

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Ульяновский государственный университет»
Институт медицины, экологии и физической культуры

Брынских Г.Т., Михеева Л.А.

**РУКОВОДСТВО ДЛЯ ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧЕСКИХ РАБОТ
ПО ДИСЦИПЛИНЕ "ВВЕДЕНИЕ В ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ
МЕТОДЫ АНАЛИЗА"**

для студентов 3 курса экологического факультета
по направлению подготовки бакалавр 040301 «Химия»
очная форма обучения



Ульяновск, 2019

УДК 543. 544 (075.8)

ББК 24. 471я73-5

Б 89

*Печатается по решению учебно-методической комиссии
института медицины, экологии и физической культуры.*

Рецензент: Кандидат физико-математических наук, доцент кафедры
физического материаловедения Василевская Т.М.

**Б89. Руководство для лабораторно-практических работ по
дисциплине "Введение в хроматографические методы анализа":** для
студентов 3 курса экологического факультета по направлению подготовки
бакалавр 040301 «Химия» очная форма обучения //Составители: Брынских
Г.Т., Михеева Л.А.– Ульяновск: УлГУ, 2019. – 55с.

Методическое пособие разработано в соответствии с рабочей
программой по дисциплине "Введение в хроматографические методы
анализа" и является руководством для лабораторных занятий для
студентов 3 курса экологического факультета по направлению подготовки
бакалавр 040301 «Химия».

УДК 543. 544 (075.8)
ББК 24. 471я73-5

© Брынских Г.Т., Михеева Л.А.

© Ульяновский государственный университет, 2019г.

Предисловие

Методическое пособие написано в соответствии с программой по курсу "Введение в хроматографические методы анализа" для студентов второго курса экологического факультета по направлению подготовки бакалавров 04.03.01 "Химия" и предназначено для изучения хроматографических методов анализа.

Основная цель пособия – сконцентрировать знания, полученные студентами при изучении лекций и учебной литературы, и подчеркнуть детали, знание которых необходимо при выполнении лабораторных работ.

Практикум содержит сведения об применяемых методах анализа, в том числе дает их общую характеристику и классификацию, описывает основные правила работы в лаборатории и организации рабочего места.

В каждой лабораторной работе излагаются цель и задачи, поставленные перед студентом, принцип используемого метода, ход работы, предлагается проанализировать результаты проведенных исследований и сделать выводы. Представленные в конце каждого раздела контрольные вопросы способствуют лучшему усвоению теоретического материала при самоподготовке.

Общие правила работы в химических лабораториях

Во время работы в лаборатории студенты обязаны соблюдать следующие правила

1. Студенту в лаборатории отводится постоянное место, и он обязан поддерживать его в чистоте и порядке, а после окончания работы тщательно убирать рабочее место. Все работы, за небольшим исключением, выполняются студентом индивидуально.
2. Выполнять указания преподавателей и лаборантов.
3. Необходимые для работы реактивы находятся на полках лабораторных столов. Концентрированные кислоты и пахучие вещества хранятся в вытяжном шкафу.
4. Сухие реактивы необходимо брать чистым шпателем или специальной ложечкой. При наливании растворов из склянок нужно их держать этикеткой вверх во избежание ее загрязнения.
5. Все реакции проводить с таким количеством веществ, которое указано в описании опыта. Если в руководстве не указано, какое количество необходимо взять, следует брать сухие вещества в небольших количествах – на кончике шпателя или ложечки, а растворы – объемом 1 – 1,5 мл.
6. Неизрасходованные реактивы нельзя выливать обратно в склянки.
7. Остатки дорогостоящих и ядовитых реактивов необходимо сливать в специальные склянки.

Меры предосторожности при работе в лаборатории

1. Все опыты с ядовитыми, неприятно пахнущими веществами и концентрированными растворами проводить только в вытяжном шкафу.
2. Опыты с легковоспламеняющимися веществами необходимо проводить вдали от огня.
3. Не наклоняться над нагреваемой жидкостью или сплавляемыми веществами во избежание попадания брызг на лицо.
4. Не следует вдыхать пахучие вещества и выделяющиеся газы, близко наклоняясь к сосуду с этими веществами.

5. При работе с твердыми щелочами и металлическим натрием обязательно надеть защитные очки.
6. При разбавлении концентрированных кислот (особенно серной) нельзя наливать воду в кислоту, можно осторожно при перемешивании наливать кислоту в воду.
7. Пробирку, закреплённую в пробиркодержателе, при нагревании растворов в ней следует держать таким образом, чтобы ее отверстие не было направлено в сторону студента и его соседей по рабочему столу.
8. Необходимо следить за правильной работой горелок и закрывать краны после окончания работы.

Оказание первой помощи в химических лабораториях

1. При попадании на кожу концентрированных кислот следует немедленно промыть обожженное место сильной струей водопроводной воды, после чего наложить повязку из ваты или бинта, смоченного раствором гидрокарбоната натрия. При попадании на кожу концентрированных щелочей следует немедленно промыть обожженное место сильной струей водопроводной воды, после чего наложить повязку из ваты или бинта, смоченного раствором борной. Все указанные растворы есть в лабораторной аптечке. При сильных ожогах после оказания первой помощи следует немедленно обратиться к врачу.
2. При попадании брызг кислоты или щелочи в глаза необходимо немедленно промыть поврежденный глаз большим количеством воды комнатной температуры, после чего сейчас же обратиться к врачу.
3. При ожоге кожи горячими предметами наложить на обожженное место сначала повязку из спиртового раствора танина или перманганата калия, а затем повязку из мази от ожогов.
4. При отравлении хлором, бромом, сероводородом, оксидом углерода (II) необходимо вынести пострадавшего на воздух, а затем обратиться к врачу.
5. При отравлении соединениями мышьяка, ртути и цианистыми солями необходимо немедленно обратиться к врачу.

Газожидкостная хроматография

Газовая хроматография – метод разделения летучих термостабильных соединений, основанный на распределении веществ между фазами, одна из которых – газ, другая – твердый сорбент (газоадсорбционная хроматография, ГАХ) или вязкая жидкость, закрепленная на твердом носителе (газожидкостная хроматография, ГЖХ). Газ, с помощью которого анализируемая смесь вводится в колонку, является элюентом. Разделение компонентов смеси происходит вследствие различной адсорбционной способности или растворимости анализируемых веществ при движении их газообразной смеси в колонке с потоком подвижной фазы вдоль неподвижной фазы.

Объекты анализа в газовой хроматографии – газы, жидкости и твердые вещества с молекулярной массой $M_r < 400$ и температурой кипения $\sim 300^\circ\text{C}$. При хроматографическом разделении анализируемые соединения не должны подвергаться деструкции.

Особенность ГАХ состоит в том, что в качестве неподвижной фазы применяют адсорбенты с высокой удельной поверхностью. Распределение веществ между подвижной и неподвижной фазами определяется процессом адсорбции. Адсорбция молекул из газовой фазы происходит за счет межмолекулярного взаимодействия, имеющего электростатическую природу. В качестве адсорбентов в методе ГАХ применяют активированные угли, силикагели, оксид алюминия, полимерные соединения (полисорб, хромосорб, порапак).

К адсорбентам предъявляются следующие требования:

- 1) широкие пределы удельной поверхности,
- 2) селективность по отношению к определяемым компонентам смеси,
- 3) химическая инертность,
- 4) химическая и геометрическая однородность,
- 5) механическая прочность.

В аналитической практике чаще применяют метод ГЖХ. Механизм распределения компонентов смеси между газом-носителем и неподвижной жидкой фазой основан на их избирательной абсорбции тонкой пленкой жидкости, закрепленной на инертном твердом носителе. Компоненты анализируемой смеси в соответствии с коэффициентами распределения K_p

селективно удерживаются неподвижной фазой. Коэффициент распределения – отношение концентрации вещества в неподвижной жидкой фазе к его концентрации в подвижной фазе:

$$K_p = \frac{c_{\text{НФ}}}{c_{\text{ПФ}}}.$$

В соответствии с K_p компоненты смеси перемещаются по колонке с различной скоростью. Чем лучше вещество растворяется в неподвижной жидкой фазе, тем выше K_p и меньше скорость движения вещества, тем дольше оно удерживается в колонке.

Известно более 100 жидких фаз. *Неподвижная жидкая фаза должна отвечать следующим требованиям:*

- 1) обеспечивать селективность разделения за счет различной растворимости компонентов смеси;
- 2) иметь небольшую вязкость;
- 3) быть химически инертной;
- 4) образовывать равномерную пленку на носителе.

Различают жидкие фазы трех типов: неполярные (насыщенные углеводороды), умеренно полярные (сложные эфиры, нитрилы) и полярные (полигликоли, гидроксилламины).

Устройство газового хроматографа (рис. 1). Газ-носитель из баллона 1 непрерывно с постоянной скоростью, которую обеспечивает редуктор 2, поступает в хроматографическую колонку 5. Анализируемая проба системой ввода 3 или через резиновую прокладку испарителя 4 подается в поток газа-носителя. Для мгновенного испарения пробы температура в испарителе поддерживается термостатом 9. Пары анализируемой пробы переносятся газовым потоком в хроматографическую колонку 5, которая также термостатируется в соответствии с условиями анализа. В колонке происходит разделение компонентов анализируемой смеси. Система детектирования состоит из детектора 6 с усилителем сигнала и регистрирующего устройства 7. Сигнал детектора фиксируется системой регистрации и обрабатывается вычислительным интегратором 8.

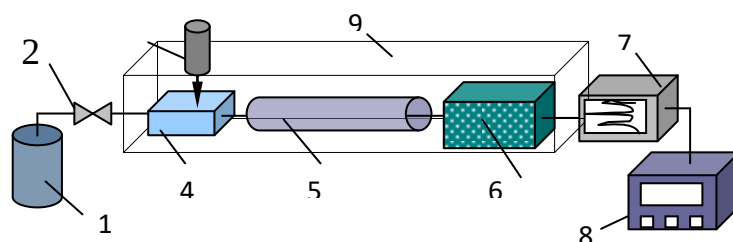


Рис. 1. Схема газового хроматографа: 1 – баллон с газом-носителем; 2 – редуктор; 3 – система ввода пробы; 4 – испаритель; 5 –хроматографическая колонка; 6 – детектор; 7 – система регистрации аналитического сигнала; 8 – вычислительный интегратор; 9 – термостат

Выбор газа-носителя обусловлен эффективностью хроматографической колонки, чувствительностью и принципом действия детектора.

Газ-носитель должен отвечать следующим требованиям:

- 1) обеспечивать эффективное разделение компонентов смеси;
- 2) соответствовать чувствительности и типу детектора;
- 3) быть химически и адсорбционно инертным по отношению к разделяемым веществам, материалу колонки и детектора;
- 4) быть химически чистым.

В качестве подвижной фазы применяют гелий, азот, аргон, водород (в момент образования), углекислый газ, воздух.

Система ввода пробы должна обеспечивать высокую точность ввода пробы, минимальный вклад в размывание пиков, хорошую воспроизводимость. Пробу вводят в *испаритель* (устройство для испарения пробы) микрошприцем через самоуплотняющуюся мембрану или специально встроенными кранами.

Хроматографические колонки изготавливают из нержавеющей стали, меди, бронзы, стекла, кварца. Материал колонки должен быть инертным по отношению к определяемым веществам. Колонки могут быть U и W-образные, спиралевидные, прямые. Выбор формы зависит от условий анализа. Различают насадочные (диаметр $d = 3\text{--}6$ мм, длина l до 10 м), микронасадочные ($d = 0,2\text{--}2$ мм, $l = 10\text{--}30$ м) и капиллярные ($d = 0,001\text{--}0,2$ мм, $l = 30\text{--}100$ м) колонки. Насадочные и микронасадочные

колонок заполняют адсорбентом (ГАХ) или сорбентом, поверхность которого обработана вязкой жидкостью – неподвижной фазой (ГЖХ). Капиллярные колонки применяются только в газожидкостном варианте, носитель неподвижной фазы – стенки колонки.

Газ с разделенными компонентами на выходе из колонки называется *элюатом*. Элюат поступает в систему детектирования.

Детектор регистрирует в потоке газа-носителя разделенные компоненты смеси и преобразует количество и качество выходящих из колонки газов в определенный аналитический сигнал. Различают интегральные и дифференциальные, потоковые и концентрационные детекторы. Наиболее распространены катарометр, детекторы пламенно-ионизационный и электронного захвата.

Катарометр – универсальный детектор, действие которого основано на сравнении теплопроводности двух газовых потоков: газа-носителя и смеси газа-носителя с анализируемым компонентом.

Пламенно-ионизационный детектор наиболее чувствителен; его действие основано на ионизации органических горючих веществ в воздушно-водородном пламени и измерении величины ионного тока.

Работа детектора электронного захвата основана на ионизации газа-носителя электронами. Определяемое соединение захватывает электроны, ионизационный ток детектора уменьшается.

Система регистрации сигнала. Электрический сигнал через усилитель поступает на регистрирующий прибор (самопишущий потенциометр). Показания детектора регистрируются в виде хроматограмм. В систему детектирования может быть включен электронный интегратор, измеряющий параметры хроматографических пиков.

Хроматограмма – графическая зависимость сигнала детектора от времени. Основные характеристики хроматограммы – объем (время) удерживания, высота и площадь пика (рис. 2). Чем лучше вещество взаимодействует с неподвижной фазой, тем дольше удерживается в хроматографической колонке и выйдет из нее в последнюю очередь. Например, при условии, что растворимость вещества А в неподвижной

жидкой фазе выше, чем растворимость вещества В: $S(A) > S(B)$, последовательность выхода их из колонки показана на хроматограмме: первым выходит вещество В, а затем А.

Идентификация. Качественной характеристикой хроматограммы является объем или время удерживания. Объем удерживания ($V_{уд.}$) – это объем газа, прошедший через колонку с момента ввода пробы до максимального выхода компонента из колонки. Время удерживания ($\tau_{уд.}$) – время от момента ввода пробы до максимума пика на хроматограмме. Объем удерживания рассчитывают по времени удерживания:

$$V_{уд.} = \tau_{уд.} \cdot v,$$

где v – объемная скорость газа-носителя, $\text{см}^3/\text{с}$.

Время удерживания зависит от природы вещества, природы и типа сорбента, температуры колонки и испарителя, размеров колонки, природы и скорости газа-носителя.

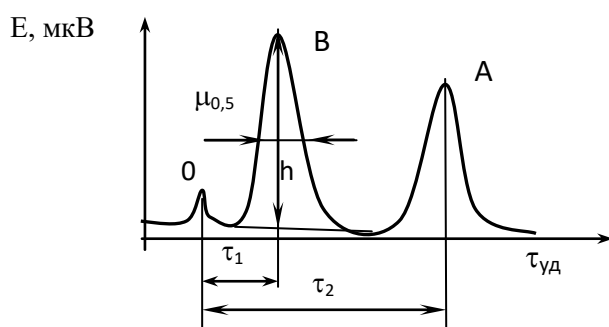


Рис. 2. Дифференциальная хроматограмма: $\tau_{уд.}$ – время удерживания вещества; h – высота пика; $\mu_{0,5}$ – ширина пика, измеренная на середине высоты; 0 – момент ввода пробы.

В основе идентификации веществ находятся:

- 1) сравнение времени удерживания определяемого компонента и стандартного вещества при условии, что анализ выполнен в строго идентичном режиме;
- 2) сопоставление времени удерживания определяемого компонента с табличными данными;
- 3) применение веществ-тестеров, их добавление к пробе увеличивает параметры хроматографического пика.

Количественный анализ. Количественные характеристики хроматограммы – высота и площадь поверхности пика. Площадь пика пропорциональна количеству вещества, ее рассчитывают как произведение высоты пика (h) и ширины ($\mu_{0,5}$), измеренной на середине высоты:

$$S = h \cdot \mu_{0,5}.$$

Методы количественного определения.

1. Метод нормировки. Рассчитывают площади всех пиков, сумму площадей пиков принимают за 100 %. Массовую долю каждого компонента в смеси (ω_i , %) вычисляют по формуле:

$$\omega_i = S_i \cdot 100 / \sum_{i=1}^n S_n ,$$

где S_i – площадь пика определяемого компонента, мм^2 ; $\sum_{i=1}^n S_n$ – сумма площадей всех пиков, мм^2 .

2. Метод абсолютной градуировки. Для серии стандартных растворов в идентичных условиях получают хроматограммы и рассчитывают площади пиков. Строят градуировочный график в координатах $S = f(c)$. По хроматограмме анализируемого вещества рассчитывают площадь пика и по градуировочному графику находят его концентрацию. Этот метод наиболее пригоден для серийных анализов.

3. Метод внутреннего стандарта. В анализируемую пробу вводят известное количество стандартного вещества, образующего на хроматограмме отдельный пик. Измеряют параметры пиков стандартного и анализируемого веществ, рассчитывают площади пиков. Массовую долю компонента в пробе (ω_i , %) вычисляют по формуле:

$$\omega_i = \frac{S_i}{S_{\text{ст}}} \cdot r \cdot 100 ,$$

где S_i и $S_{\text{ст}}$ – площади пиков анализируемого и стандартного веществ соответственно, мм^2 ; r – отношение массы стандарта к массе пробы.

Лабораторная работа № 1

Определение качественного состава смеси на основе характеристик удерживания

Цель работы:

- 1) Сформировать представление о теоретических основах хроматографических методов анализа.
- 2) Идентифицировать компоненты хроматографируемой смеси по объемам удерживания
- 3) Для идентифицированных компонентов рассчитать удельные удерживаемые объемы.

Методические рекомендации

Газовая хроматография позволяет проводить индивидуальную и групповую идентификацию веществ (т.е. отнесение их к определенной группе соединений). Индивидуальную хроматографическую идентификацию проводят с помощью следующего приема: сравнивают характеристики удерживания компонентов анализируемой смеси с характеристиками удерживания стандартов, компонентов стандартных смесей или с табличными данными.

Характеристики удерживания (рис. 3)

1. *Расстояние удерживания* l_R , мм – расстояние от момента ввода пробы на хроматограмме до максимума соответствующего пика. l_0 – расстояние удерживания несорбирующегося компонента, мм, определяется от момента ввода пробы до максимума пика несорбирующегося компонента;

2. *Исправленное (приведенное) расстояние удерживания*, l'_R – расстояние от вершины пика несорбирующегося компонента до максимума соответствующего пика, мм;

$$l'_R = l_R - l_0$$

3. *Время удерживания* t_R , мин – время, прошедшее от момента ввода пробы в колонку до момента записи максимума соответствующего пика.

Время удерживания можно рассчитать, зная линейную скорость движения диаграммной ленты в потенциометре $U_{л}$, мм/мин:

$$t_R = \frac{l_R}{U_{\text{л}}}$$

(часто время удерживания измеряется непосредственно с помощью секундомера).

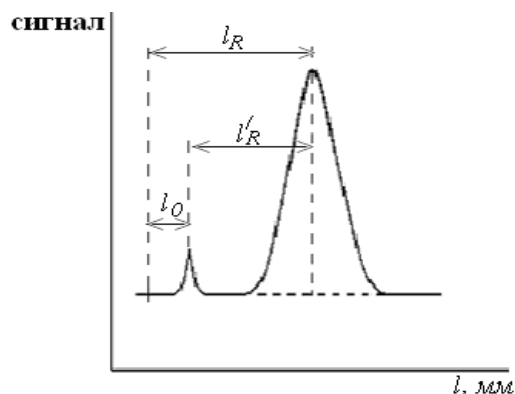


Рис. 3. Хроматограмма, иллюстрирующая расстояние удерживания

4. Исправленное время удерживания t'_R , мин – время, прошедшее с момента появления максимума пика несорбирующегося компонента до появления максимума пика соответствующего соединения,

$$t'_R = t_R - t_0 = \frac{l'_R}{U_{\text{л}}}$$

где t_0 – время удерживания несорбирующегося компонента.

Время удерживания есть функция длины колонки, скорости потока газа-носителя, сорбируемости, температуры. Величиной, не зависящей от скорости потока газа-носителя, является объем удерживания.

5. Объем удерживания (удерживаемый объем), V_R , мл – объем газа-носителя при температуре колонки, прошедшего через колонку за время от момента ввода пробы до момента регистрации максимума соответствующего пика хроматограммы.

$$V_R = F_C \cdot t_R$$

где F_C – исправленная объемная скорость газа носителя, мл/мин.

Объемная скорость газа-носителя F_R измеряется на выходе из колонки жидкостным расходомером. Для расчета истинного (исправленного) значения, F_C , следует учитывать давление насыщенного пара рабочей жидкости расходомера (обычно воды), P_{H_2O} , при температуре

расходомера T_p , тогда ,

$$F_C = F_R \cdot \frac{p_0 - p_{H_2O}}{p_0} \cdot \frac{T_K}{T_P}$$

где F_R – измеренная объемная скорость расхода газа-носителя на выходе из колонки, мл/мин.; P_o – давление газа на выходе из колонки, обычно 1 атм; T_K – температура колонки, К.

6. *Приведенный (исправленный) объем удерживания V_R'* , мл – объем удерживания с поправкой на объем удерживания несорбирующегося компонента (V_o). Рассчитывается по формуле:

$$V_R' = V_R - V_o = F_C \cdot t_R'$$

7. *Эффективный (истинный) объем удерживания V_N* , мл – приведенный объем удерживания, исправленный с учетом перепада давления в колонке:

$$V_N = V_R' \cdot j = F_C \cdot t_R' \cdot j$$

где j – поправочный коэффициент, учитывающий сжимаемость газа носителя в колонке:

$$j = \frac{3 \left(p_i / p_0 \right)^2 - 1}{2 \left(p_i / p_0 \right)^3 - 1}$$

где P_i – давление газа-носителя на входе в колонку, атм; P_o – давление газа-носителя на выходе из колонки, равное 1 атм.

Таким образом, истинный удерживаемый объем равен:

$$V_N = (t_R - t_0) \cdot F_R \cdot \frac{p_0 - p_{H_2O}}{p_0} \cdot \frac{3}{2} \cdot \frac{\left(p_i / p_0 \right)^2 - 1}{\left(p_i / p_0 \right)^3 - 1} \cdot \frac{T_K}{T_P}$$

8. *Удельный объем удерживания при температуре колонки, V_q^T* – истинный объем удерживания, отнесенный к единице массы неподвижной жидкой фазы в колонке. Рассчитывается по формуле:

$$V_q^T = V_N / q$$

где q – масса неподвижной жидкой фазы в колонке, г.

9. *Удельный объем удерживания V_q^o* – удельный объем удерживания при температуре колонки, приведенный к 273 К, рассчитывается по

формуле:

$$V_q^T = V_N^T \cdot \frac{273}{T_K}$$

В газожидкостной хроматографии удельный удерживаемый объем представляет собой физико-химическую константу. Значение ее зависит только от природы жидкой фазы и не зависит от условий хроматографического разделения. Величина V_q^o может быть использована для идентификации компонентов в качественном анализе и для физико-химических исследований.

Экспериментальная часть:

1. Получить от преподавателя контрольную смесь.
2. Выбрать условия хроматографирования исходя из природы анализируемой смеси.
3. На газовом хроматографе снять хроматограмму полученной контрольной смеси.
4. На полученных хроматограммах измерить расстояния удерживания пиков отдельных компонентов смеси и индивидуальных веществ.
5. Рассчитать их объемы удерживания. Сравнивая V_R' компонентов смеси с V_R' индивидуальных веществ, идентифицировать пики контрольной смеси.
6. Для идентификации компонентов смеси рассчитать удельные удерживаемые объемы.
7. Результаты расчета свести в таблицу 1.

Таблица 1

Расчет характеристик удерживания

№	Компонент	l_R' , мм	t_R' , мин.	V_R' , мл
1.				
2.				

Контрольные вопросы:

1. Определение хроматографии. Основные понятия.
2. Хроматография как гибридный аналитический метод. Задачи, решаемые с использованием гибридных методов. Роль хроматографии в современном анализе.
3. Классификация хроматографических методов по разным признакам.
4. Газовая хроматография. Классификация методов газовой хроматографии. Носители, подвижные и неподвижные фазы, требования к ним. Применение метода.
5. Детекторы в жидкостно-адсорбционной хроматографии. Система ввода пробы в колонку. Применение метода жидкостно-адсорбционной хроматографии.
6. Жидкостно-жидкостная (распределительная) хроматография. Основы, варианты и возможности метода. Коэффициент распределения. Носители, подвижные и неподвижные фазы, требования к ним. Применение метода.
7. Основные параметры хроматограммы. Параметры удерживания, использование их в хроматографическом анализе.
8. Качественный хроматографический анализ. Подход к идентификации веществ - использование индексов удержания, стандартной добавки и свидетеля, графических методов, спектральных и химических методов.
9. Методы количественного анализа – внутренней нормализации, абсолютной градуировки, внутреннего стандарта, метод добавок.
10. Что такое: а) общее время удерживания; б) приведенное (исправленное) время удерживания; в) общий удерживаемый объем; г) приведенный (исправленный) удерживаемый объем?
11. В чем сущность качественного хроматографического анализа по величине удерживаемого объема?
12. Почему предпочитают использовать исправленный удерживаемый объем, а не объем удерживания?
13. Какие хроматографические параметры можно использовать для идентификации компонентов смеси?
14. Почему идентификацию компонентов не рекомендуется вести по абсолютным временам удерживания?

15. Какие другие способы идентификации компонентов применяют в хроматографическом анализе?
16. Можно ли сделать вывод о природе веществ на основании хроматографических данных?
17. Как зависит время (объем) удерживания от растворимости соединения в подвижной фазе?
18. Что такое относительный удерживаемый объем и относительное время удерживания?

Лабораторная работа № 2

Определение количественного состава многокомпонентной смеси

Цель работы:

- 1) Определить содержание отдельных компонентов контрольной смеси методом внутренней нормализации без учета калибровочных коэффициентов (методом простой нормировки).

Методические рекомендации

Для определения количественного состава анализируемой смеси используют зависимость между содержанием данного компонента в смеси и размерами соответствующего ему пика на хроматограмме. Чаще всего количественную оценку хроматограмм производят по площади пиков S . Упрощенный метод измерения площади пика состоит в умножении высоты пика на его ширину, измеренную на расстоянии, равном половине высоты.

Метод простой нормировки основан на предположении, что вещества, независимо от их строения, взятые в одинаковом количестве, дают одну и ту же площадь пика. Это приближено выполняется, если вещества химически сходны, а в качестве газа – носителя применяется газ, теплопроводность которого приблизительно на порядок отличается от теплопроводности анализируемых веществ (детектор – катарометр). Такими обычно являются водород и гелий.

Площадь каждого пика рассчитывают путем умножения высоты пика на его ширину, измеренную на полувывсоте пика:

$$S = h \cdot \mu_{0,5}$$

Расчет содержания данного компонента в анализируемой смеси проводят по формуле:

$$\omega_i = \frac{S_i}{S_{\text{ст}}} \cdot r \cdot 100,$$

где S_i и $S_{\text{ст}}$ – площади пиков анализируемого и стандартного веществ соответственно, мм^2 ; r – отношение массы стандарта к массе пробы.

Метод простой нормировки не дает точных результатов в случае различной чувствительности детектора по отношению к разделяемым компонентам смеси.

Экспериментальная часть:

1. Получить у преподавателя контрольную смесь.
2. На газовом хроматографе снять 2–3 воспроизводимых хроматограммы контрольной смеси.
3. Рассчитать площади пиков отдельных компонентов и определить содержание компонентов в смеси.
4. Результаты оформить в виде таблицы 2.

Таблица 2

Расчет состава смеси

	Компонент	Высота пика, мм	Ширина полупика, мм	Площадь пика, мм^2	Содержание компонента, ω , %

Контрольные вопросы:

1. Анализ и расчет хроматограмм. Измерение высот и площадей пиков.
2. В чем сущность основных методов количественной хроматографии: а) нормировки с поправочными коэффициентами; б) абсолютной калибровки; в) внутреннего стандарта?
3. Укажите возможности и ограничения различных количественных методов хроматографического анализа.
4. Как можно измерить площадь пика на хроматограмме? Какой зависимостью связана площадь пика с концентрацией вещества?
5. Почему способ абсолютной калибровки сравнительно редко применяют в хроматографических лабораториях?
6. Как повысить точность определения компонента по методу нормировки?
7. Какие параметры хроматографического пика используют для количественного анализа?
8. В каких случаях в количественном хроматографическом анализе измеряют высоту пика? площадь пика?

Лабораторная работа № 3

Определение критериев разделения

Цель работы:

- 1) Определить степень разделения 2-х компонентов и селективность жидкой фазы на 2-х колонках.
- 2) Определить эффективность хроматографических колонок (число теоретических тарелок и ВЭТТ) с различными жидкими фазами.
- 3) Определить критерии разделения и сравнить две хроматографические колонки по эффективности и селективности.

Методические рекомендации

Для оценки хроматографического разделения компонентов пользуются тремя группами критериев.

1. Первая группа критериев зависит от природы сорбента и сорбата (разделяемых компонентов), от температуры и характеризует качество разделения в зависимости от различия абсорбируемости или растворимости разделяемых веществ. К критериям этой группы относятся степень разделения α_{21} и критерий селективности жидкой фазы K_C , которые определяются соотношениями:

$$\alpha_{21} = \frac{V_{R,2} - V_0}{V_{R,1} - V_0} = \frac{t_{R,2} - t_0}{t_{R,1} - t_0} = \frac{l_{R,2} - l_0}{l_{R,1} - l_0}$$
$$K_C = \frac{V_{R,2} - V_{R,1}}{V_{R,1} + V_{R,1}} = \frac{t_{R,2} - t_{R,1}}{t_{R,1} + t_{R,1}} = \frac{l_{R,2} - l_{R,1}}{l_{R,1} + l_{R,1}}$$

где V_R , t_R , l_R – объем, время, расстояние удерживания разделяемых компонентов смеси, соответственно; V_0 , t_0 , l_0 – объем, время, расстояние удерживания несорбирующегося компонента смеси.

Если $\alpha_{21} = 1$, то вещества не разделяются.

Для неразделяемых веществ $K_C = 0$, при полном разделении значение $K_C \rightarrow 1$. Селективность жидкой фазы не зависит от размеров колонки, природы газа-носителя, от количества введенной в колонку пробы.

2. Вторая группа критериев обусловлена кинетическими и диффузионными факторами, которые вызывают размывание

хроматографических полос. К этим факторам относятся: размеры колонки, природа газа-носителя, скорость потока, температура колонки, количество вводимой в колонку пробы и др. Совокупность параметров хроматографического опыта, входящих во вторую группу, от которых так же, как от селективности, зависит качество разделения, можно назвать общим термином – эффективность.

Эффективность хроматографической колонки выражается числом теоретических тарелок N или высотой, эквивалентной теоретической тарелке, (ВЭТТ), H .

Процесс разделения смеси веществ в хроматографической колонке подобен разделению на тарельчатых ректификационных колонках. По аналогии с теорией дистилляционных колонн хроматографическая колонка мысленно разбивается на ряд последовательных теоретических ступеней – тарелок, через которые периодически проходят порции газа. Предполагается, что за время нахождения порции газа на тарелке успевает установиться равновесие между подвижной и неподвижной фазами для всех компонентов. Таким образом, хроматографический процесс многоступенчатый и состоит из большого числа актов сорбции и десорбции или растворения и испарения, а сама колонка рассматривается как система, состоящая из совокупности многих ступеней – тарелок.

Длина элементарного участка колонки, на котором достигается состояние равновесия между концентрацией вещества в подвижной и неподвижной фазах, называется условно **высотой, эквивалентной теоретической тарелке (ВЭТТ)**.

Существует простая зависимость:

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

где L – длина хроматографической колонки, см;

N – число теоретических тарелок

Число теоретических тарелок связано с параметрами хроматографического пика соотношениями:

$$N = 5,54 \left(\frac{l'_R}{w_{1/2}} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{t'_R}{w_{1/2}} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{V'_R}{w_{1/2}} \right)^2$$

где l_R' , t_R' , V_R' – приведенные (исправленные) расстояние, мм, время, мин, объем удерживания, мл, соответственно; $w_{1/2}$ – ширина хроматографического полупика (ширина пика, измеренная на $1/2$ его высоты), мм.

Число теоретических тарелок зависит от длины колонки и свойств сорбента. ВЭТТ зависит только от типа сорбента и характера его упаковки в колонке. Чем больше N и меньше ВЭТТ для колонки, тем эффективнее происходит разделение на колонке.

Экспериментальная часть:

1. Получить от преподавателя контрольную смесь.
2. Выбрать условия хроматографирования в зависимости от природы анализируемой смеси.
3. На газовом хроматографе в идентичных условиях, но с разными хроматографическими колонками поочередно снять хроматограммы полученной контрольной смеси.
4. На полученных хроматограммах измерить расстояния удерживания пиков отдельных компонентов смеси и индивидуальных веществ.
5. Рассчитать их объемы удерживания (времена удерживания).
6. Рассчитать число теоретических тарелок N , высоту, эквивалентную теоретической тарелке H , критерии разделения α_{21} и K_C и оценить эффективность колонок.
7. Результаты оформить в виде таблицы.

Таблица 3

Расстояния удерживания

	Компо- -нент	Расстояния удерживания мм		Удерживаемый объём, мл		Время удерживания, мин	
		Индивиду альных веществ	Отдельных компонентов смеси	Индивиду альных веществ	Отдельных компонент ов смеси	Индивиду альных веществ	Отдельных компонентов смеси

Контрольные вопросы:

1. Хроматографические параметры (коэффициент разделения, коэффициент емкости, фазовое соотношение, коэффициент удерживания), их соотношение и значение для выбора условий. Основное уравнение хроматограммы.
2. Коэффициент ёмкости колонки. Коэффициент разделения хроматографических пиков.
3. Фронтальный метод разделения веществ.
4. Проявительный (элюентный) метод разделения веществ.
5. Что является наиболее важной причиной размывания хроматографического пика?
6. Какая из теорий хроматографии дает основу для оптимизации хроматографического процесса?
7. Нарисуйте зависимость ВЭТТ от скорости потока подвижной фазы в газовой хроматографии?
8. Теории хроматографических процессов. Теория равновесной хроматографии. Связь скорости перемещения вещества вдоль слоя неподвижной фазы с изотермой адсорбции.
9. Неравновесная хроматография. Основные положения теории теоретических тарелок. Достоинства и ограничения теории теоретических тарелок Мартина и Синджа. Характеристика эффективности колонки.
10. Кинетическая теория хроматографии. Факторы, влияющие на размывание зоны сорбата в газовой и жидкостной хроматографии (вихревая диффузия, молекулярная диффузия, сопротивление массопередаче в подвижной и неподвижной фазах и др.).
11. Какие основные величины входят в уравнение Ван-Деемтера?
12. Какие числовые значения может принимать величина H ? Какое теоретически минимальное значение?
13. Какие хроматографические условия надо менять, чтобы уменьшить вклад в величину H в уравнении Ван-Деемтера?
14. Почему в хроматографическую колонку вводят обычно малые количества определяемых соединений?
15. Какие величины характеризуют эффективность хроматографической колонки? Как ее повысить?

ИОНООБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Ионообменная хроматография – метод разделения и анализа веществ, основанный на эквивалентном обмене ионов анализируемой смеси и ионообменника (ионита). Происходит обмен ионами между фазами гетерогенной системы. Неподвижной фазой являются иониты, подвижной, как правило, вода, т.к. этот элюент обладает хорошими растворяющими и ионизирующими свойствами. Соотношение концентраций обменивающихся ионов в растворе и в фазе сорбента (ионита) определяется ионообменным равновесием.

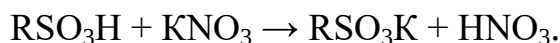
Иониты – полимеры природного или синтетического происхождения, содержащие ионогенные группы. Это могут быть как органические так и неорганические вещества. Иониты имеют разветвленную матричную структуру, в состав которой входят фиксированные ионы. В зависимости от заряда иона матрица имеет положительный или отрицательный заряд, который компенсируется подвижными противоионами.

Наличие в матрице фиксированных ионов (гидрофильных групп) определяет основное физическое свойство ионитов – способность матрицы к набуханию. При этом смола превращается в полиэлектролит, объем ионообменника увеличивается в несколько раз.

В соответствии со свойствами и природой иониты классифицируются на следующие группы.

1. **Катиониты** – в состав матрицы входят фиксированные ионогенные группы кислотного характера: $-\text{HSO}_3^-$; $-\text{HPO}_3^{2-}$; $-\text{COO}^-$ и другие; противоионы $-\text{H}^+$; Na^+ ; K^+ и другие. Например, катионит КУ-2 – это сульфированный сополимер стирола и дивинилбензола RSO_3H в Н-форме, где R – матрица полимера.

На катионите протекают гетерогенные реакции катионного обмена:

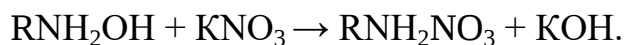


Элюат (раствор, выходящий из колонки) – раствор кислоты.

2. **Аниониты** – в составе матрицы находятся фиксированные аммонийные основания: $-\text{NH}_3^+$; $=\text{NH}_2^+$; $\equiv\text{NH}^+$ и другие; противоионы –

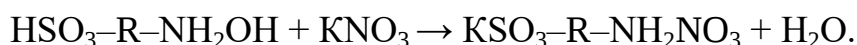
OH^- ; Cl^- и другие. Например, анионит АН-1 имеет формулу RNH_2OH в OH -форме.

На анионите протекают реакции обмена анионами:



Элюат – раствор щелочи.

3. *Амфолиты* – содержат одновременно группы кислотного и основного характера. На этих смолах протекают реакции обмена катионами и анионами:



Элюатом является элюент (вода).

Перед анализом ионит переводят в активную (рабочую) форму: катионит в H -форму, анионит в OH -форму. Для этого через колонку (рис. 4) пропускают раствор кислоты или щелочи соответственно. После каждого анализа ионообменную смолу регенерируют, восстанавливая ее активную форму. Для регенерации ионообменников проводят обратную ионообменную реакцию, пропуская через катионит раствор кислоты, через анионит – раствор щелочи. Таким образом, ионообменные смолы служат много циклов.

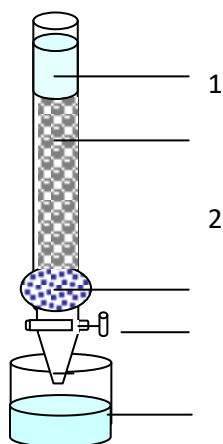


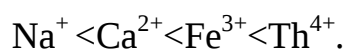
Рис. 4. Ионообменная колонка: 1 – стеклянная трубка; 2 – ионит; 3 – стеклянная вата или синтетическое волокно (дренаж); 4 – кран или зажим; 5 – стакан с элюатом

После ионообменной реакции элюат анализируют титриметрическими, электрохимическими, спектральными и другими методами.

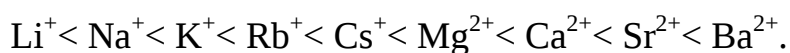
Способность ионитов к ионному обмену количественно определяется обменной емкостью. *Полная динамическая обменная*

емкость – количество моль-эквивалентов иона, поглощаемого 1 г сухого ионита (весовая емкость, моль-экв/г) или 1 см³ набухшей смолы (объемная емкость, моль-экв/см³).

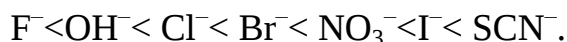
Применение в анализе ионообменников позволяет проводить разделение и селективное определение ионов в смеси. Хроматографическое разделение ионов основано на их различной сорбционной способности по отношению к иониту. Экспериментально установлены ряды сродства ионов к ионообменникам. Для ионов с различными зарядами сорбционная способность возрастает с повышением заряда:



Ионы с одинаковым зарядом на сильнокислотных катионитах сорбируются в определенной последовательности:



Ряды селективности установлены и для анионообменников:



Для достижения селективности разделения ионов выбирают подходящую подвижную фазу и условия анализа (рН, концентрация, ионная сила и состав раствора).

В анализе пищевых продуктов метод ионообменной хроматографии применяется для решения следующих задач:

- 1) концентрирование металлов с последующим анализом элюата полярографическим, фотоколориметрическим, комплексонометрическим или другими методами; эта операция заменяет трудоемкую стадию минерализации пробы.
- 2) концентрирование и определение органических кислот и солей хроматографическими методами.
- 3) определение суммарного содержания катионов или анионов.
- 4) деминерализация (деионизация) пищевых продуктов, при которой удаляются электролиты.
- 5) хроматографическое разделение отдельных ионов и соединений, основанное на их различном сродстве к ионитам.

Лабораторная работа № 4

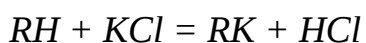
Определение содержания в растворе нейтральных солей

Цель работы:

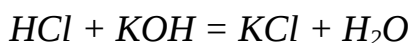
- 1) Ознакомиться с аналитическими возможностями метода ионной хроматографии.
- 2) Ознакомиться с основами колоночной ионообменной хроматографии.
- 3) Научиться готовить колонку с катионитом для проведения анализа.
- 4) Определить содержание в растворе нейтральных солей с применением катионита.

Методические рекомендации

Определение основано на том, что при пропускании раствора нейтральной соли (например, KCl , $NaNO_3$, K_2SO_4 и др.) через колонку с сильнокислотным катионитом в H^+ -форме катионы соли обмениваются на ионы водорода, при этом выделяется сильная кислота в количестве, эквивалентном содержанию соли в растворе:



Количество выделившейся кислоты в элюате (элюат – раствор, вытекающий из колонки) определяют титрованием щелочью:



В качестве сильнокислотного катионита можно использовать в этом случае катионит марки КУ-2 в H^+ -форме.

Экспериментальная часть:

Реактивы: контрольный раствор, индикатор метилоранж, 0,1 Н раствор КОН, дистиллированная вода.

Приборы и посуда: колонка с катионитом КУ-2 в H^+ -форме, мерные колбы на 100 мл, пробирки, пипетки, конические колбы, шпатель, лабораторные штативы и бюретки.

1. Приготовить колонку с катионитом к работе, проверяя элюат из колонки на нейтральность. Для этого отобрать в маленькую пробирку вытекающий из колонки раствор и прибавить индикатор метилоранж. Если при этом окраска раствора в пробирке станет желтой, то считают, что

элюат имеет нейтральную среду, и колонка с катионитом готова к проведению дальнейших работ. В случае, если метилоранж в элюате окрашен в розовый или оранжевый цвет, через колонку с катионитом пропускать небольшими порциями по 10-15 мл дистиллированную воду до тех пор, пока среда элюата не станет нейтральной.

2. Получить от преподавателя контрольный раствор нейтральной соли.

3. Анализируемый раствор, помещенный в мерную колбу вместимостью 100 мл, довести до метки дистиллированной водой и тщательно перемешать.

4. Отобрать пипеткой 10 мл раствора и пропустить через подготовленную колонку с катионитом со скоростью примерно 2 капли в 1 секунду.

5. Вытекающий из колонки раствор собрать в коническую колбу.

6. Для полного вымывания выделившейся кислоты через колонку пропустить дистиллированную воду небольшими порциями по 10-15 мл, **собирая промывные воды в ту же коническую колбу**, до тех пор, пока среда в элюате не станет **нейтральной** (проверять по метилоранжу, отбирая небольшие порции элюата в пробирку).

7. Содержимое конической колбы оттитровать 0,01Н раствором КОН в присутствии метилового оранжевого (раствор титранта приготовить заранее в мерной колбе вместимостью 100 мл разбавлением 0,1 Н КОН).

8. Определение нейтральной соли проводить до получения 3-х воспроизводимых результатов.

9. Содержание соли, m , мг вычислить по формуле:

$$m = (C_H V)_{\text{КОН}} \cdot M_{\text{Э}} \cdot \frac{V_{\text{к}}}{V_{\text{а}}}$$

где C – молярная концентрация эквивалента рабочего раствора, $M_{\text{Э}}$ – молярная масса эквивалента анализируемой соли, г/моль; $V_{\text{к}}$ – общий объем анализируемого раствора, мл; $V_{\text{а}}$ – аликвотная часть анализируемого раствора, мл.

Примечание: при выполнении работы следует помнить, что над слоем катионообменника все время должна находиться жидкость. В случае образования в колонке пузырьков воздуха катионообменник следует взрыхлить стеклянной палочкой.

Лабораторная работа № 5

Определение динамической обменной емкости катионита

Цель работы:

- 1) Закрепить навыки подготовки ионообменной колонки к анализу
- 2) Определить динамическую обменную емкость катионита.

Методические рекомендации

Свойство ионита поглощать определенное количество ионов из раствора характеризуется обменной емкостью. Обменную емкость выражают количеством миллимоль-эквивалентов обменивающегося иона на единицу массы сухой смолы или объема набухшего ионита (мэкв/г или мэкв/мл).

В настоящее время ионный обмен широко используется для устранения жесткости природных вод, которая обусловлена наличием в воде солей кальция и магния. При пропускании такой воды через колонку с катионитом в Na^+ -форме, катионы магния и кальция поглощаются ионитом, а вместо них в элюат поступает эквивалентное количество ионов натрия. Определение обменной емкости катионита в этой работе практически сводится к фиксированию момента проскока, когда часть ионов кальция и магния будет проходить в элюат, хотя пропускаемая через катионит жесткая вода еще будет обменивать ионы кальция и магния на ионы натрия.

При выполнении данной работы следует:

- 1) Определить жесткость пропускаемой через катионит исходной воды.
- 2) Определить динамическую обменную емкость катионита, пропуская исходную воду с установленной жесткостью через катионит в Na^+ -форме и фиксируя момент проскока ионов кальция и магния в вытекающем из колонки растворе (элюате).

Экспериментальная часть:

Реактивы: аммиачный буфер, дистиллированная вода, трилон Б, эриохром чёрный Т.

Приборы и посуда: колонка с катионитом в Na^+ -форме, конические колбы на 250 мл, пипетки, цилиндры, шпатель, лабораторные штативы и бюретки, пробирки, пипетки

1. Определение жесткости воды

В коническую колбу вместимостью 250 мл внести пипеткой 10 мл жесткой воды, прилить цилиндром 90 мл дистиллированной воды, 5 мл аммиачного буфера, добавить на кончике шпателя индикатор эриохром черный Т. Содержимое колбы титровать раствором трилона Б, добавляя его по каплям до перехода фиолетово-красного в синий. Титрование повторять до получения 3-х воспроизводимых результатов.

Расчет жесткости воды провести по формуле:

$$Ж(\text{H}_2\text{O}) = \frac{C_H \cdot V \cdot 1000}{10}, \text{ мэкв/л}$$

где V – средний объем трилона Б, израсходованный на титрование, мл; C_H – молярная концентрация эквивалента трилона Б, моль-экв/л; 10 – объем воды (мл), взятой для титрования; 1000 – множитель для перехода единиц измерения от моль-экв к ммоль-экв (мэкв)

2. Определение ДОЕ (динамической обменной ёмкости) катионита.

Через ионообменную колонку с катионитом в Na^+ -форме пропустить воду, жесткость которой предварительно определялась трилонометрически. Установить момент проскока ионов кальция и магния в элюате. Для этого в маленькую пробирку внести каплю раствора индикатора в аммонийном буфере и добавить несколько капель вытекающей из ионообменной колонки воды. Если цвет содержимого пробирки голубой, проскока еще не произошло. Если у раствора наблюдается сиреневатый оттенок, то в элюате, вытекающем из колонки, уже появились ионы кальция или магния. При этом необходимо фиксировать объем пропущенной воды до проскока, т.е. объем умягченного элюата. Объем катионита вычисляют путем умножения площади сечения колонки на высоту слоя катионита. (При диаметре колонки в 2 см площадь сечения ее составляет $3,14 \text{ см}^2$).

Расчет динамической обменной емкости катионообменника проводят по формуле:

$$ДОЕ = \frac{V_1 \cdot Ж(H_2O) \cdot 1000}{V_2}, \text{ мэкв/м}^3$$

где V_1 – объем умягченного элюата, мл; V_2 – объем катионита, см³;
 $Ж(H_2O)$ – жесткость пропускаемой через колонки воды, мэкв/л; 1000 – множитель для перевода единиц измерения от мэкв/л к мэкв/м³.

Лабораторная работа № 6

Определение ионов никеля и цинка в смеси с использованием разделения их на анионите

Цель работы:

- 1) Научиться готовить колонку с анионитом.
- 2) Определить содержание никеля и цинка в смеси с использованием их предварительного разделения на анионите АВ-17 в Cl^- – форме.

Методические рекомендации

Для разделения катионов $Zn(II)$ и $Ni(II)$ используют способность ионов цинка образовывать с HCl отрицательно заряженный хлоридный комплекс $[ZnCl_3]^-$. Ионы никеля таких комплексов не образуют. При пропускании через колонку с анионообменником в Cl^- – форме раствора, содержащего катионы никеля и отрицательно заряженные комплексные ионы цинка, происходит поглощение последних, а ионы никеля проходят через анионообменник в элюат.

Экспериментальная часть:

Реактивы: 0,25 М раствор $ZnSO_4$, 0,25 М раствора $NiSO_4$, 6М и 2М растворы HCl , дистиллированная вода, 6 М раствор $NaOH$, 12% раствор аммиака, красная лакмусовая бумага, мурексид, трилон Б, аммиачная буферная смесь, индикатор эриохром черный Т.

Приборы и посуда: колонку с анионитом АВ-17 в Cl^- - форме, химические стаканы на 100 мл, конические колбы на 250 мл, пипетки, лабораторные штативы и бюретки, шпатель.

1. Разделение цинка и никеля

В стакан емкостью 100 мл поместить смесь из 1,5–3 мл 0,25 М раствора ZnSO_4 и 1,5–3 мл 0,25 М раствора NiSO_4 .

К анализируемому раствору добавить 5 мл 6 М раствора HCl , при этом катионы цинка образуют хлоридные комплексные анионы $[\text{ZnCl}_3]^-$. Полученный раствор пропустить со скоростью 1 капля в 1 секунду через колонку с анионитом АВ-17 в Cl^- - форме. Вытекающий из колонки раствор, содержащий ионы никеля, собрать в коническую колбу емкостью 250 мл. Для полного вымывания из анионита ионов никеля через колонку пропустить отдельными порциями по 10-15 мл около 100 мл 2 М раствора HCl .

Для извлечения ионов цинка анионит промыть 100 мл дистиллированной воды со скоростью 2 капли в 1 секунду. Промывание проводить отдельными порциями по 10–15 мл дистиллированной воды так, чтобы каждая новая порция прибавлялась только после полного вытекания предыдущей. Элюат, содержащий ионы цинка, собрать в другую коническую колбу емкостью 250 мл. Следует помнить, что над слоем анионита всегда должна находиться жидкость.

2. Определение никеля

Содержание ионов никеля в солянокислом растворе определяют комплексометрическим методом. Для этого в коническую колбу с ионами никеля добавить 50 мл дистиллированной воды, 10 мл 6 М раствора NaOH и по каплям 12% раствор аммиака до изменения окраски красной лакмусовой бумаги в серо-голубой цвет (красную лакмусовую бумагу помещают в раствор и, не вынимая ее, следят за изменением цвета). После этого добавить на кончике шпателя индикатор мурексид и титровать трилоном Б до перехода желтой окраски раствора в фиолетовую.

Содержание никеля рассчитать по формуле:

$$m(\text{Ni}^{2+}) = \frac{C \cdot V \cdot M_{\text{э}}}{1000}$$

где C – молярная концентрация эквивалента трилона Б, моль-экв/л ;

V – объем трилона Б, израсходованный на титрование, мл; $M_{\text{э}}(\text{Ni}^{2+})$ – молярная масса эквивалента никеля в данной реакции, г/моль-экв;
 $m(\text{Ni}^{2+})$ – масса никеля в исследуемом растворе, г.

3. Определение цинка

В коническую колбу, содержащую ионы цинка, добавить по каплям из бюретки 12% раствор аммиака до щелочной среды по красному лакмусу, 5 мл аммиачной буферной смеси, индикатор эриохром черный Т на кончике шпателя и титровать трилоном Б до изменения фиолетово-красной окраски в синюю.

Содержание цинка рассчитать по формуле:

$$m(\text{Zn}^{2+}) = \frac{C \cdot V \cdot M_{\text{э}}}{1000}$$

где C – молярная концентрация эквивалента трилона Б, моль-экв/л;
 V – объем трилона Б, израсходованный на титрование, мл; $M_{\text{э}}(\text{Zn}^{2+})$ – молярная масса эквивалента цинка в данной реакции, г/моль-экв;
 $m(\text{Zn}^{2+})$ – масса цинка в исследуемом растворе, г

Контрольные вопросы к теме ионообменная хроматография:

1. Сущность метода ионообменной хроматографии?
2. Основные представления о механизме ионного обмена. Использование процессов ионного обмена в аналитической химии.
3. Сорбенты ионообменной хроматографии и их физико-химические свойства.
4. Как подготовить ионообменную смолу к работе?
5. Какие функциональные группы обеспечивают обменные свойства различных синтетических ионообменных смол?
6. Какие типы катионитов и анионитов Вам известны?
7. Что такое «обменная емкость» ионита, в каких единицах измеряется?
8. Хроматографические параметры удерживания в ионообменной хроматографии.
9. Как определяют: а) статическую обменную ёмкость ионита; б) динамическую обменную ёмкость ионита?
10. Зависит ли селективность ионообменника от его ёмкости?

11. Как провести деионизацию воды с помощью ионообменников?
Напишите уравнения реакций.
12. Каковы области применения, достоинства и недостатки ионообменной хроматографии?
13. Классификация детекторов в ионной хроматографии. Требования к ним.
14. Кондуктометрические детекторы в ионной хроматографии.
15. Амперометрическое детектирование в ионной хроматографии.
16. Спектрофотометрическое (фотометрическое) детектирование в ионной хроматографии.
17. Флуоресцентное детектирование.

ПЛОСКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

К плоскостным видам хроматографии относят бумажную (БХ) и тонкослойную (ТСХ). Эти два вида жидкостной хроматографии просты по технике выполнения, экспрессны, не требуют дорогостоящего оборудования. Разделение этими методами может быть выполнено с использованием хроматографических систем жидкость–твердый сорбент и жидкость–жидкость–твердый сорбент, поэтому выделяют адсорбционную, распределительную, обращенно-фазовую и ионообменную плоскостную хроматографию. Тонкослойную хроматографию используют чаще, чем бумажную.

1. ХРОМАТОГРАФИЯ НА БУМАГЕ

Метод хроматографии на бумаге относится к плоскостной хроматографии, он основан на распределении анализируемых веществ между двумя несмешивающимися жидкостями.

В распределительной хроматографии разделение веществ происходит вследствие различия коэффициентов распределения компонентов между двумя несмешивающимися жидкостями. Вещество присутствует в обеих фазах в виде раствора. Неподвижная фаза удерживается в порах хроматографической бумаги, не взаимодействуя с ней, бумага выполняет функцию носителя неподвижной фазы.

Виды хроматографической бумаги:

1) гидрофильная бумага удерживает в порах до 22 % воды; неподвижная фаза – вода, подвижная – органический растворитель; такая бумага применяется для определения водорастворимых веществ.

2) гидрофобная бумага отталкивает воду, поэтому ее пропитывают неполярным органическим растворителем (неподвижная фаза); подвижная фаза – вода; такая бумага применяется для определения нерастворимых в воде соединений (жирорастворимые кислоты, витамины).

К хроматографической бумаге предъявляются следующие требования:

- 1) химическая чистота
- 2) химическая и адсорбционная нейтральность по отношению к анализируемым веществам и подвижной фазе

- 3) однородность по плотности
- 4) одинаковая направленность волокон.

Для получения хроматограммы на бумагу наносят каплю анализируемой смеси. Бумагу помещают в хроматографическую камеру, ее конец погружают в сосуд с элюентом. Растворитель продвигается по бумаге, смесь анализируемых веществ распределяется между подвижной и неподвижной фазами и разделяется на бумаге в виде пятен или полос. Положение зон компонентов определяют проявлением хроматографической бумаги соответствующими реагентами, которые с компонентами разделяемой смеси образуют окрашенные соединения.

Для количественной оценки способности разделения веществ в хроматографической системе применяют коэффициент распределения K_p – отношение концентрации вещества в неподвижной и подвижной фазах. Экспериментальное установление коэффициентов распределения в данном методе невозможно, для оценки способности разделения веществ на бумаге применяют коэффициент смещения (подвижности) R_f . Коэффициент смещения равен отношению скорости движения вещества (v_B) к скорости движения подвижной фазы ($v_{ПФ}$). Экспериментально величину R_f находят как отношение расстояния X , пройденного веществом, к расстоянию X_f , пройденному растворителем от старта до линии фронта:

$$R_f = \frac{v_B}{v_{ПФ}} = \frac{X}{X_f}.$$

Коэффициент R_f изменяется в пределах 0 – 1,00. Величина R_f зависит от природы определяемого вещества, вида хроматографической бумаги, качества и природы растворителя, способа нанесения пробы, техники эксперимента и температуры. Коэффициент R_f не зависит от концентрации определяемого вещества и присутствия других компонентов.

Идентификацию по хроматограмме выполняют следующими способами:

- 1) визуальным сравнением характерной окраски зон веществ на исследуемой и стандартной хроматограммах

- 2) измерением коэффициентов подвижности R_f для стандартного и анализируемого вещества в определенном растворителе.

Хроматографирование и установление R_f для исследуемой и стандартной смесей проводят на одинаковой бумаге и в одной камере в строго идентичных условиях. Сопоставляя коэффициенты R_f , делают заключение о присутствии в анализируемой смеси тех или иных компонентов.

Количественное определение выполняют непосредственно по хроматограмме или при вымывании (элюировании) анализируемого вещества с бумаги.

Способы количественного анализа:

- 1) визуальное сравнение интенсивности окраски пятен на исследуемой и стандартной хроматограммах (полуколичественное определение, точность 15 – 20 %)
- 2) измерение площади пятна, образованного данным компонентом, и нахождение концентрации вещества по градуировочному графику, построенному для серии стандартных растворов в координатах: площадь пятна – концентрация вещества; точность определения 5 – 10 %
- 3) элюирование определяемого вещества с поверхности хроматограммы и спектрофотометрическое или флуориметрическое измерение оптической плотности элюата (A); концентрацию вещества в растворе рассчитывают по формуле:

$$C = K \cdot S \cdot A,$$

где K – коэффициент пропорциональности; S – площадь пятна, измеренная предварительно, мм^2 ; A – оптическая плотность элюата; точность определения 1 %.

По способу хроматографирования различают восходящую (рис. 5), нисходящую (рис. 6), круговую (рис. 7), градиентную и двухмерную хроматографии.

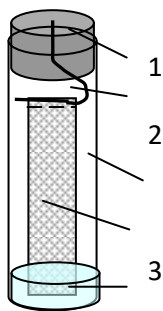


Рис. 5. Камера для восходящей хроматографии:
1 – пробка; 2 – крючок; 3 – стеклянный сосуд;
4 – полоска бумаги; 5 – растворитель

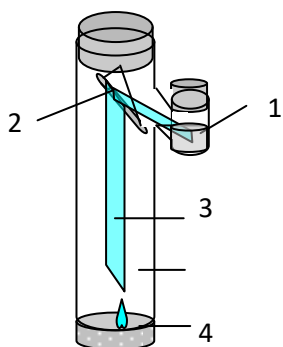


Рис. 6. Хроматографическая камера для нисходящей хроматографии: 1 – растворитель; 2 – перекладина для бумаги; 3 – полоска бумаги; 4 – стеклянный сосуд; 5 – стекающий растворитель

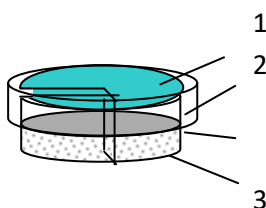


Рис. 7. Разделение веществ методом круговой хроматографии: 1 – хроматографическая бумага; 2 – крышка; 3 – чашка Петри; 4 – органический растворитель

Метод хроматографии на бумаге широко применяется для определения неорганических соединений, аминокислот, аминов, белков, углеводов, жирных кислот, фенолов, витаминов в химической, пищевой, фармацевтической промышленности, медицине, биохимии.

Метод нашел применение в анализе практически всех пищевых продуктов: в сахарном производстве – для определения углеводов; в хлебопекарном и кондитерском – аминокислот, органических кислот, углеводов, полисахаридов и карбонильных соединений; в виноделии – органических кислот и аминокислот; в производстве молока и молочных продуктов – аминокислот; в мясоперерабатывающей промышленности – фенолов, жирных и летучих кислот, аминокислот и карбонильных соединений.

Лабораторная работа № 7
Разделение железа (III) и меди (II)
методом круговой бумажной хроматографии (4 часа)

Цель работы:

- 1) Ознакомиться с основами бумажной хроматографии.
- 2) Научиться составлять план методики проведения анализа.
- 3) Отработать навыки приготовления хроматографической бумаги.
- 4) Закрепить навыки работы с камерой для бумажной хроматографии и проявления хроматограмм.
- 5) Разделить и идентифицировать ионы железа и меди методом круговой бумажной хроматографии.

Методические рекомендации

Хроматография на бумаге – разновидность метода распределительной хроматографии. Носителем для неподвижного растворителя служит при этом фильтровальная бумага.

Анализ смеси веществ проводят по следующей схеме: на круглый обеззоленный фильтр в центр наносят каплю разделяемой смеси, фильтр подсушивают и помещают в хроматографическую камеру с ПФ. ПФ под действием капиллярных сил поднимается по «фитилю», достигает стартового пятна с разделяемой смесью, вместе с ней перемещаются с различной скоростью определяемые вещества.

Анализируемый раствор наносят на стартовую линию с помощью стеклянного капилляра в объеме не более 5–10 мкл. Чем меньше площадь стартового пятна, тем менее размытой будет зона вещества после хроматографирования. Поэтому пробу наносят в одну и ту же точку в несколько приемов, каждый раз подсушивая пятно.

Зоны разделяемых веществ имеют вид концентрических колец, которые могут быть видимыми и невидимыми; в последнем случае хроматограмму проявляют – опрыскивают раствором специфического реагента, либо подвергают воздействию УФ-излучения (рис. 8).

Скорость перемещения компонентов определяется соответствующими коэффициентами распределения: чем меньше

коэффициент распределения, тем быстрее вещество передвигается по сорбенту. В качестве характеристики удерживания используется величина R_f – подвижность, определяемая как отношение расстояния фронтов компонента и ПФ:

$$R_f = \frac{l}{L},$$

где l – расстояние, пройденное зоной компонента от старта пятна, см;
 L – расстояние, пройденное подвижной фазой, см.

Под фронтом растворителя понимают видимую границу распространения растворителя по бумаге.

Величина R_f каждого катиона не зависит от концентрации определяемого катиона, температуры, присутствия других катионов и природы аниона, с которым связан изучаемый катион, но зависит от состава и свойств используемой ПФ, а также сорта хроматографической бумаги. У катионов железа (III) и меди (II) значения R_f значительно отличаются по величине. Поэтому удастся их четкое разделение на бумаге.

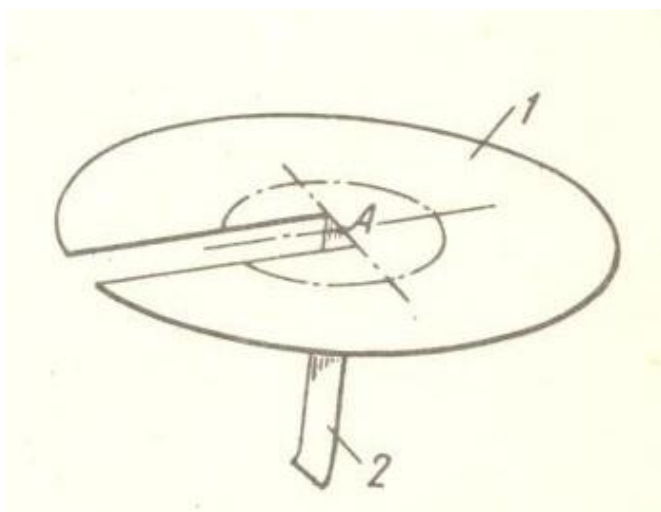


Рис.8. Круговая хроматограмма

1 – круглый фильтр; 2 – «фитиль», погружаемый в растворитель; А – место нанесения анализируемого раствора.

Экспериментальная часть:

Реактивы: Хроматографическая бумага, стандартные растворы солей Fe^{3+} , Cu^{2+} с концентрацией 1 мг/мл; раствор $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 10% -ный. Подвижная фаза – смесь этанола с 5 М HCl (9:1) по объему, обеззоленная фильтровальная бумага «синяя лента».

Приборы и посуда:

Хроматографическая камера, капилляры стеклянные, кристаллизаторы, тигли, стеклянный пульверизатор.

Ход работы:

1. На круглом обеззоленном фильтре «синяя лента» диаметром 12,5 см простым карандашом наметить контуры «фитиля» длиной 40 мм и шириной 4 мм (см. рис. 3).

2. На центр фильтра с помощью капилляра нанести каплю раствора разделяемой смеси. Раствор наносить в несколько приемов, чтобы впитывание происходило за счет капиллярных сил бумаги. Образовавшееся пятно осторожно обвести простым карандашом, т.е. фиксировать его положение на бумаге. Бумагу высушить, вырезать «фитиль», как показано на схеме.

3. В хроматографическую камеру поместить кристаллизатор и тигель с 10 мл подвижной фазы. Кислоту добавлять к органическому растворителю, чтобы предотвратить адсорбцию ионов бумагой. На кристаллизатор сверху поместить фильтр, следя за тем, чтобы «фитиль» был погружен в растворитель, и закрыть камеру крышкой. Во время разделения не рекомендуется открывать крышку камеры, перемещать камеру.

3. Когда произойдет размывание первичного пятна растворителем, и фронт ПФ пройдет заданное расстояние, бумагу вынуть из камеры, отметить карандашом границы фронта растворителя, высушить в токе теплого воздуха и приступить к проявлению зон.

4. Для проявления зон локализации ионов Fe^{3+} и Cu^{2+} фильтр опрыскать раствором $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ из стеклянного пульверизатора (*металлический непригоден!*). В результате на хроматограмме проявляется синяя зона $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ и коричневая зона $\text{Cu}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

5. Рассчитать для обоих катионов значения R_f , считая началом их пути наружную границу первоначального пятна, отмеченную карандашом, а концом пути – наружные границы появившихся после проявления кольцевых зон локализации. Расстояние же, пройденное фронтом растворителя, мм, отсчитывать от центра хроматограммы (центра бумажного круга).

6. Рассчитать коэффициент разделения α как отношение подвижностей R_f и оценить степень разделения катионов.

Лабораторная работа № 8

Разделение смеси аминокислот

Цель работы:

- 1) Разделить и идентифицировать смесь простейших аминокислот – α -аланина и аспарагиновой кислоты методом круговой бумажной хроматографии.

Методические рекомендации

Хроматография на бумаге – разновидность метода распределительной хроматографии. Носителем для неподвижного растворителя служит при этом хроматографическая бумага.

Разделению смеси аминокислот мешают следы металлов в бумаге для хроматографии, которые вымывают раствором 8-оксихинолина или комплексона III. Для этого из хроматографической бумаги № 1 или № 2 вырезают круглые листки диаметром 10–12 см и обрабатывают 0,1%-ным раствором 8-оксихинолина, приготовленным на смеси н-бутанола, ледяной уксусной кислоты и воды в соотношении по объему (8:1:1). Бумагу погружают на 1–2 мин в раствор 8-оксихинолина, затем подсушивают, помещают в хроматографическую камеру и пропускают ПФ до полного обесцвечивания темноокрашенных соединений 8-оксихинолина с катионами металлов. Затем бумагу многократно промывают

дистиллированной водой и сушат на воздухе. Эта подготовка выполняется заблаговременно.

Анализ смеси веществ проводят по следующей схеме: на круглый обеззоленный фильтр в центр наносят каплю разделяемой смеси, фильтр подсушивают и помещают в хроматографическую камеру с ПФ. ПФ под действием капиллярных сил поднимается по «фитилю», достигает стартового пятна с разделяемой смесью, вместе с ней перемещаются с различной скоростью определяемые вещества.

Анализируемый раствор наносят на стартовую линию с помощью стеклянного капилляра в объеме не более 5–10 мкл. Чем меньше площадь стартового пятна, тем менее размытой будет зона вещества после хроматографирования. Поэтому пробу наносят в одну и ту же точку в несколько приемов, каждый раз подсушивая пятно.

Зоны разделяемых веществ имеют вид концентрических колец, которые могут быть видимыми и невидимыми; в последнем случае хроматограмму проявляют – опрыскивают раствором специфического реагента, либо подвергают воздействию УФ-излучения (Рис. 8).

Скорость перемещения компонентов определяется соответствующими коэффициентами распределения: чем меньше коэффициент распределения, тем быстрее вещество передвигается по сорбенту. В качестве характеристики удерживания используется величина R_f – подвижность, определяемая как отношение расстояния фронтов компонента и ПФ:

$$R_f = \frac{l}{L},$$

где l – расстояние, пройденное зоной компонента от старта пятна, см;

L – расстояние, пройденное подвижной фазой, см.

Под фронтом растворителя понимают видимую границу распространения растворителя по бумаге.

При этом в качестве подвижной фазы используют смесь н-бутанола, ледяной уксусной кислоты и воды в объемном соотношении (4:1:5), смесь тщательно взбалтывают и после расслоения берут верхний слой. Проявителем служит раствор с массовой долей нингидрина 0,25% в водонасыщенном н-бутиловом спирте. Нингидрин дает с аминокислотами оранжево-коричневое окрашивание бумаги.

Экспериментальная часть:

Реактивы: Хроматографическая бумага № 1 или № 2, стандартные растворы α -аланина и аспарагиновой кислоты с концентрацией 0,5 мг/мл, раствор нингидрина 0,25% в водонасыщенном н-бутиловом спирте,

Подвижная фаза – н-бутанола, ледяной уксусной кислоты и воды в объемном соотношении (4:1:5).

Приборы и посуда: Хроматографическая камера, капилляры стеклянные, кристаллизатор и тигель, стеклянный пульверизатор.

Ход работы:

1. На предварительно подготовленной хроматографической бумаге простым карандашом наметить контуры «фитиля» длиной 40 мм и шириной 4 мм (Рис. 8).

2. На центр бумаги с помощью капилляра нанести каплю раствора разделяемой смеси. Раствор наносить в несколько приемов, чтобы впитывание происходило за счет капиллярных сил бумаги. Образовавшееся пятно осторожно обвести простым карандашом, т. е. зафиксировать его положение на бумаге. Бумагу высушить, вырезать «фитиль», как показано на схеме.

3. В хроматографическую камеру поместить кристаллизатор и тигель с 10 мл подвижной фазы. На кристаллизатор сверху поместить круг бумаги, следя за тем, чтобы «фитиль» был погружен в растворитель, и закрыть камеру крышкой. Во время разделения не рекомендуется открывать крышку камеры, перемещать камеру.

3. Когда произойдет размывание первичного пятна растворителем, и фронт ПФ пройдет расстояние, не доходя до края бумаги, бумагу вынуть из камеры, отметить карандашом границы фронта растворителя, высушить в токе теплого воздуха и приступить к проявлению зон.

4. Для проявления зон локализации аспарагиновой кислоты и α -аланина бумагу опрыскивать проявителем из стеклянного пульверизатора. Из появляющихся двух кольцевых окрашенных зон локализации первая принадлежит аспарагиновой кислоте, вторая – α -аланину.

5. Рассчитать для обеих аминокислот значения R_f , считая началом их пути наружную границу первоначального пятна, отмеченную карандашом, а концом пути – наружные границы появившихся после проявления

кольцевых зон локализации. Расстояние же, пройденное фронтом растворителя, мм, отсчитывать от центра хроматограммы (центра бумажного круга).

6. Рассчитать коэффициент разделения α как отношение подвижностей R_f и оценить степень разделения аминокислот.

2. ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Метод тонкослойной хроматографии был разработан Н. А. Измайловым и М. С. Шрайбер в 1938 г. В методе ТСХ неподвижная твердая фаза (силикагель, оксид алюминия, порошок целлюлозы) тонким слоем наносится на стеклянную, пластмассовую или металлическую пластинку. В качестве подвижной фазы используют различные растворители или их смеси, органические и неорганические кислоты. Выбор растворителя зависит от природы сорбента и свойств анализируемых соединений. Например, при хроматографировании аминокислот используют смесь н-бутанола с уксусной кислотой и водой, при анализе неорганических ионов – водные буферные растворы, создающие постоянное значение pH.

В ТСХ чаще используют восходящий способ получения хроматограммы. Раствор образца наносят микропипеткой на небольшом расстоянии от края пластинки на стартовую линию, и край пластинки погружают в растворитель, который действует как подвижная фаза жидкостной адсорбционной хроматографии. Под действием капиллярных сил растворитель поднимается вверх по пластинке и с разной скоростью переносит за собой компоненты смеси, что приводит к их пространственному разделению. Чтобы растворитель не испарялся с поверхности сорбента, пластинка на время разделения должна быть помещена в герметически закрытую прозрачную камеру (Рис. 5). Разделяемые компоненты на пластинке образуют отдельные зоны (пятна). Хроматографирование продолжают до тех пор, пока растворитель не пройдет от линии старта около 10 см до так называемой линии фронта. После этого пластинку вынимают из хроматографической камеры, подсушивают на воздухе и определяют положение пятен.

В нисходящей хроматографии растворитель передвигается по слою вниз под действием и капиллярных, и гравитационных сил (Рис. 6).

Горизонтальная хроматография выполняется в виде круговой и со свободным испарением растворителя. В круговой хроматографии в центр горизонтально установленной пластинки вносят каплю анализируемой смеси и непрерывно подают растворитель, который под действием капиллярных сил движется в радиальном направлении от центра (Рис. 7). Компоненты смеси располагаются в слое в виде концентрических колец.

Схема разделения смеси веществ методом тонкослойной хроматографии приведена на рис. 9. Пятна характеризуют положение компонентов А, В, С на пластинке в конце опыта.

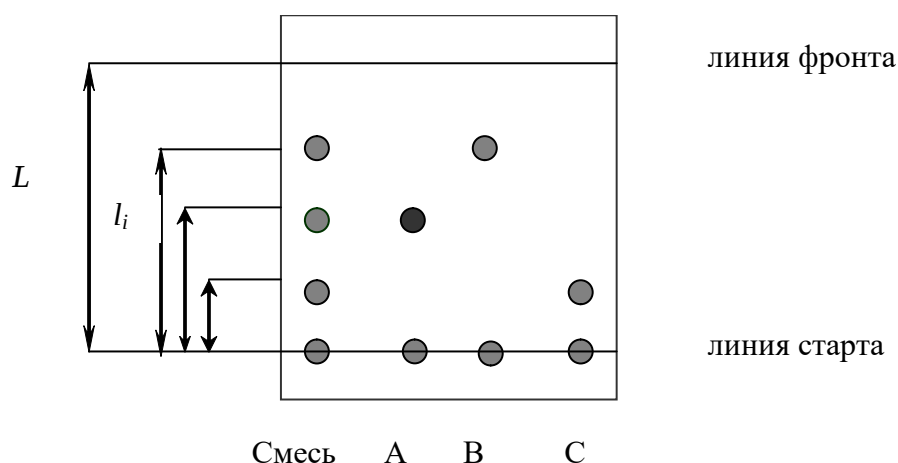


Рис. 9. Схема разделения методом восходящей тонкослойной хроматографии

Сорбционные свойства системы в ТСХ характеризуются подвижностью R_f – относительной скоростью перемещения компонентов в тонком слое. Величины R_f рассчитываются из экспериментальных данных (Рис. 9):

$$R_f = l_i / L$$

где l_i – расстояние от стартовой линии до центра пятна, L – расстояние, пройденное растворителем от стартовой линии до границы фронта растворителя.

R_f характеризует положение пятна на хроматограмме. Это константа для данного вещества на данном сорбенте в данной системе растворителей.

На величину R_f влияют качество и активность сорбента, его влажность, толщина слоя, качество и природа растворителя, техника эксперимента (способ нанесения пробы, способ детектирования) и другие факторы. На практике часто пользуются относительной величиной

$$R_{f,отн} = \frac{R_{f,i}}{R_{f,см}}$$

где $R_{f,см}$ также рассчитывают по уравнению (1.1).

Разделение двух веществ с $R_{f,1}$ и $R_{f,2}$ практически возможно, если $R_{f,1} > R_{f,2}$ и $\Delta R_f \geq 0,1$. Эффективность выбранного варианта ТСХ (адсорбционного, распределительного, ионообменного) и хроматографической системы можно оценить по фактору разделения (селективности) двух веществ с разными коэффициентами распределения:

$$\alpha = \frac{D_1}{D_2} = \frac{\left(\frac{1}{R_{f,2}} - 1\right)}{\left(\frac{1}{R_{f,1}} - 1\right)}$$

Качественный анализ. Проще всего идентификация вещества может быть сделана, если пятно определяемого вещества имеет характерную окраску. Невидимые хроматограммы проявляют соответствующими реагентами, как правило, групповыми. По характерной окраске образующихся цветных зон судят о составе анализируемой пробы. При обработке пластинки, например, парами иода четко проявляются неопределенные соединения; при опрыскивании пластинки тиоцианатом кобальта амины образуют голубые пятна на розово-белом фоне. В физических методах проявления используется способность некоторых веществ флуоресцировать под действием УФ-излучения.

Наиболее общий подход к качественному анализу основан на значениях R_f . При соблюдении стандартных условий получают воспроизводимые значения R_f , которые можно использовать в аналитических целях при сравнении с табличными, если они получены в тех же условиях опыта; более надежно использовать значения $R_{f,отн}$.

Самым надежным способом является метод свидетелей (стандартных веществ). Стандартное вещество в том же растворителе наносится на стартовую линию рядом с анализируемой пробой и, таким образом, хроматографируется в тех же условиях (Рис. 9).

По окончании хроматографирования и проявления хроматограммы приступают к идентификации веществ. Совпадение R_f компонента пробы и одного из свидетелей дает основание для отождествления веществ.

Количественные определения в ТСХ могут быть сделаны непосредственно на пластинке, в этом случае каким-либо способом измеряют площадь пятна и по заранее построенному градуировочному графику находят количество вещества. Применяется также прямое спектрофотометрирование пластинки по спектрам отражения и по спектрам поглощения (фотоденситометрия), для количественных расчетов предварительно строят градуировочный график, используя оптическую плотность в центре пятна. Наиболее точным считается метод, когда анализируемое вещество удаляют с пластинки механическим путем или вымывают подходящим растворителем после вырезания зоны, а затем анализируют спектрофотометрическим, флуориметрическим, атомно-абсорбционным методами.

Метод ТСХ прост по методике выполнения и аппаратуре, экспрессен и не требует для анализа больших количеств вещества. Метод широко используется для идентификации компонентов лекарств, биохимических препаратов, неорганических веществ.

Лабораторная работа № 9

Разделение и обнаружение галогенидов

Цель работы:

- 1) Научиться наносить анализируемый образец на хроматографическую пластинку.
- 2) Разделить и идентифицировать галогенид-ионы методом одномерной восходящей тонкослойной хроматографии.
- 3) Отработать навыки обнаружения веществ на хроматограммах и определения их состава.

Методические рекомендации

В тонкослойной хроматографии (ТСХ) процесс разделения происходит в слое тонкодисперсного сорбента, нанесенного на стеклянную или металлическую пластинку. В органическом анализе наибольшее распространение получила адсорбционная ТСХ (подвижная фаза – жидкость, неподвижная фаза – адсорбент).

Анализ смеси веществ проводят по следующей схеме: на пластинку сорбента на небольшом расстоянии от края наносят на линию старта каплю разделяемой смеси (Рис. 9), пластинку подсушивают и помещают в хроматографическую камеру с ПФ. ПФ под действием капиллярных сил поднимается по сорбенту, вместе с ней перемещаются с различной скоростью определяемые вещества.

Анализируемый раствор наносят на стартовую линию с помощью стеклянного капилляра в объеме не более 5–10 мкл. Чем меньше площадь стартового пятна, тем менее размытой будет зона вещества после хроматографирования. Поэтому пробу наносят в одну и ту же точку в несколько приемов, каждый раз подсушивая пятно.

Зоны разделяемых веществ имеют вид пятен, которые могут быть видимыми и невидимыми; в последнем случае хроматограмму проявляют – опрыскивают раствором специфического реагента, либо подвергают воздействию УФ-излучения.

Скорость перемещения компонентов определяется соответствующими коэффициентами распределения: чем меньше коэффициент распределения, тем быстрее вещество передвигается по

сорбенту. В качестве характеристики удерживания используется величина R_f – подвижность, определяемая как отношение расстояния фронтов компонента и ПФ (Рис. 9).

Измеряют:

- 1) l – расстояние от линии старта до центра пятна компонента, см
- 2) L – расстояние, пройденное ПФ от линии старта до линии фронта, см
- 3) Рассчитывают R_f

$$R_f = \frac{l}{L}$$

Качественный анализ проводят, сравнивая R_f компонентов смеси и стандартных веществ.

Экспериментальная часть:

Реактивы: 1М стандартные растворы NaCl, KBr, KI. Бромкрезоловый пурпурный, 0,1%-ный раствор в этаноле с добавлением 1 капли аммиака.

Подвижная фаза – смесь ацетона (65 мл), н-бутанола (20 мл), конц. аммиака (10 мл), дистиллированной воды (5 мл).

Приборы и посуда: Хроматографическая камера, капилляры стеклянные, хроматографическая пластинка марки «Silufol» или др., фильтровальная бумага,

Ход работы:

1. На дно хроматографической камеры поместить подвижную фазу (высота слоя около 0,5 см), закрепить на задней стенке камеры кусочек фильтровальной бумаги, смоченный в растворителе, затем закрыть крышкой и оставить на 15–20 мин для насыщения камеры парами ПФ.

2. На хроматографической пластинке на расстоянии около 1 см от краев отметить линию старта и линию фронта и с помощью капилляра нанести на стартовую линию каплю раствора разделяемой смеси, рядом нанести по капле растворов индивидуальных галогенидов, используемых в качестве стандартов.

3. Высушенную пластинку поместить в хроматографическую камеру и плотно закрыть камеру крышкой. Во время разделения не рекомендуется

открывать крышку камеры, перемещать камеру. Анионы продвигаются по пластинке в виде аммонийных солей, катионы щелочных металлов остаются на старте.

4. Когда фронт ПФ пройдет заданное расстояние и произойдет разделение компонентов, пластинку вынуть из камеры, высушить в токе теплого воздуха и приступить к идентификации пятен.

5. Для обнаружения пятен хроматограмму необходимо опрыскивать раствором бромкрезолового пурпурного и подсушить. Аммонийные соли дают желтые пятна, а ионы щелочных металлов – ярко-синие (на старте). После хроматографирования сопоставить положение пятен исследуемой смеси и индивидуальных веществ, затем сделать вывод о присутствии или отсутствии их в анализируемом растворе.

6. Для идентификации компонентов сравнить рассчитанные величины R_f для компонентов смеси и индивидуальных веществ. Рассчитать коэффициент разделения α для пар ионов как отношение подвижностей R_f и оценить степень разделения. Сделать вывод о закономерности изменения величины R_f в ряду галогенид-ионов.

Контрольные вопросы к теме плоскостная хроматография

1. Бумажная хроматография. Основные закономерности в процессе разделения веществ в данном методе.
2. Носители, сорбенты и растворители в бумажной хроматографии. Способы получения хроматограмм.
3. Количественный анализ. Области применения бумажной хроматографии в аналитической химии.
4. Распределительная хроматография на бумаге. Основы метода. Классификация по технике выполнения эксперимента. Требования к хроматографической бумаге, растворителям подвижной и неподвижной фазы. Применение.
5. Тонкослойная хроматография – основные закономерности в процессе разделения веществ.
6. Носители, сорбенты и растворители в тонкослойной хроматографии. Качественный анализ. Области применения методов в аналитической химии.
7. Как идентифицировать пятна органических соединений в методе ТСХ?

8. Как выполняют количественный анализ в методе ТСХ?
9. Каковы преимущества двумерной хроматографии перед одномерной бумажной или ТСХ?
10. Как определяют R_f в методе БХ и ТСХ? От чего зависит величина R_f и какие условия нужно поддерживать постоянными при проведении эксперимента?
11. Как можно определить концентрации компонентов смеси после разделения методом БХ или ТСХ?
12. Как выполняется качественный анализ с помощью плоскостных вариантов хроматографии – БХ и ТСХ?
13. Какими способами проба анализируемой смеси веществ вводится в хроматографическую установку в бумажной хроматографии?
14. Почему в методе ТСХ необходимо герметически закрывать камеру с растворителем и пластинкой во время подъема фронта растворителя?
15. Как обнаруживают и идентифицируют компоненты на бумажных и тонкослойных хроматограммах?
16. Каковы области применения, достоинства и недостатки тонкослойной хроматографии?

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев В. П. Аналитическая химия. Ч. 2– М.: Дрофа, 2007. 384 с.
2. Основы аналитической химии. В 2-х книгах. /Золотов Ю.А., Дорохова Е.Н. и др. Под ред. Золотова Ю.А. М.: Высшая школа, 2011. 494 с.
3. Ю.Я.Харитонов. Аналитическая химия. Аналитика. т. 1, 2.– М.: Высшая школа, 2001.– 615 с., 559 с.
4. Аналитическая химия. в 3-х т. /под ред. Л. Н. Москвина. – М.: Академия, 2008. Т. 1– 576 с., Т. 2– 304 с.
5. Кристиан Г. Аналитическая химия: в 2 т.: пер. с англ. – М.: БИНОМ, 2009.– Т. 1. 623 с Т. 2. 504 с.
6. Отто М. Современные методы аналитической химии.– М.: Техносфера, 2008.– 543 с.
7. Васильев В. П. Аналитическая химия: лабораторный практикум / В. П. Васильев, Р. П. Морозова, Л. А. Кочергина.– 3-е изд., стер.– М.: Дрофа, 2006.– 414 с.
8. Практическая газовая и жидкостная хроматография: Учеб. пособие / Б.В. Столяров, И.М. Савинов, А.Г. Виттенберг и др. – СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2006. – 616 с.
9. Царев, Н. И. Практическая газовая хроматография: Учебно-методическое пособие для студентов химического факультета по спецкурсу «Газохроматографические методы анализа» [Электронный ресурс] /Н.И. Царев, В.И. Царев, И.Б. Катраков. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2005. – 156 с. [ht ml](#)
10. Винарский В.А. Хроматография [Электронный ресурс]: Курс лекций в двух частях: Часть 1. Газовая хроматография. – Мн.: Научно-методический центр "Электронная книга БГУ", 2005. – 170 с. № гос. регистрации 1200300210 (есть копия PDF-файла).
11. Шаповалова Е.Н., Пирогов А.В. Хроматографические методы анализа. Методическое пособие для специального курса [Электронный ресурс] / Е.Н. Шаповалова, А.В.Пирогов. – Москва, 2007. – 204 с.[.html](#).
12. <http://www.msu.ru/libraries/> данный интернет источник – сайт научной библиотеки Московского государственного университета.
13. <http://window.edu.ru> данный интернет источник – сайт информационная система "Единое окно доступа к образовательным ресурсам" на котором представлены

- 1) Царев Н.И., Царев В.И., Катраков И.Б. Практическая газовая хроматография: Учебно-методическое пособие для студентов химического факультета
- 2) Л.А. Онучак, С.Ю. Кудряшов. Ю.И.Арутюнов Характеристики удерживания в газовой хроматографии: Учебное пособие.

СОДЕРЖАНИЕ

1	Предисловие	3
2	Общие правила работы в химических лабораториях	4
3	Газожидкостная хроматография	6
4	Лабораторная работа №1	12
5	Лабораторная работа №2	17
6	Лабораторная работа №3	20
7	Ионообменная хроматография	24
8	Лабораторная работа №4	27
9	Лабораторная работа №5	29
10	Лабораторная работа №6	31
11	Плоскостная хроматография	35
12	Лабораторная работа №7	39
13	Лабораторная работа №8	42
14	Лабораторная работа №9	49
15	Литература	53

Учебное издание

Брынских Галина Тимофеевна

Михеева Лариса Алексеевна

**РУКОВОДСТВО ДЛЯ ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧЕСКИХ
РАБОТ ПО ДИСЦИПЛИНЕ "ВВЕДЕНИЕ В
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА"**

для студентов 3 курса экологического факультета
по направлению подготовки бакалавр 040301 «Химия»
очная форма обучения

Учебно-методическое пособие

Директор Издательского центра *Т. В. Максимова*

Издано в авторской редакции

Подписано в печать 16.10.2019.
Формат 60х84/16. Усл. печ. л. 3,1.
Тираж 100 экз. Заказ

Оригинал-макет подготовлен
в Издательском центре
Ульяновского государственного университета

Отпечатано в Издательском центре
Ульяновского государственного университета
432017, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42