

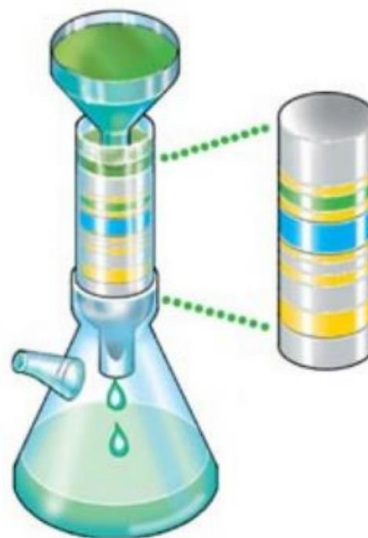
АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Хроматографические методы анализа

Основоположник хроматографии



М.С. Цвет (1872-1919) 1903 г.
«хроматография»
(chromos – цвет, grapho –
– писать).



Хроматография – процесс, основанный на многократном повторении актов сорбции и десорбции вещества при перемещении его в потоке подвижной фазы (ПФ) вдоль неподвижной фазы (НФ).

Сорбция (лат. sorbeo – поглощаю) называют процесс поглощения твердым телом или жидкостью (сорбентом) газообразного или растворенного вещества (сорбата), обратный процесс называют **десорбцией**.

Хроматографические методы анализа

Хроматография – метод разделения смесей веществ, основанный на их многократном перераспределении между двумя контактирующими фазами, одна из которых неподвижна, а другая имеет постоянное направление движения.

Условия проведения хроматографического анализа

1. Наличие ПФ и НФ
2. Многократное повторение актов сорбции и десорбции
3. Равновесие сорбция \Leftrightarrow десорбция должно устанавливаться быстро

Классификация хроматографических методов

1. По агрегатному состоянию фаз
2. По механизму взаимодействия сорбента и сорбата
3. По технике выполнения
4. По цели

По агрегатному состоянию фаз

ПФ – газ

НФ – жидкость

газожидкостная

хроматография (ГЖХ)

НФ – тв.тело

газоадсорбционная

хроматография (ГАХ)

ПФ – жидкость

НФ – жидкость

жидкостно-жидкостная

хроматография

НФ – тв.тело

жидкостная адсорбционная

хроматография

По механизму разделения

- 1. Адсорбционная хроматография** основана на различии в адсорбируемости веществ твердым сорбентом
- 2. Распределительная хроматография** основана на различии в растворимости разделяемых веществ в неподвижной жидкой фазе или на различии в растворимости веществ в подвижной и неподвижной жидких фазах
- 3. Ионообменная хроматография** основана на разной способности веществ к ионному обмену
- 4. Эксклюзионная хроматография** (ситовая, проникающая) основана на различии в размерах и формах молекул разделяемых веществ

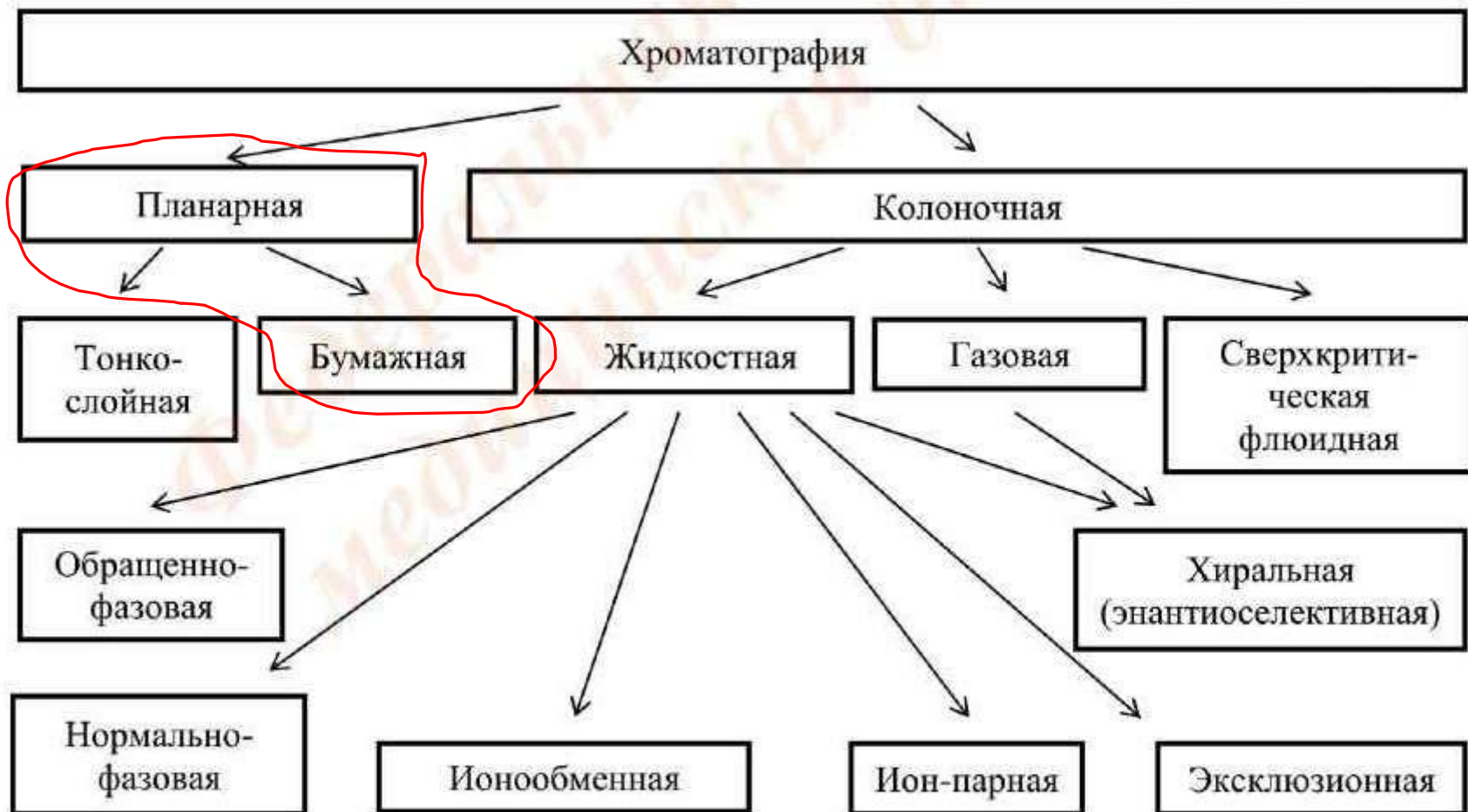
По технике выполнения

1. Колоночная хроматография
2. Плоскостная хроматография

По цели хроматографирования

1. Аналитическая хроматография
(качественный и количественный анализ)
2. Препаративная хроматография (для получения веществ в чистом виде, для концентрирования и выделения микропримесей)
3. Промышленная хроматография

Хроматографические методы анализа



Основные понятия

Элюент – подвижная фаза, вводимая в слой неподвижной фазы

Элюат – подвижная фаза, выходящая из колонки и содержащая разделенные компоненты (определяют содержание компонентов)

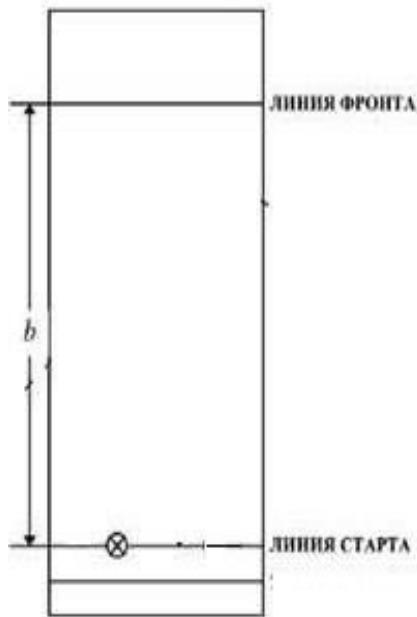
Хроматограмма – графическое изображение распределения веществ в элюате

Хроматограмма – картина расположения хроматографических зон на бумаге или тонком слое сорбента после завершения разделения

Техника эксперимента

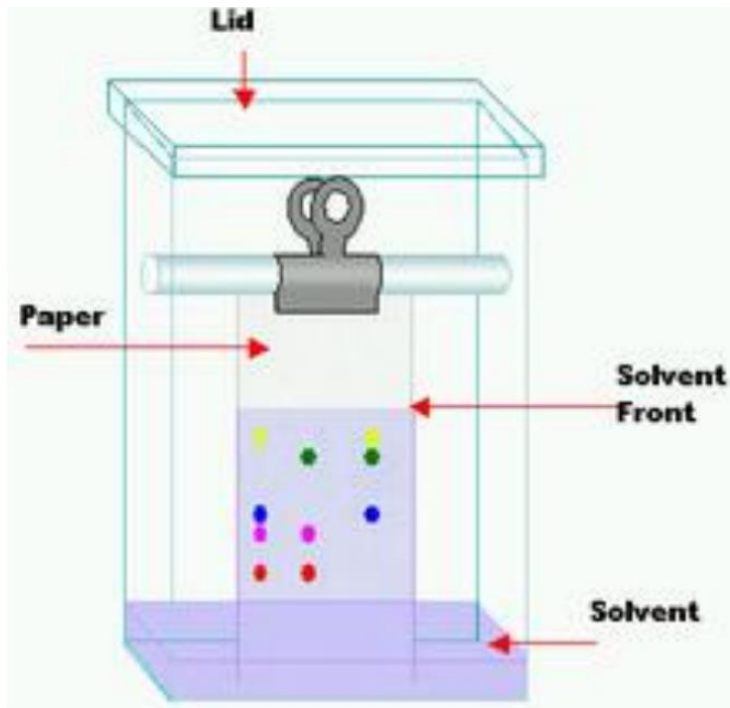
1. Нанесение пробы
2. Хроматографирование
3. Детектирование
4. Идентификация смеси

Нанесение пробы



1. Проводят линию старта (не менее 1 см от края)
2. Проводят линию финиша (10 см от линии старта)
3. Капилляром или микрошприцом наносят смесь веществ (\varnothing 2-3 мм)
4. Подсушивают

Хроматографирование

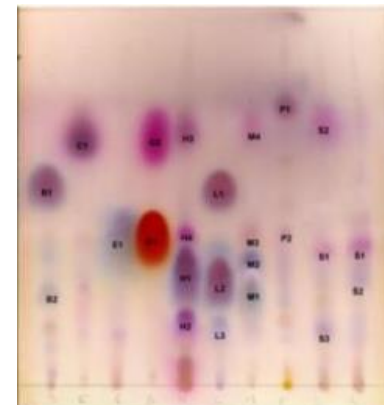


Помещают в камеру для хроматографирования, содержащую подвижную фазу.

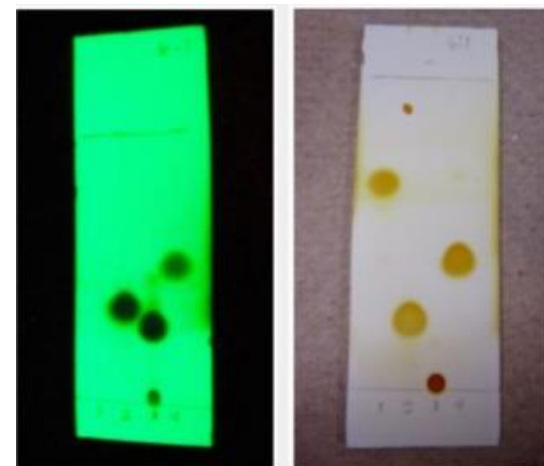
До момента достижения растворителем линии финиша

Детектирование

1. Химическая обработка – появляется цветное пятно (нингидрин для обнаружения аминокислот, аминов, белков)



2. Облучение УФ – обнаруживают флуоресцирующие соединения (алкалоиды, антибиотики, витамины)



3. Термическая обработка – пятна проявляются в виде коричневых зон

Идентификация смеси

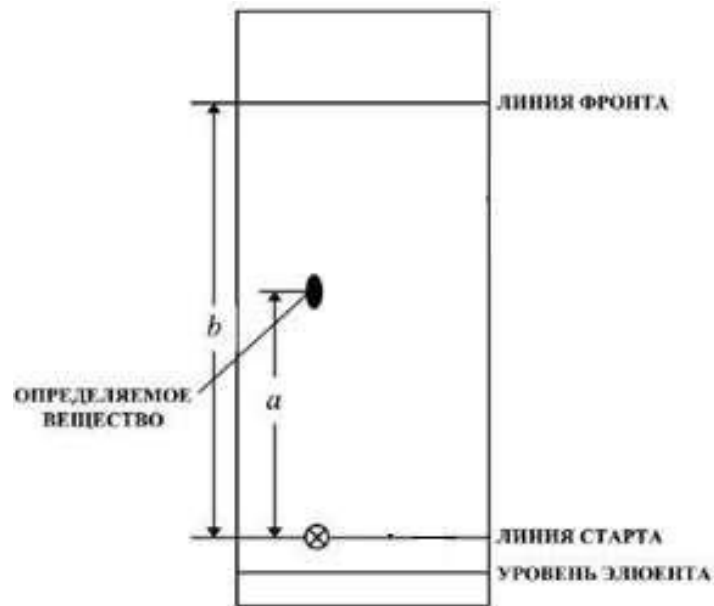
Для характеристики разделяемых компонентов используют коэффициент подвижности R_f (характеризует положение зоны вещества на хроматограмме)

$$R_f = V_i / V_E = (l_i / t) / (L / t) = l_i / L$$

V – скорость перемещения i -компонента и растворителя

l_i и L – расстояние, пройденное i -компонентом и растворителем

$$R_f = a/b,$$



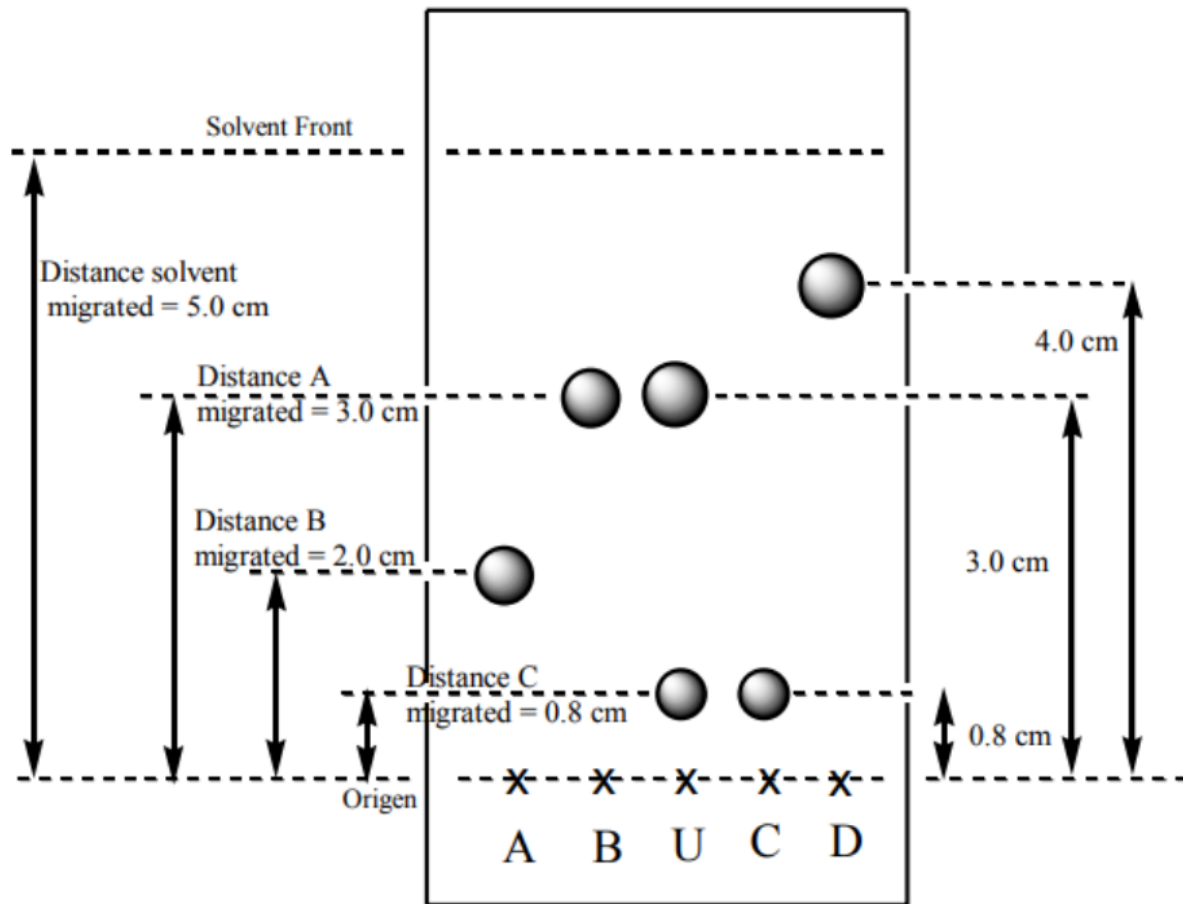
a - расстояние от точки нанесения пробы до центра пятна, характеризующего зону адсорбции;

b – расстояние от линии старта до линии фронта элюента

$$R_f = 0—1 \text{ (} 0,3—0,7 \text{)}$$

R_f зависит от природы носителя (бумага, активность и природа сорбента, толщина слоя сорбента), качества и природы растворителя, техники эксперимента, температуры и других факторов.

Для нивелирования влияния условий проведения эксперимента вводят R_s – относительный коэффициент подвижности



$$R_f(A) = \frac{2.0 \text{ cm}}{5.0 \text{ cm}} = 0.40$$

$$R_f(B) = \frac{3.0 \text{ cm}}{5.0 \text{ cm}} = 0.60$$

$$R_f(C) = \frac{0.8 \text{ cm}}{5.0 \text{ cm}} = 0.16$$

$$R_f(D) = \frac{4.0 \text{ cm}}{5.0 \text{ cm}} = 0.80$$

$$R_f(U_1) = \frac{3.0 \text{ cm}}{5.0 \text{ cm}} = 0.60$$

$$R_f(U_2) = \frac{0.8 \text{ cm}}{5.0 \text{ cm}} = 0.16$$

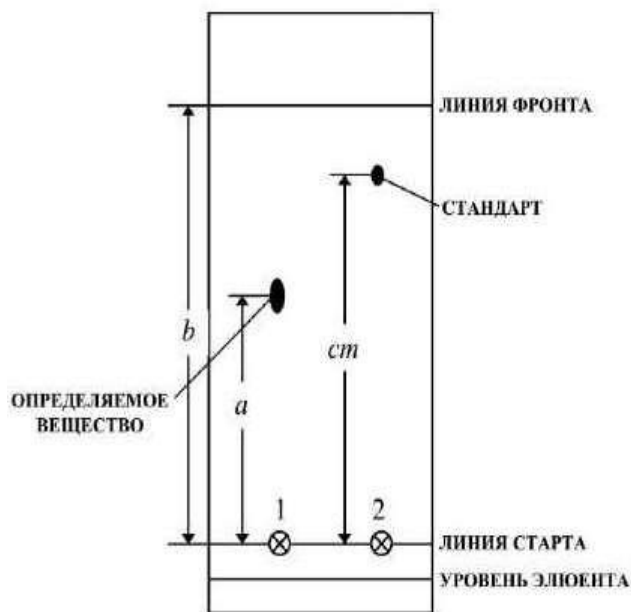
$$R_S = I/I_{CT} = R_f/R_{f(CT)}$$

$$R_f = I/L$$

$$R_{f(CT)} = I_{CT}/L$$

I_{CT} – расстояние от линии старта до центра пятна стандарта

Свидетели (стандарты) – эталонные вещества, наличие которых предполагается в пробе



Применение ТСХ и БХ

1. Качественный анализ (по окраске зон судят о составе смеси)
2. Количественный анализ (проводят либо непосредственно на хроматограмме, либо вымывают из слоя сорбента или с бумажной полоски и анализируют)