

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

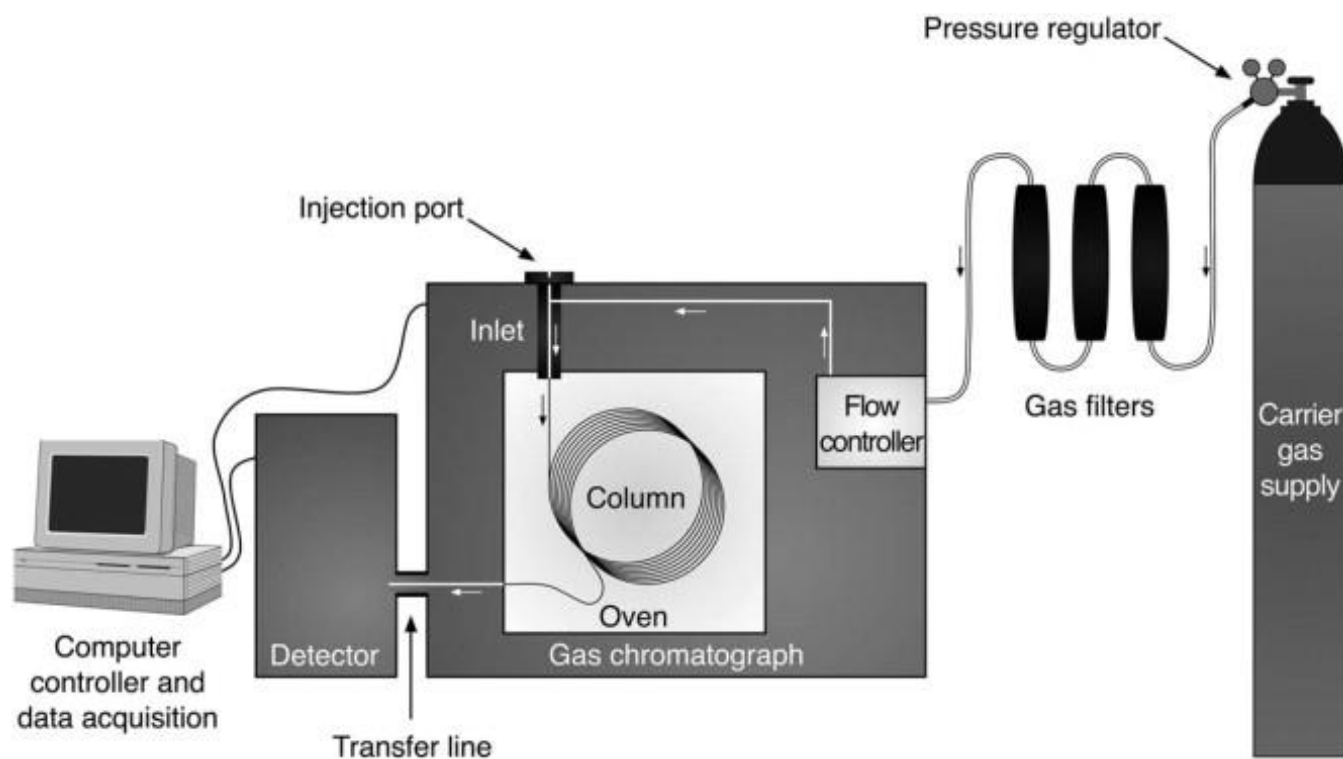
Хроматографические методы анализа

Газовая хроматография

Газовая хроматография

Это физический способ разделения летучих соединений, основанный на распределении веществ между двумя фазами, одна из которых является неподвижной (жидкая или твердая), а вторая – подвижна (газ-носитель). Анализируемую пробу вводят в подвижную фазу и она перемещается вдоль неподвижной

Схема газового хроматографа



- Газ-носитель (азот, гелий) из баллона поступает в блок подготовки газов (измеряются давление и скорость потока газа-носителя), проходит через испаритель, хр. колонку, детектор (находятся в термостате) и регистратор

- В испаритель с температурой, достаточной для испарения смеси, с помощью микрошприца вводится проба анализируемого вещества, которая испаряется и потоком газа уносится в хроматографическую колонку. После разделения в колонке компонентов на зоны, они проходят детектор, в котором генерируется электрический сигнал и регистрируется в виде хроматограммы

Детектор

Детектор - это устройство, которое обеспечивает количественное измерение компонентов смеси по мере их элюирования в сочетании с газом-носителем.

Типы детекторов в газовой хроматографии

Type of Detector	Applicable Samples
Mass Spectrometer (MS)	Tunable for any sample
Flame Ionization (FID)	Hydrocarbons
Thermal Conductivity (TCD)	Universal
Electron-Capture (ECD)	Halogenated hydrocarbons
Atomic Emission (AED)	Element-selective
Chemiluminescence (CS)	Oxidizing reagent
Photoionization (PID)	Vapor and gaseous Compounds

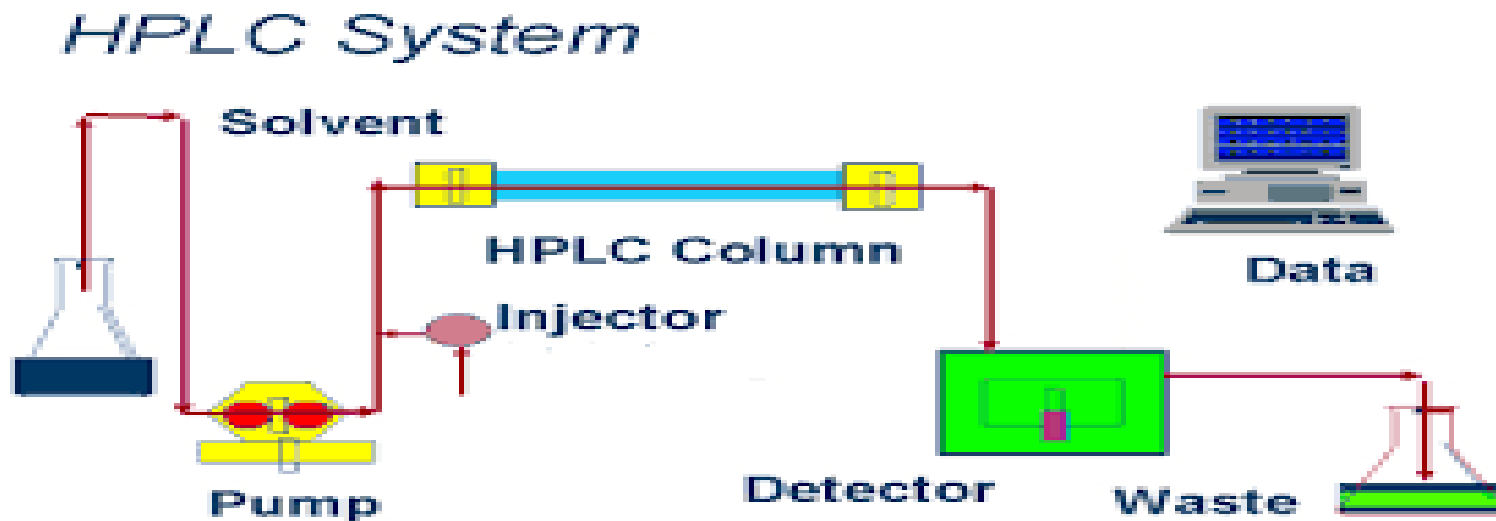
Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

Метод ГЖХ неприменим для разделения и определения веществ с высокой молярной массой, малолетучих веществ, термически нестойких. Эти недостатки отсутствуют в ВЭЖХ.

ВЭЖХ основана на тех же принципах, что и ГЖХ, но в качестве подвижной фазы применяют поток жидкости, не смешивающийся с жидкой неподвижной фазой хроматографической колонки. Обе фазы – жидкости. Разделение компонентов основано на различии их коэффициентов распределения между подвижной и неподвижной фазами.

Схема жидкостного хроматографа

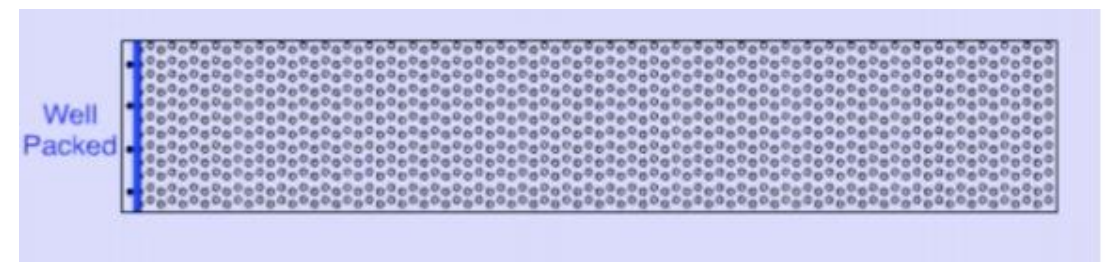


Насос служит для подачи жидкой фазы из резервуара под повышенным давлением. Хроматографическую колонку заполняют частицами твердого носителя с нанесенной на их поверхность тонкой пленкой жидкой неподвижной фазы. Устройство для ввода пробы и колонка находятся в воздушном или водяном термостате. Система включает детектор специального типа. Применяют спектрофотометрические, рефрактометрические, флуориметрические детекторы. Сигнал от детектора преобразуется, усиливается и регистрируется в виде хроматограммы (аналогичной хроматограмме ГЖХ).

Колонка



За исключением относительно новых капиллярных колонок, все колонки для ВЭЖХ заполнены небольшими шариками смолы (обычно диаметром 2-5 мкм или меньше), которые содержат покрытие из неподвижной фазы.



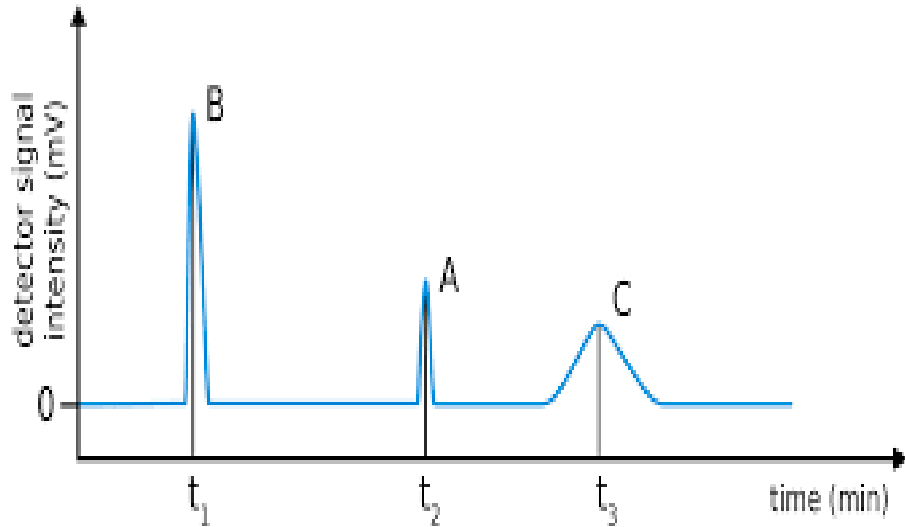
Детекторы

Detector	Application(s)
UV-Visible Absorbance	For compounds that absorb in the UV or visible range
Fluorescence	For compounds capable of fluorescence (especially polyaromatic hydrocarbons)
Refractive Index (RI)	For alcohol, sugar, saccharide, fatty acid, and polymer analysis with refractive indices different from the solvent
Electrochemical	For analyzing a wide range of compounds

Conductivity for IC	Mainly for inorganic ions
Evaporative Light Scattering (ELS)	For a wide variety of compounds that lack UV/Vis chromophores including triglycerides, sugars and natural products
Fourier Transfer Infrared	For compounds with vibrational functional groups
Mass Spectrometry	A universal detector

Характеристики хроматограммы

Каждому компоненту смеси соответствует пик на хроматограмме образца



- **Базовая линия** – сигнал от подвижной фазы
- **Пик** – часть хроматограммы, регистрирующая отклик детектора
- **Основание пика** – продолжение базовой линии, соединяющее начало и конец пика
- **Площадь пика** – площадь хроматограммы, заключенная между кривой, описывающей пик, и его основанием
- **Высота пика** – расстояние от максимума пика до его основания, измеренное параллельно оси отклика детектора
- **Время удерживания** – время, необходимое для элюирования вещества. Соответствует времени появления максимума пика на хроматограмме.

Параметры разделения веществ в хроматографической колонке

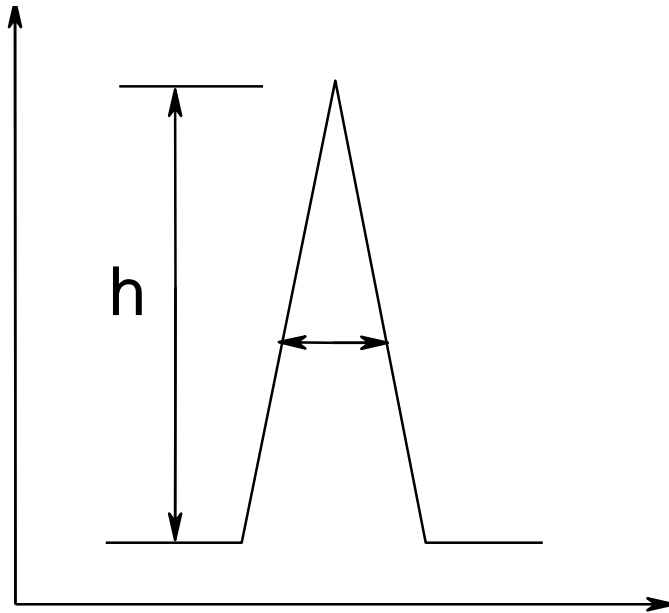
Разделение веществ в хроматографической колонке характеризуется двумя факторами:

1. Эффективностью колонки
2. Селективностью неподвижной жидкой фазы

Эффективность колонки характеризуется степенью расширения стартовой зоны вещества по мере прохождения его через колонку и определяется шириной пика хроматограммы

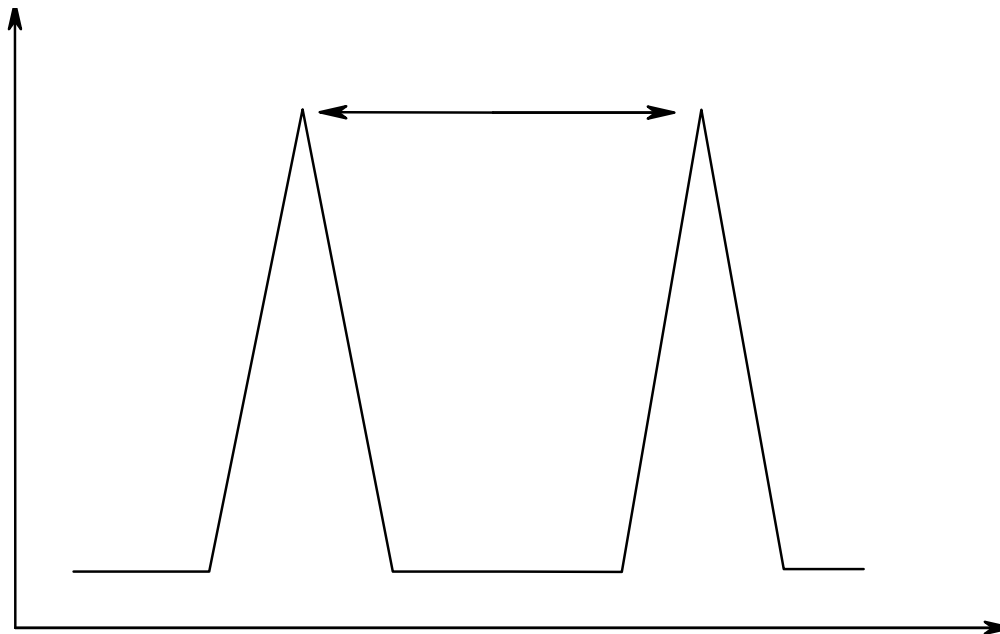
Эффективность колонки

Чем меньше ширина пика (l) хроматограммы, тем эффективнее колонка



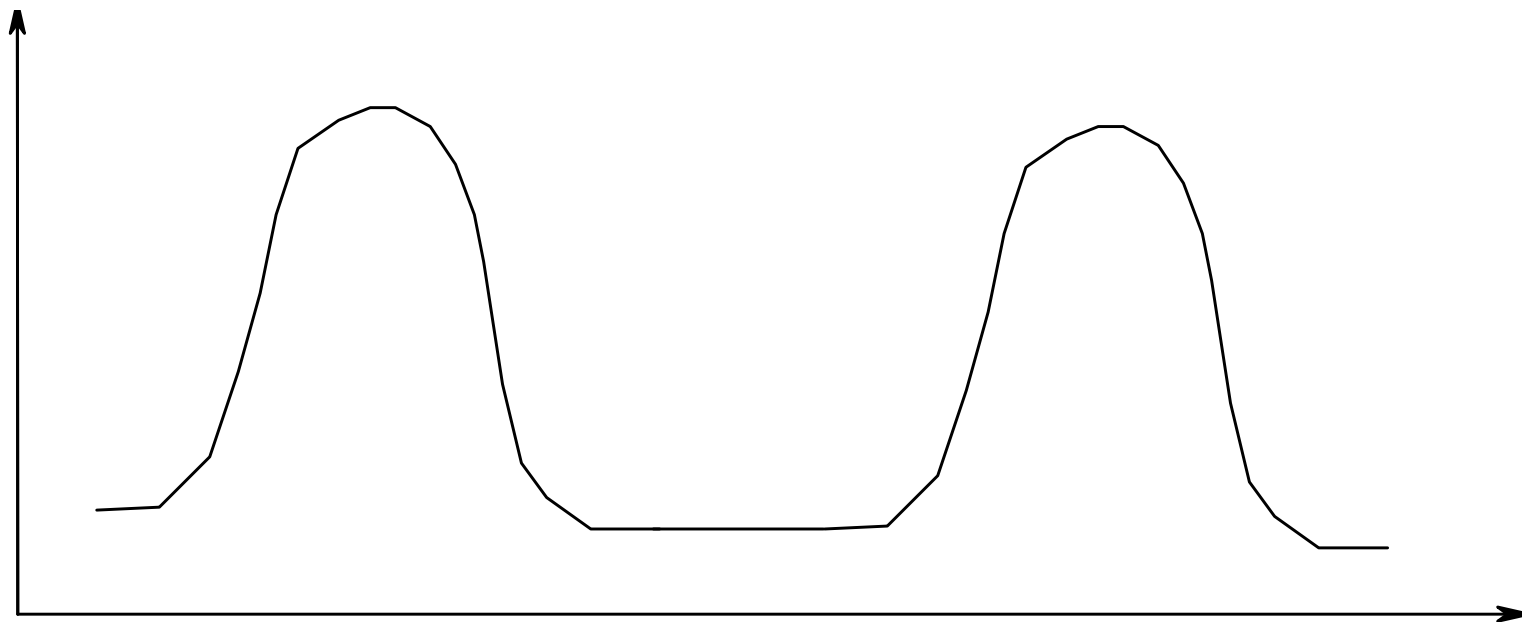
Селективность неподвижной фазы

Селективность неподвижной фазы характеризуется взаимным расположением пиков. Чем дальше друг от друга находятся пики, тем селективнее неподвижная жидкая фаза



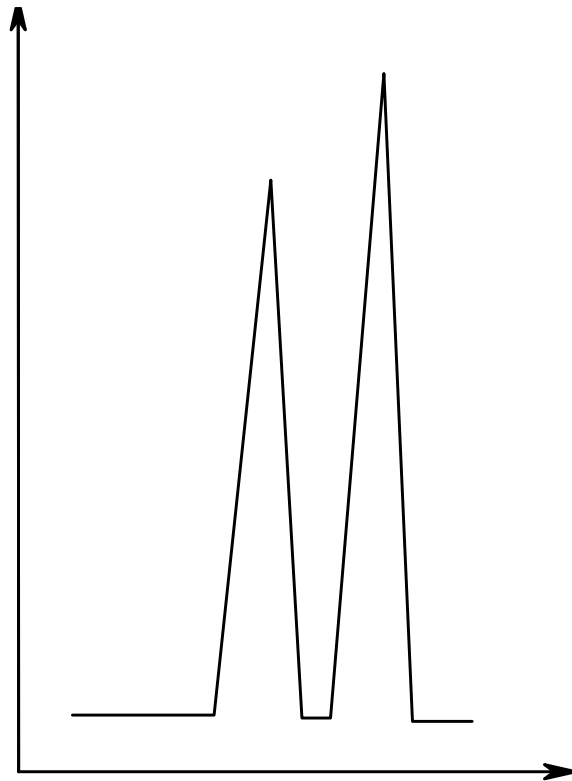
Параметры разделения

Низкая эффективность и высокая селективность



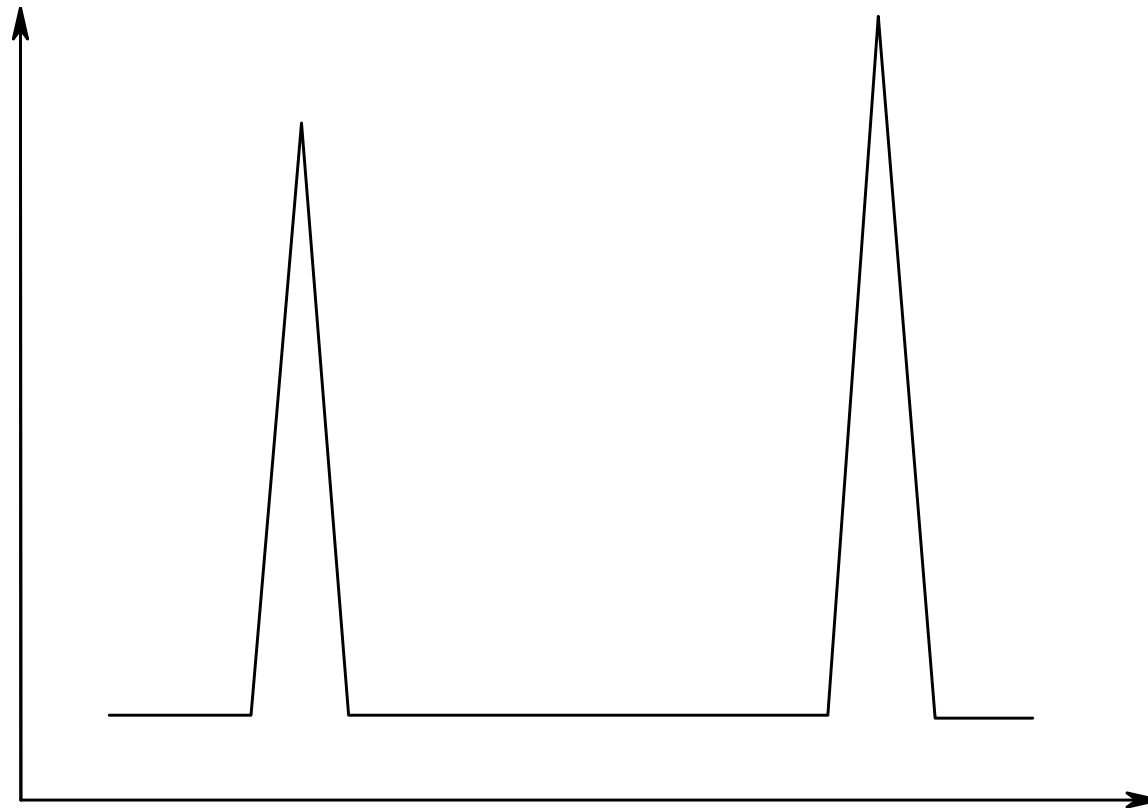
Параметры разделения

Высокая эффективность и низкая селективность



Параметры разделения

Высокая эффективность и высокая селективность



Теоретические тарелки

Перемещение вещества по колонке связано с большим числом равновесных распределений вещества между подвижной и неподвижной фазами.

Отдельные равновесия компонента между подвижной и неподвижной фазами называются теоретической тарелкой, а отрезок колонки, на котором устанавливается отдельно взятое равновесие, называется высотой теоретической тарелки или высотой, эквивалентной теоретической тарелке (ВЭТТ)

Теоретические тарелки

Количественной мерой эффективности хроматографической колонки служат высота H , эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ), и число теоретических тарелок n

$$n = 5,545 (t / W_{0,5})^2$$

t – время удерживания

$W_{0,5}$ – ширина пика на половине высоты

Чем больше число теоретических тарелок, тем эффективнее работа хроматографической колонки

Теоретические тарелки

Определив число теоретических тарелок и зная длину колонки L , можно вычислить ВЭТТ

$$H = L / n$$

L – длина колонки

n – число теоретических тарелок

Чем меньше ВЭТТ, тем менее размыта полоса компонента при его выходе из колонки

Чем больше n и меньше H , тем полнее отделение полосы данного компонента от полос остальных компонентов при их разделении

Задача 1

Сравнительный анализ веществ был проведен методом ГЖХ на двух аналитических колонках. На первой колонке время удерживания - 11,6 мин, ширина пика на половине высоты 0,45 мин, на второй колонке - время удерживания 8,1 мин, ширина пика на половине высоты - 0,67 мин. Какая из колонок эффективнее?

Решение

$$n = 5,545 (t / W_{0,5})^2$$

$$n_1 = 5.545 \left(\frac{11.6}{0.45} \right)^2 = 3684.618$$

$$n_2 = 5.545 \left(\frac{8.1}{0.67} \right)^2 = 810.439$$

Первая колонка эффективнее

Задача 2

Оцените качество хроматографических колонок по высоте, эквивалентной теоретическим тарелкам. Для 1-й колонки: длина колонки - 1210 мм, число теоретических тарелок - 1355. Для 2-й колонки: длина колонки - 2450 мм, число теоретических тарелок - 1580.

Решение

$$H = L / n$$

$$H1 = \frac{1210}{1355} = 0.893$$

$$H2 = \frac{2450}{1580} = 1.551$$

Первая колонка эффективнее

Качественный хроматографический анализ

Качественной характеристикой вещества является время удерживания данного компонента

Время удерживания компонента – это время, прошедшее с момента ввода пробы до момента выхода максимума пика

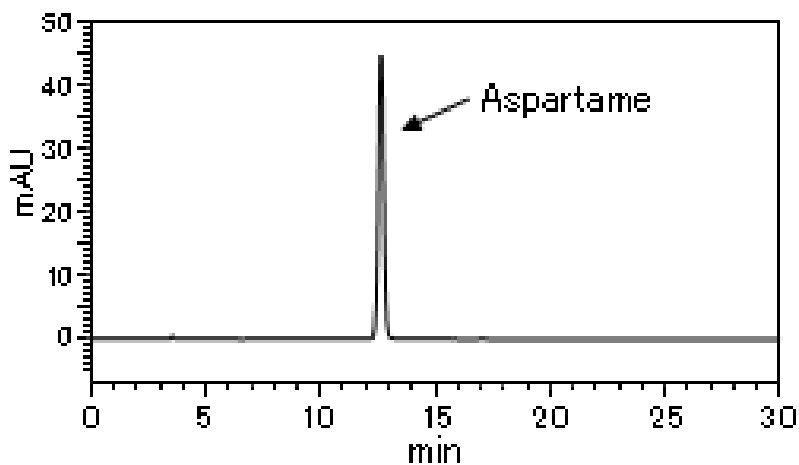
Время удерживания зависит от природы хроматографируемого вещества и газа-носителя, скорости прохождения подвижной фазы через колонку, природы и массы неподвижной фазы, температуры, длины колонки

Для идентификации компонента сравнивают время удерживания неизвестного компонента и время удерживания эталона

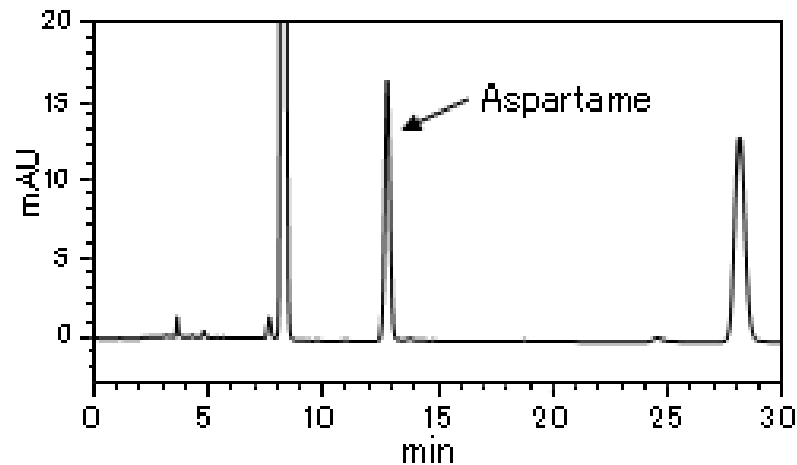
Если величины совпадают, то с большой долей вероятности можно говорить об идентичности компонентов

Качественный хроматографический анализ

【Chromatogram of the standard sample】



【Chromatogram of the beverage】



Чтобы идентифицировать компонент, сравнивается время удерживания неизвестного компонента и время удерживания эталона. Если значения совпадают, то с большой вероятностью можно говорить об идентичности компонентов

Количественный хроматографический анализ

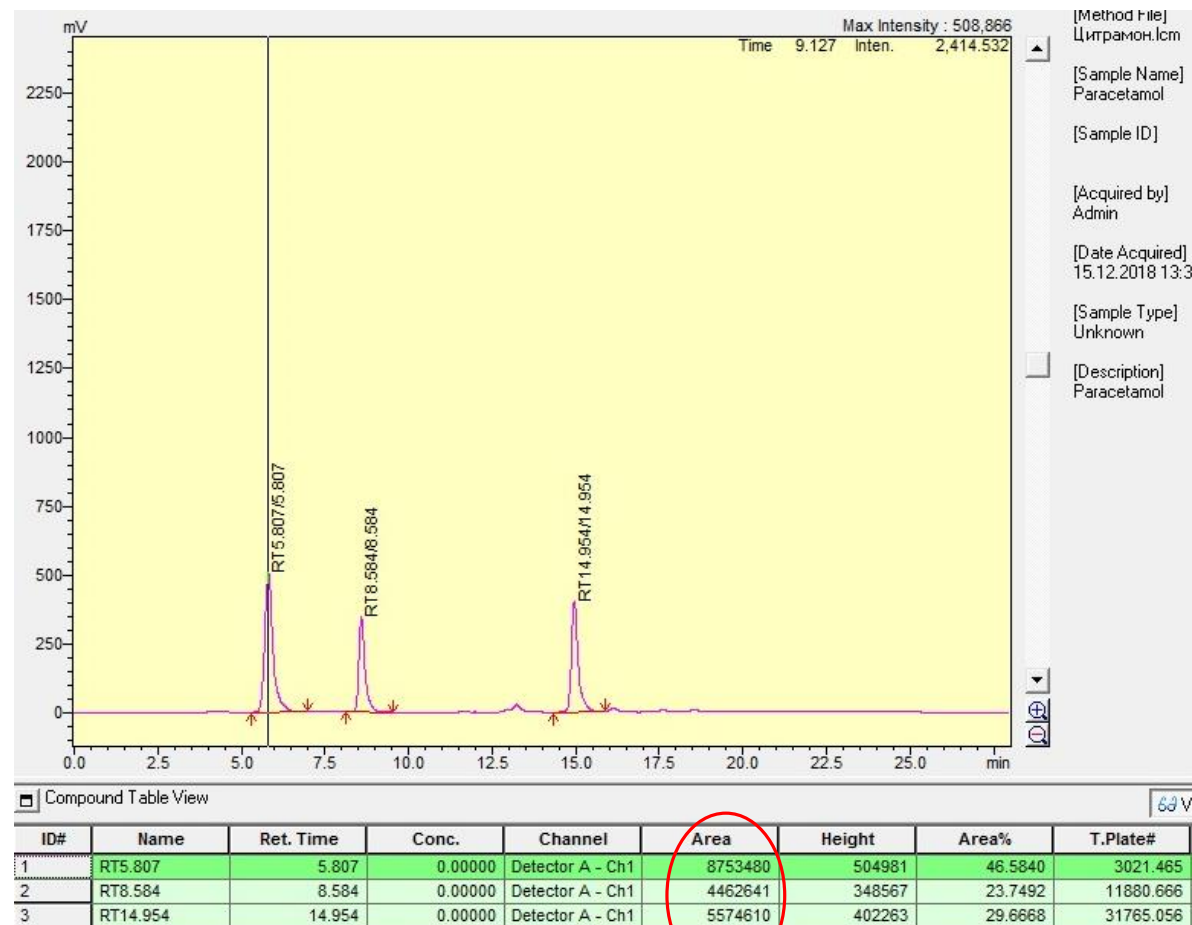
Основан на допущении, что площадь пика на хроматограмме, соответствующая данному компоненту, прямо пропорциональна его количеству

Способы измерения площади пика:

1. Проводят касательные к тылу и фронту пика и соединяют их линией, параллельной нулевой линии

Площадь полученного треугольника составляет 96% от истинной и пропорциональна количеству вещества в пробе

2. Для расчета площади симметричных пиков находят произведение высоты пика на его полуширину (84% площади пика)



Способы расчета концентрации

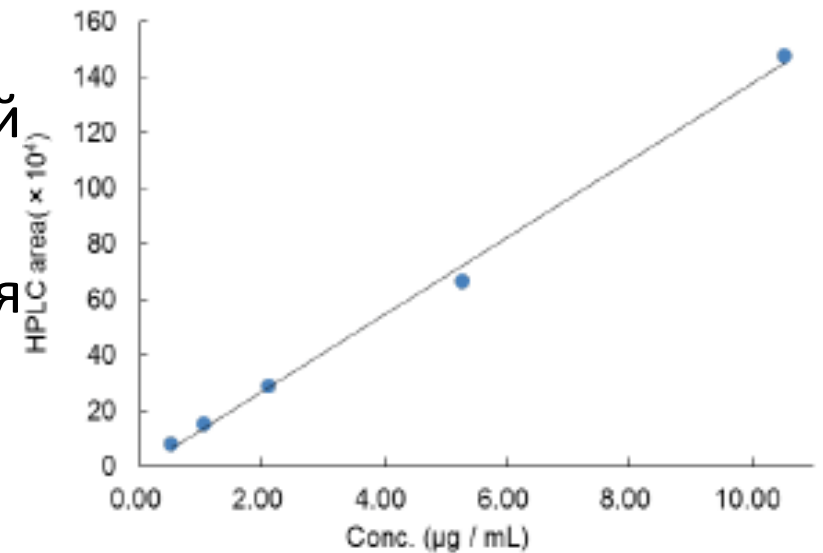
1. Метод абсолютной калибровки (градуировки)

Готовится серия эталонных растворов с известной массой определяемого компонента

Каждый эталонный раствор хроматографируется и определяется площадь пика

Строится график S_x — m компонента

Хроматографируется раствор с неизвестной концентрацией, определяется площадь пика и по графику находится масса анализируемого компонента



Способы расчета концентрации

2. Метод внутренней нормализации

На одной и той же хроматограмме измеряют площади всех пиков и находят их сумму

Основан на предположении, что на хроматограмме зарегистрированы все вещества, входящие в состав анализируемой смеси, и что доля площади каждого пика от суммы площадей всех пиков соответствует содержанию вещества в массовых процентах.

$$X_i = \frac{S_i \cdot 100}{\sum_{i=1}^n S_i},$$

Способы расчета концентрации

3. Метод внутреннего стандарта

Готовят эталонную смесь (включает массу определяемого компонента и точно известную массу стандарта). Смесь хроматографируют и сравнивают площади пиков определяемого вещества и стандарта

Т.к. площадь пика пропорциональна массе вещества:

$$C_x = f_x \cdot \frac{C_{st} \cdot S_x}{S_{st}}$$

C_x – концентрация анализируемого раствора

f_x – коэффициент пропорциональности

C_{st} – концентрация стандартного раствора

S_{st} – площадь пика стандартного раствора

S_x – площадь пика анализируемого образца

Способы расчета концентрации

4. Метод внешнего стандарта. Концентрацию испытуемого вещества определяют путем сравнения сигнала (пика), полученного на хроматограммах испытуемого раствора, сигнала, полученного на хроматограммах раствора стандартного образца.

$$C_x = \frac{C_{st} \cdot S_x}{S_{st}}$$

Задача 3

Хроматографированию подвергнут образец мятного масла. На хроматограмме имеются следующие пики: 1-й (не идентифицирован) площадью 113 мм^2 , 2-й (не идентифицирован) - 225 мм^2 , 3-й (ментон) - 246 мм^2 , 4-й (ментилацетат) - 384 мм^2 , 5-й (ментол) - 1130 мм^2 . Рассчитайте содержание свободного ментола в образце.

Решение

$$w(\text{menthol}), \% = \frac{S_5}{S_1 + S_2 + S_3 + S_4 + S_5} \cdot 100$$

$$\begin{aligned} w(\text{menthol}), \% &= \frac{1130}{113 + 225 + 246 + 384 + 1130} \cdot 100 \\ &= 53,86\% \end{aligned}$$

Задача 4

Для хроматографирования была взята смесь 0,1098 г камфоры и 0,1188 г нафталина - внутреннего стандарта. Площади полученных пиков: 5010 мм² - камфора, 58740 мм² - нафталин. Рассчитайте содержание камфоры в образце, если коэффициент пропорциональности равен 1,063.

Решение

$$w(\text{camphor}), \% = f_x \cdot \frac{m_{st} \cdot S_x}{S_{st} \cdot a_x} \cdot 100$$

$$\begin{aligned} w(\text{camphor}), \% &= 1.063 \cdot \frac{0.1188 \cdot 5010}{58740 \cdot 0.1098} \cdot 100 \\ &= 9.81\% \end{aligned}$$