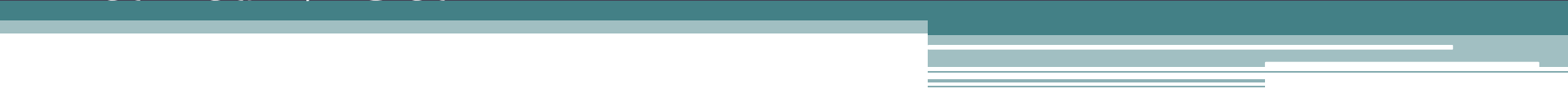


Хроматографические методы анализа

A series of horizontal lines in teal and light blue colors, of varying lengths, extending from the left edge of the slide towards the right, positioned below the title.

Ионообменная хроматография

- Метод основан на использовании явления ионного обмена между неподвижной твердой фазой — ионообменником (сорбентом) и подвижной жидкой фазой — раствором, содержащим ионы, обмениваемые с ионами сорбента.
- Ионный обмен — это гетерогенный процесс, при котором сорбент и находящийся с ним в контакте раствор обратимо и стехиометрически обменивается одноименно (одного и того же знака) заряженными ионами.

Сорбенты

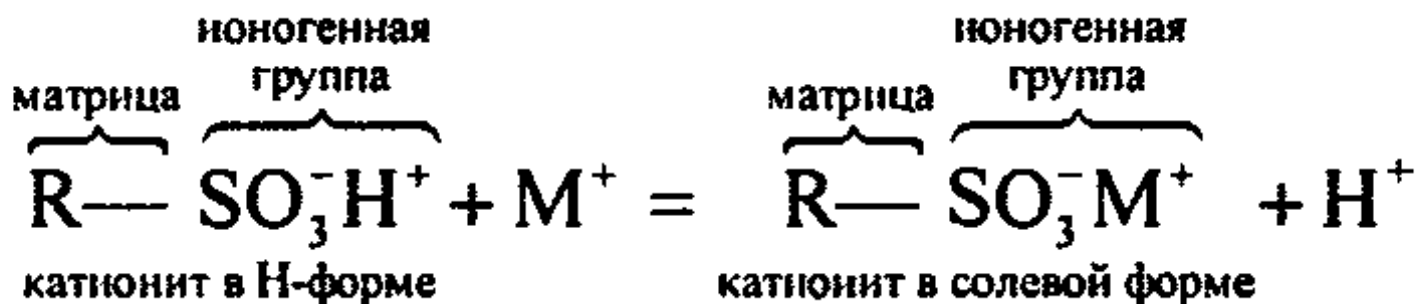
- В качестве сорбентов используют ионообменники — иониты, представляющие собой обычно нерастворимые в воде твердые фазы.
- Иониты состоят из матрицы, в которой распределены ионогенные группы, включающие фиксированные, прочно связанные в матрице, ионы, и менее прочно связанные противоионы, способные к отщеплению от ионита и к переходу в раствор.
- Противоионы могут обмениваться с одноименными (катионы — с катионами, анионы — с анионами) ионами раствора.

Иониты

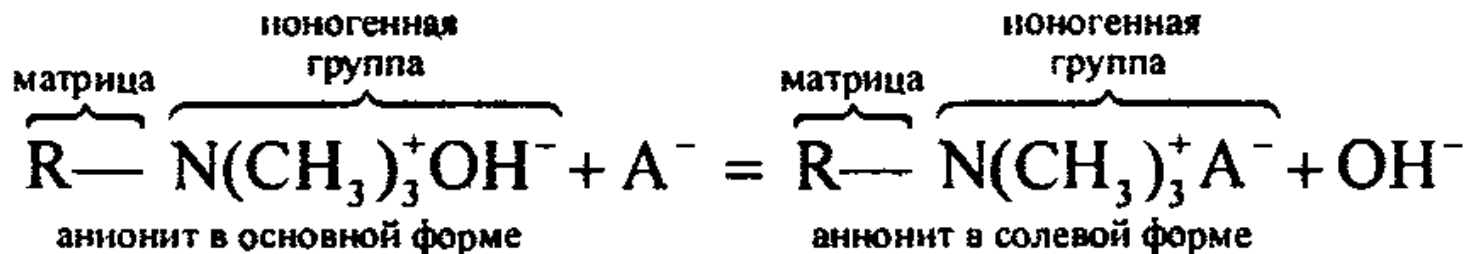
- **Катиониты** (катионообменники) - обмениваются катионами раствора.
- **Аниониты** (анионообменники) - обмениваются анионами раствора.
- **Амфотерные иониты** (амфолиты), способные обмениваться с раствором как катионами, так и анионами.
- Разделение ионов осуществляется за счет различной способности разделяемых ионов к ионному обмену с ионитом.

Реакции ионного обмена

- Катионный обмен



- Анионный обмен



Общая характеристика ионитов

- Иониты, могут быть неорганическими или органическими, природными или синтетическими. Наибольшее распространение получили синтетические ионообменные смолы.
- Синтетические ионообменные смолы получают поликонденсацией и полимеризацией мономеров стирола, паразамещенных фенолов и других соединений.
- Сорбенты на основе ионообменных смол обладают высокой способностью к ионному обмену, химической стойкостью, большой механической прочностью.

Обменная емкость ионитов (удельная емкость)

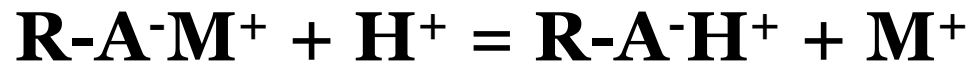
- Характеризует способность ионитов к ионному обмену. Она определяется числом ммоль обмениваемых ионов, приходящихся на 1 г сухого ионита или на 1 мл (1 см³) набухшего ионита.
- Объемная емкость зависит от природы и числа ионогенных групп в ионите, их способности к ионизации, температуры и некоторых других факторов. Для наиболее распространенных ионитов объемная емкость равна 2—10 ммоль/г.

Регенерация ионитов

- После завершения ионного обмена и разделения ионов иониты можно регенерировать — снова перевести в исходное состояние, в котором они находились до начала проведения ионного обмена. Регенерация ионитов основана на обратимости и стехиометричности ионного обмена.
- Регенерация позволяет многократно использовать ионообменники для проведения ионного обмена.

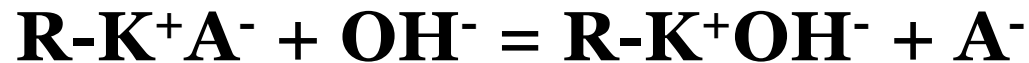
Регенерация ионитов

- *Регенерация катионитов:*

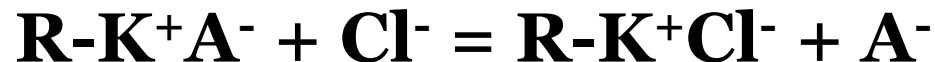


- *Регенерация анионита:*

А) Обработка раствором основания



Б) Обработка раствором хлоридов



Методы ионообменной хроматографии

- В ионообменной хроматографии ионный обмен проводят в хроматографических колонках, представляющих собой стеклянные трубки с краном в нижней части (иногда — это обычные стеклянные бюретки).
- Наполненную ионитом колонку промывают дистиллированной водой до нейтральной реакции вытекающей жидкости — элюата.
- В колоночной ионообменной хроматографии применяют методы элюентной (проявительной) и вытеснительной хроматографии.
- Разделение ионов осуществляется вследствие их неодинакового сродства к сорбенту, различий констант ионного обмена, коэффициентов распределения и связанной с этим разности скоростей перемещения зон, содержащих соответствующие ионы, при их элюировании подвижной фазой.
- Глубина и скорость ионообменного разделения ионов зависят от природы самих ионов, сорбента, подвижной фазы, температуры, размеров колонки, физического состояния ионита (размер зерен, предварительная подготовка, степень набухаемости), скорости перемещения подвижной фазы.

Применение ионообменной хроматографии

- Разделение электролитов
- Очистка растворов электролитов от примесей
- Концентрирование разбавленных растворов электролитов
- Количественное определение электролитов
- Определение лекарственных препаратов

Газовая хроматография

- *Газовая хроматография* — процесс разделения компонентов смеси, основанный на различии в равновесном распределении компонентов между двумя фазами — газом-носителем (подвижная фаза) и либо твердой фазой (**газоадсорбционная хроматография**), либо жидкостью, нанесенной в виде тонкой пленки на поверхность твердого носителя или стенки хроматографической колонки (жидкая неподвижная, жидкая стационарная фаза) — **газожидкостная или распределительная хроматография (ГЖХ)**.

Сущность метода ГЖХ

- Анализируемая смесь (обычно — раствор) летучих компонентов переводится в парообразное состояние и смешивается с потоком инертного газа-носителя, образуя с ним подвижную фазу — ПФ. Эта смесь проталкивается далее новой порцией непрерывно подаваемого газа-носителя и попадает в хроматографическую колонку, заполненную неподвижной (стационарной) жидкой фазой — НФ. Разделяемые компоненты распределяются между ПФ и НФ в соответствии с их коэффициентами распределения

Сущность метода ГЖХ

- Поток газа-носителя увлекает с собой разделяемую парообразную смесь вдоль хроматографической колонки, так что процессы сорбция $\leftrightarrow$ десорбция разделяемых компонентов повторяется многократно, и каждый раз в системе устанавливается динамическое равновесие разделяемых веществ между ПФ и НФ. Процессы сорбция $\leftrightarrow$ десорбция совершаются по всей длине хроматографической колонки до тех пор, пока пары разделяемых веществ не покинут колонку вместе с газом-носителем.

Сущность метода ГЖХ

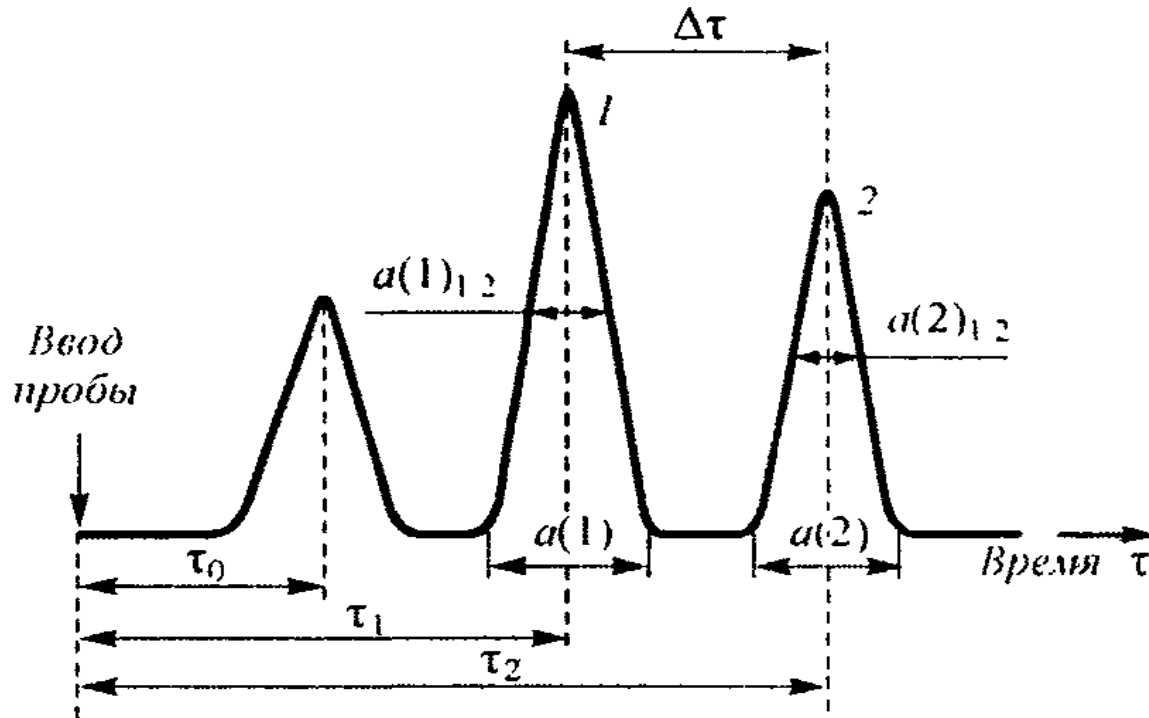
- Сродство различных разделяемых веществ к НФ различно, то в процессе сорбционных — десорбционных переходов они задерживаются в НФ неодинаковое время. Чем больше его коэффициент распределения, тем дольше вещество находится в НФ, тем позже покидает хроматографическую колонку. В конце концов из хроматографической колонки вместе с газом-носителем выходят зоны (объемы) парообразных хроматографируемых веществ, разделенных полностью или частично.
- Пары разделенных компонентов вместе с газом-носителем поступают в детектор хроматографа, генерирующий электрический сигнал — тем больший, чем выше концентрация компонента в парогазовой смеси. Электрический сигнал усиливается и фиксируется регистратором хроматографа в виде хроматограммы.

Хроматограмма

- *Хроматограмма* — это зарегистрированная во времени последовательность показаний регистратора.

Каждому разделенному компоненту смеси соответствует свой пик на хроматограмме. По оси абсцисс откладывается время (или расстояние), по оси ординат — величина аналитического сигнала, которая тем больше, чем выше содержание данного компонента в разделяемой смеси.

Хроматограмма



τ_0 — время выхода несорбируемого компонента: τ_1 — время удерживания компонента 1: τ_2 — время удерживания компонента 2: $a(1)$ и $a(2)$ — ширина пиков компонентов 1 и 2: $a(1)_{1/2}$ и $a(2)_{1/2}$ — полуширина пиков компонентов 1 и 2. $\Delta\tau$ — разделение пиков

Параметры удерживания

- **Время удерживания** — качественная характеристика каждого компонента; измеряется от момента ввода пробы до момента выхода максимума (вершины) пика. Зависит от природы хроматографируемого вещества и газа-носителя, скорости прохождения ПФ через хроматографическую колонку, от природы и массы НФ, температуры, длины колонки. Чем выше коэффициент распределения хроматографируемого вещества, тем больше и его время удерживания.

- **Время выхода τ_0 несорбируемого компонента** определяется соотношением:

$$\tau = L/v$$

где L — длина хроматографической колонки, v — линейная скорость движения потока газа-носителя.

- **Исправленное время удерживания** - _ это время, в течение которого данный компонент находится в НФ. Исправленное время удерживания пропорционально коэффициенту распределения данного компонента разделяемой смеси:

$$\tau_1' = \tau_1 - \tau_0, \tau_2' = \tau_2 - \tau_0$$

Относительное время удерживания τ_r' и относительное исправленное время удерживания τ_r :

$$\tau_r' = \frac{\tau}{\tau_s}, \quad \tau_r = \frac{\tau - \tau_0}{\tau_s - \tau_0},$$

τ — время удерживания данного вещества,

τ_s — время удерживания стандартного вещества (стандарта).

τ_0 — время выхода несорбируемого компонента при хроматографировании веществ в одних и тех же условиях.

- Расстояние удерживания l , пропорциональное времени удерживания, т.е. расстояние (например, в мм) на хроматограмме от точки, соответствующей моменту ввода пробы, до абсциссы, отвечающей положению максимума (вершины) пика.
- Объем удерживания (удерживаемый объем), равный объему ПФ, который выносит из колонки все данное вещество. Объем удерживания V зависит от скорости u движения ПФ :

$$V = \tau u$$

- **Коэффициент удерживания (замедления) R** — это отношение скорости перемещения w данного компонента вдоль хроматографической колонки к скорости v движения потока газа-носителя:

$$R = w / v$$

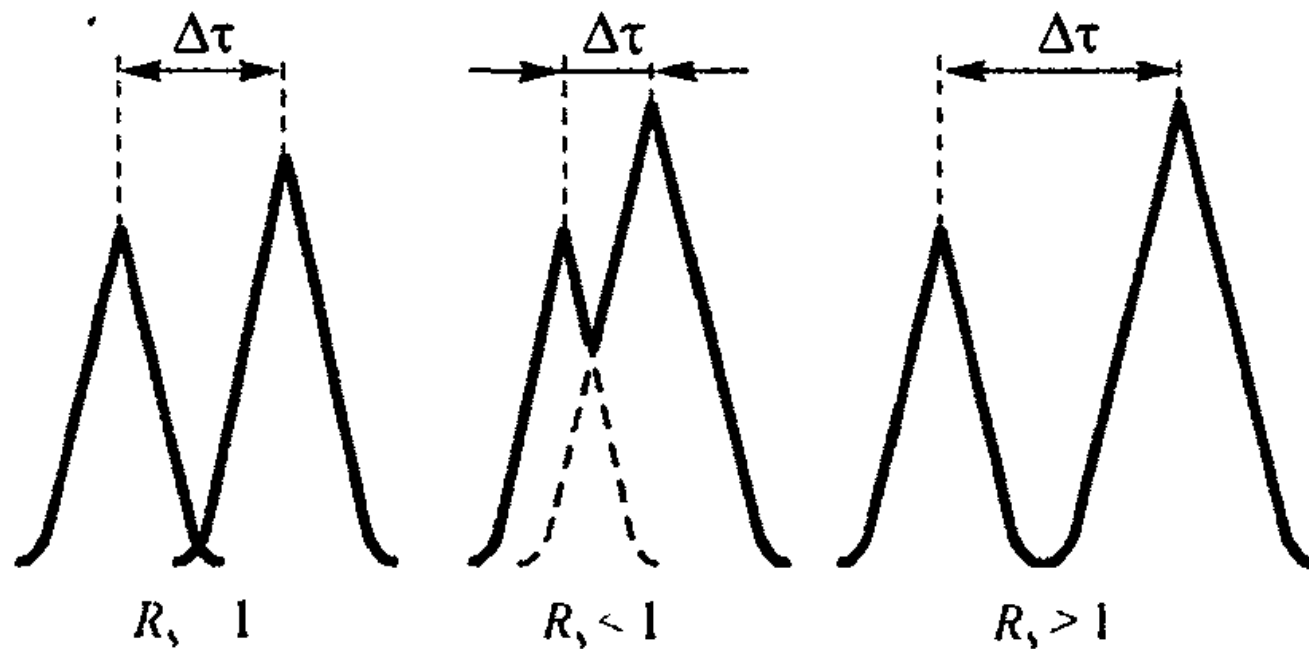
- **Коэффициент емкости k** равен отношению исправленного времени удерживания данного компонента к τ_0 :

$$k = (\tau - \tau_0) / \tau_0$$

Параметры разделения

- К параметрам разделения двух веществ относятся **степень** и **коэффициент разделения**.
- **Эффективность хроматографической колонки** характеризуется числом теоретических тарелок и величиной, эквивалентной теоретической тарелке.
- **Степень разделения R** (разрешение пиков) количественно характеризует разделение двух пиков на хроматограмме.

$$R_s = \frac{2\Delta\tau}{a(1) + a(2)} = \frac{\Delta\tau}{a(1)_{1/2} + a(2)_{1/2}}$$



- **Коэффициент разделения (α)** характеризует селективность НФ по отношению к двум данным компонентам и относительное расположение разделяемых пиков на хроматограмме.

$$\alpha = \frac{\tau_2 - \tau_0}{\tau_1 - \tau_0} = \frac{K_2}{K_1},$$

$$R_s = \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{n^{1/2}}{4},$$

Число теоретических тарелок n

- Участок зоны внутри колонки, на котором устанавливается равновесное распределение данного вещества между ПФ и НФ (сорбция $\leftrightarrow$ десорбция), называют теоретической тарелкой. Разделяемое вещество как бы распределяется по этим тарелкам.
- Чем больше число теоретических тарелок n , тем эффективнее работа хроматографической колонки.
- Число теоретических тарелок может составлять от нескольких сотен до нескольких тысяч.

$$n = 5,545(\tau / a_{1/2})^2,$$

- **Высота, эквивалентная теоретической тарелке — ВЭТТ (Н).** Чем меньше величина ВЭТТ, тем менее размыта зона (полоса) отделяемого компонента при его выходе из колонки.

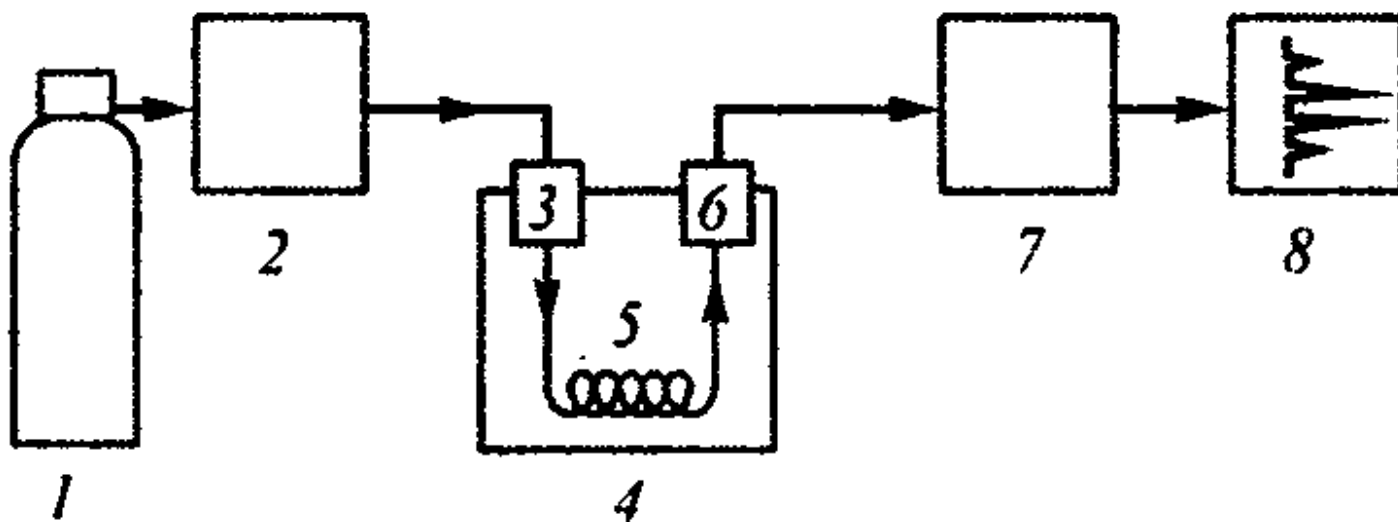
$$H = L / n$$

Практика метода

- Хроматографирование проводят на газовых (газожидкостных) хроматографах различной конструкции.
- Газохроматографические колонки представляют собой металлические или стеклянные трубки (прямые, изогнутые, спиральные) с внутренним диаметром 0,1—5 мм и длиной до нескольких метров. Они бывают двух типов — напорные (насадочные) и капиллярные.
- Напорные колонки — металлические (часто — из нержавеющей стали) или стеклянные трубки длиной 1—5 м.
- Капиллярные колонки обычно представляют собой стеклянные (из кварцевого стекла) трубки.
- НФ представляет собой обычно нелетучую, высококипящую, с низкой вязкостью жидкость различной полярности и химической природы.

- Детектор представляет собой устройство, регистрирующее во времени содержание хроматографируемого компонента в ПФ на выходе из колонки.
- В газовых хроматографах используют детекторы различных типов:
 1. неселективные — термокондуктометрические (детекторы по теплопроводности) — катарометры, пламенно-ионизационные, электрохимические (электрокондуктометрические);
 2. селективные — термоионные, электронозахватные, пламенно-фотометрические и некоторые другие. В неселективных детекторах генерируемый сигнал не зависит от химической природы разделяемых компонентов, в селективных — зависит.
- На практике часто используют неселективные детекторы — катарометры и пламенно-ионизационные.

Принципиальная блок-схема газового хроматографа



1 — баллон с газом-носителем, 2 — регулировка газов, 3 — испаритель, 4 — термостат; 5 — хроматографическая колонка; 6 — детектор; 7 — усилитель, 8 — регистратор

Методы обработки хроматограмм

Идентификация разделяемых компонентов:

1. Метод использования веществ свидетелей
2. Метод относительных удерживаний

Методы расчет содержания определяемого вещества:

1. абсолютной градуировки (калибровки),
2. внутренней нормализации
3. внутреннего стандарта.

Все методы основаны на измерении параметров пиков на хроматограмме: их площади или высоты. Чаще измеряют площади пиков.

Метод внутренней нормализации

$$W_x = \frac{S_x}{\sum S_i} \cdot 100\%.$$

Метод внутреннего стандарта

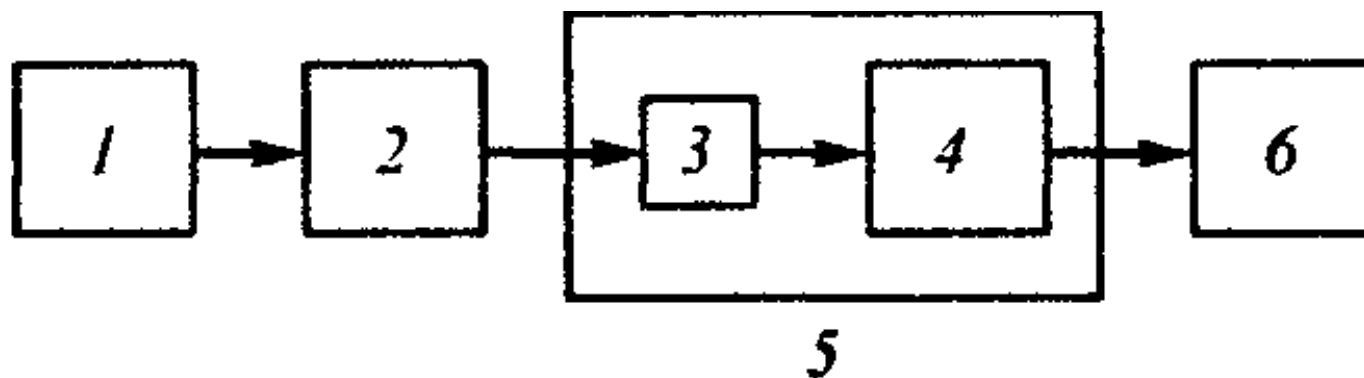
$$S_i = k_1 m_i, \quad S_{\text{ст}} = k_2 m_{\text{ст}}.$$

$$\frac{S_i}{S_{\text{ст}}} = \frac{k_1}{k_2} \frac{m_i}{m_{\text{ст}}} = k \frac{m_i}{m_{\text{ст}}}.$$

Высокоэффективная жидкостная хроматография

- Высокоэффективная жидкостная хроматография, или жидкостная хроматография высокого давления, основана на тех же принципах, что и ГЖХ, только вместо газа-носителя в качестве ПФ применяется поток жидкости, не смешивающейся с жидкой НФ хроматографической колонки. Таким образом, в ВЭЖХ обе контактирующие фазы — НФ и ПФ — жидкости. Разделение компонентов основано на различии их коэффициентов распределения между НФ и ПФ.
- Температура хроматографической колонки может быть комнатной, что позволяет хроматографировать белки, аминокислоты и другие термически нестойкие соединения. Молярная масса разделяемых веществ может достигать 2000.

Принципиальная блок-схема жидкостного хроматографа



1 — резервуар с раствором гелем, 2 — насос высокого давления для подачи жидкости. 3 — устройство для ввода пробы. 4 — хроматографическая колонка. 5 — термостат, 6 — система детектора, усилителя, регистратора