографии исследовать газообразные и твердые вещества?

Выберите один ответ:

- 1) газообразные вещества можно, а твердые нельзя;
- 2) можно исследовать любые газообразные и твердые вещества;
- 3) можно исследовать любые газообразные вещества, а твердые – только летучие;
- 4) нельзя исследовать ни газообразные, ни твердые вещества.

Тест № 11

Анализ бесцветных веществ в тонкослойной хроматографии проводят следующим образом:

- 1) проявляют реагентами, дающими окрашенные соединения с компонентами смеси;
- 2) обугливают органические вещества термообработкой;
- 3) наблюдают люминесценцию пятен при облучении УФ светом.

Выберите один ответ:

1. 1,2; 2. 1,2,3; 3. 2,3; 4. 1,3.

Тест № 12

Площади хроматографических пиков принято определять следующим образом:

- 1) умножением полувысоты треугольника, образованного основанием и касательными к ветвям пика, на основание;
- 2) умножением высоты пика на его полуширину;
- 3) умножением высоты пика на ширину, определяемую в точках перегиба пика.

Выберите один ответ:

1. 1,2; 2. 1,2,3; 3. 2,3.

Тест № 13

От каких факторов зависит скорость перемещения в бумажной хроматографии?

Выберите один ответ:

- 1) от природы бумаги и метода проявления пятна;
- 2) от применяемого растворителя и давления его паров;
- 3) от природы вещества и состава применяемого растворителя;
- 4) от концентрации определяемого вещества и температуры.

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.

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.

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

Карпов Ю.А., Савостин А.П. Методы пробоотбора и пробоподготовки. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2003. – 243 с.

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

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. История хроматографии.....	3
2. Классификация хроматографических методов	4
3. Теория хроматографического разделения.....	8
4. Методы хроматографии.....	10
4.1. Адсорбционная хроматография	10
4.1.1. Колоночная адсорбционная хроматография.....	10
4.1.2. Тонкослойная адсорбционная хроматография.....	12
4.2. Распределительная хроматография.....	16
4.2.1. Принцип метода распределительной хроматографии	16
4.2.2. Колоночная распределительная хроматография	16
4.2.3. Бумажная хроматография	17

4.2. 4. Тонкослойная распределительная хроматография	20
4.3. Газовая хроматография	20
4.3.1. Принцип метода газовой хроматографии	20
4.3.2. Проявительный метод в газовой хроматографии	24
4.3.3. Основные критерии хроматографического разделения.....	27
4.3.4. Требования к неподвижной фазе.....	31
4.3.5. Хроматографические детекторы.....	33
4.3.6. Качественный хроматографический анализ (идентификация компонентов).....	35
4.3.7. Количественный хроматографический анализ.....	36
4.4. Высокоэффективная жидкостная хроматография.....	40
4.5. Гель-хроматография	41
4.6. Ионообменная хроматография	43
4.7. Осадочная хроматография	45
Вопросы для самостоятельной работы	46
Тесты для проверки знаний по хроматографическим методам анализ.....	48
Библиографический список.....	53

Учебное издание

Ирина Николаевна Дмитриевич
Галина Федоровна Пругло
Олеся Вячеславовна Федорова
Алексей Алексеевич Комиссаренков

Физико-химические методы анализа

Часть III

Хроматографические методы анализа

Учебное пособие
для студентов заочной формы обучения

Редактор и корректор Н.П. Новикова

Техн.редактор Л.Я Титова

Темплан 2014, поз.133

Подп. к печати 09.12.14. Формат 60X84/16. Бумага тип.№ 1.

Печать офсетная. Уч.- изд. л. 3,5; усл. печ. л. 3,5.

Изд. № 133. Тираж 100 экз. Цена «С». Заказ

Ризограф Санкт-Петербургского государственного технологического
университета растительных полимеров, 198095, СПб., ул. Ивана Черных, 4.