



Аналитическая химия

6 семестр, Лекция 18.

Модуль 3. Хроматография и другие методы анализа.

Основы аналитической химии / под ред. Ю.А. Золотова. – Т. 1. – М.: Издательский центр “Академия”, 2012. – 384 с. (С. 298-368).



ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ ВЭЖХ

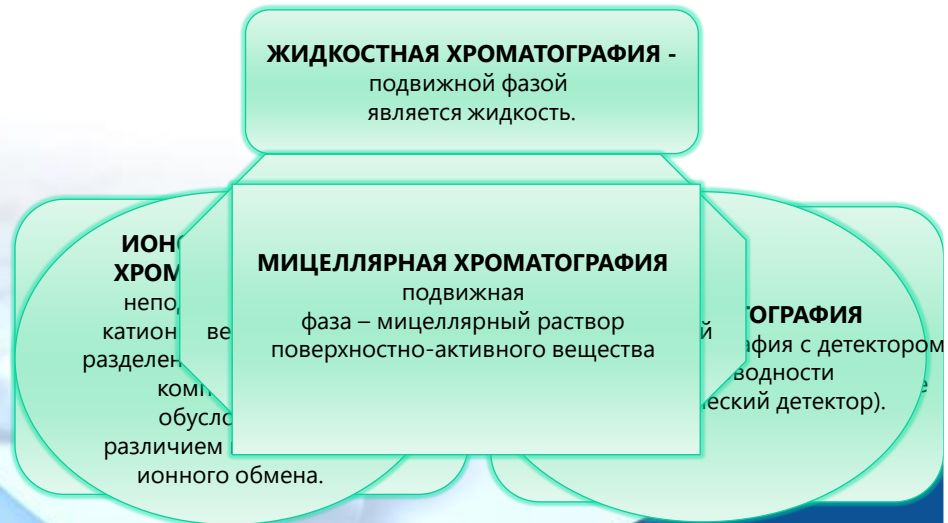
Рідинна хроматографія – метод розділення та аналізу складних сумішей речовин, в якому рухома фаза є рідиною.

Высокоэффективная жидкостная хроматография

- Основные узлы жидкостного хроматографа.
- Устройства для фильтрования и дегазации растворителей.
- Дозаторы.
- Колонки.
- Детекторы в ВЭЖХ.
- Нормально-фазовая и обращенно-фазовая хроматография.
- Неподвижные и подвижные фазы в ВЭЖХ.
- Градиентное элюирование.
- Ионный обмен и ионная хроматография.

2

Жидкостная хроматография



3

Розрізняють наступні види рідинної хроматографії:

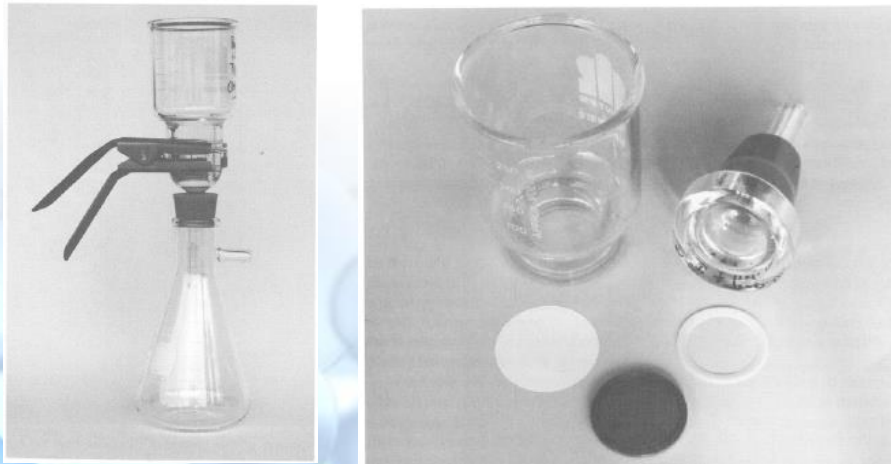
- Адсорбційна хроматографія (рідинно-твердофазна хроматографія) – метод, в якому нерухомою фазою є твердий адсорбент, а розділення компонентів відбувається у результаті різниці їх констант адсорбції.
- Розподільна хроматографія (рідинно-рідинна хроматографія) – метод, в якому нерухомою фазою є рідина, або подібна рідині поверхня сорбенту, а розділення компонентів відбувається в результаті різниці їх констант розподілу між рідкими фазами.

- Іонообмінна хроматографія – метод, в якому нерухома фаза є іонообмінник, а розділення іонних компонентів відбувається за рахунок різниці їх констант іонного обміну.
- Іонна хроматографія – метод іонообмінної хроматографії, але в якому використовують кондуктометричний детектор.
- Іон-парна хроматографія – метод, в якому рухома фаза містить іоногенну речовину (іон-парний реагент), яка утворює іонну пару з речовиною, що визначають.
- Міцелярна хроматографія – метод, в якому рухома фаза є міцелярний розчин поверхнево-активної речовини.



Рідинний хроматограф має наступні основні вузли: пристрої підготовки розчинників, насоси, змішувач, пристрої для вводу та дозування проби, колонка, термостат, детектор та система реєстрації та обробки даних.

Дегазация и фильтрация подвижной фазы



5

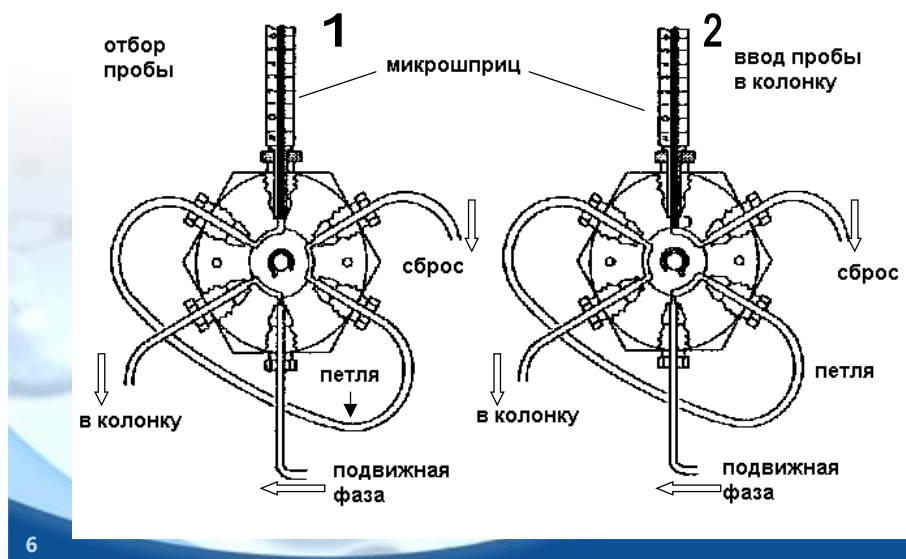
Перед подачею рухомої фази в хроматографічну систему її необхідно підготувати.

Фільтрування рухомої фази є необхідним, тому що механічні домішки порушують роботу насосів, пошкоджують ущільнення насосів та дозатору, можуть накопичуватись на вході в колонку, що збільшує супротив потоку рухомої фази.

Присутність газів в рухомій фазі призводить до порушення роботи насосів та детектору, погіршує якість хроматограми. Тому перед аналізом проводять дегазацію рухомої фази.

Також в процесі хроматографування можлива зміна складу рухомої фази (формування градієнту складу рухомої фази) для покращення розділення компонентів суміші.

Ввод пробы. Петлевой дозатор



Головна задача дозатору – перенесення проби, що знаходиться в умовах атмосферного тиску, на вхід в колонку, що знаходиться під підвищеним тиском. Найчастіше використовують петлеві дозатори з фіксованим об’ємом петлі.

Хроматографические колонки

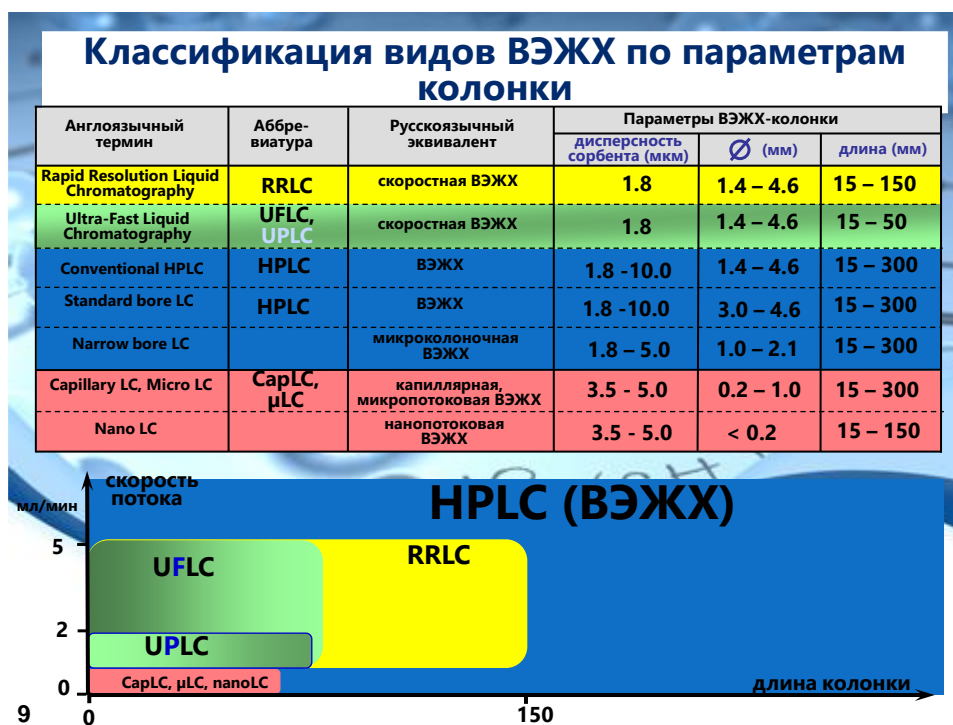
класс	Ø внутр. мм	L, см	Ø зерна, мкм	Масса пробы	Объем пробы	F, мл/мин	N _{тт} / м
Микро-колонка	<1	>25	<2	<100 нг	< 1 мкл	< 0.05	>250 000
Полумикро-колонка	2-3	3-20	1.5-5	10 нг-10 мкг	1-10 мкл	0.05-2	>100 000
Аналитическая колонка	3.5-5	5-30	3-10	1 мкг-50 мкг	5-200 мкл	0.5-5	40 000-150 000
Полупрепаративная колонка	5-25	10-100	10-50	10 мг-1 г	100 мкл - 10 мл	2-100	<20 000
Препаративная колонка	>25	>25	>20	> 50 г	> 20 мл	>100	<5 000

7



8

Передколонка – це коротка й дешева колонка, що містить таку ж нерухому фазу, що й аналітична колонка, та може бути легко замінена. Передколонка захищає аналітичну колонку від шкідливих домішок та насичує рухому фазу компонентами нерухомої фази, захищаючи таким чином насадку аналітичної колонки.



Детекторы в ВЭЖХ

Для детекции используют физическое или химическое свойство, которое можно измерить в растворе.

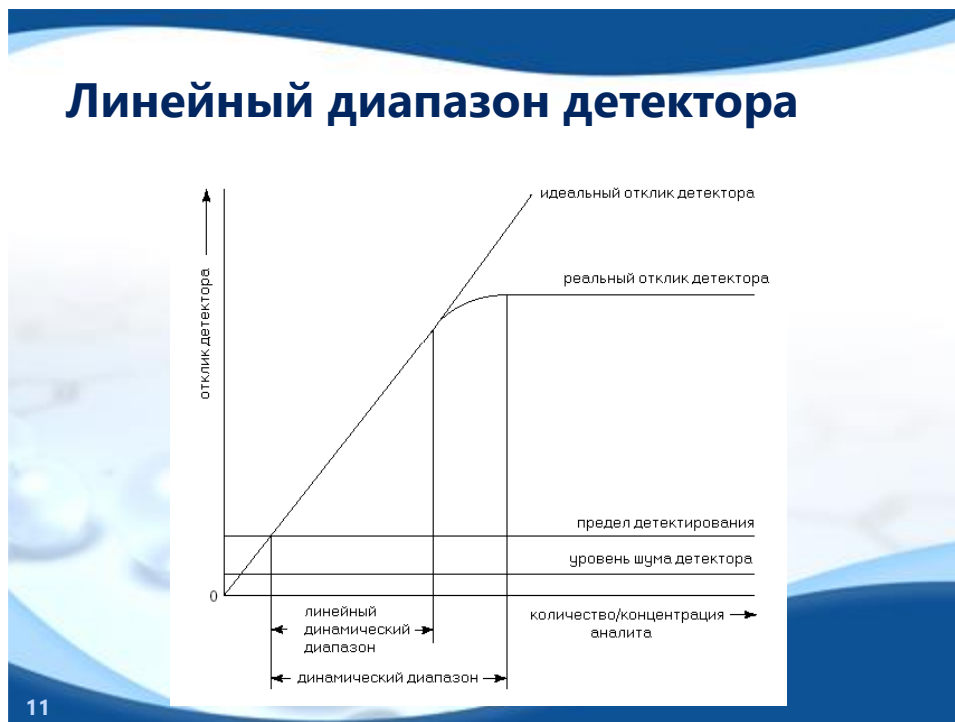
Два типа детекторов:

- 1) По свойству **раствора** в целом - измеряет общее изменение свойства подвижной фазы (элюата);
- 2) По свойству **вещества** – измеряет специфическое свойство аналита (солюта), т.е. выделенного вещества.

Рефрактометрический
Диэлькометрический
Кондуктометрический

Спектрофотометрический
Флуоресцентный
Электрохимический
(амперометрия)

Характеристиками детекторних систем є наступні: чутливість, лінійний діапазон, фоновий сигнал та межа детектування.



Чутливість характеризує відношення сигналу детектору до кількості речовини.

Межа детектування (межа виявлення) – це мінімальна кількість речовини, яку можна визначити. Тобто це така кількість речовини, яка визиває сигнал детектору, що у в три рази перевищує рівень шуму.



Погіршення фонового сигналу відображається у вигляді шуму та дрейфу.

Типы детекторов в ЖХ

- **Интегральные детекторы**

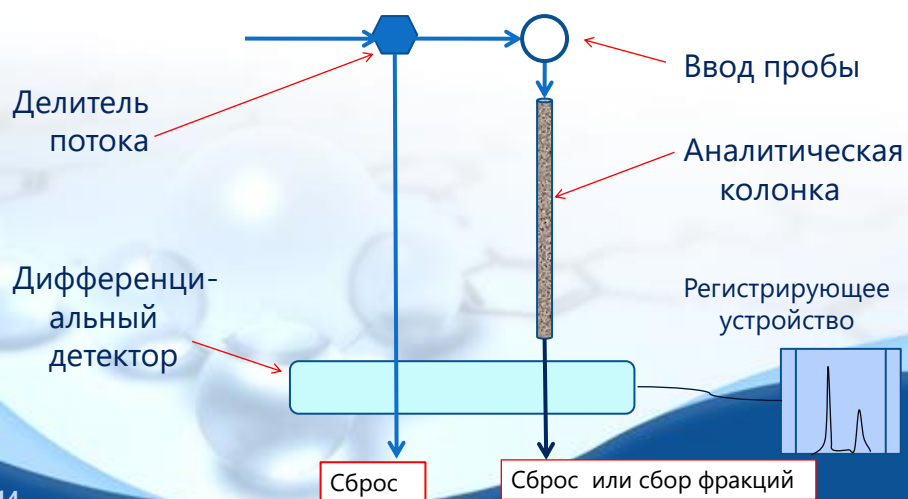
регистрируют во времени суммарное количество выходящих из колонки компонентов.

- **Дифференциальные детекторы**

сигнал пропорционален мгновенному изменению значения некоторого свойства потока ПФ, его запись – пик, а площадь пика зависит от концентрации аналита.

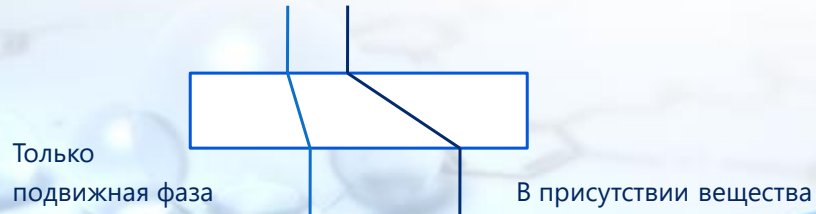
13

Дифференциальные детекторы



Рефрактометрический детектор

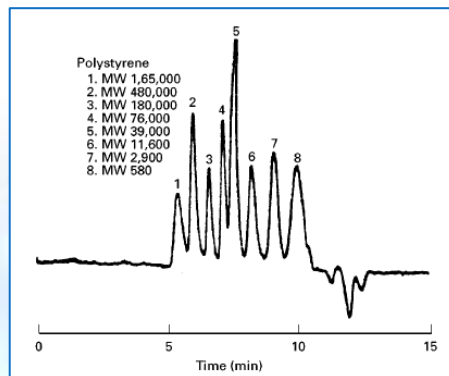
Детектор по свойству **раствора**. Измеряется преломление света подвижной фазой. В присутствии солюта показатель преломления подвижной фазы меняется.



Универсальный детектор;
чувствителен к температуре.

15

Рефрактометрический детектор



Хроматограмма разделения смеси полистиролов с различной молекулярной массой

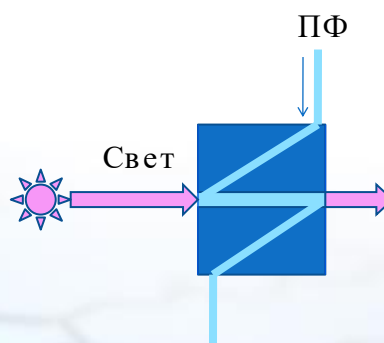
16

Спектрофотометрические детекторы

Детектор по свойству вещества.

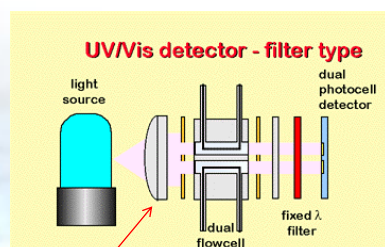
(УФ и видимая область)

- ✓ фиксированная длина волны (УФ);
- ✓ настраиваемая длина волны;
- ✓ многоволновое детектирование (диодная матрица).

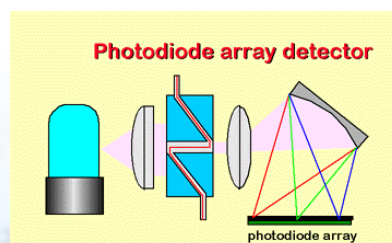


17

Спектрофотометрические детекторы



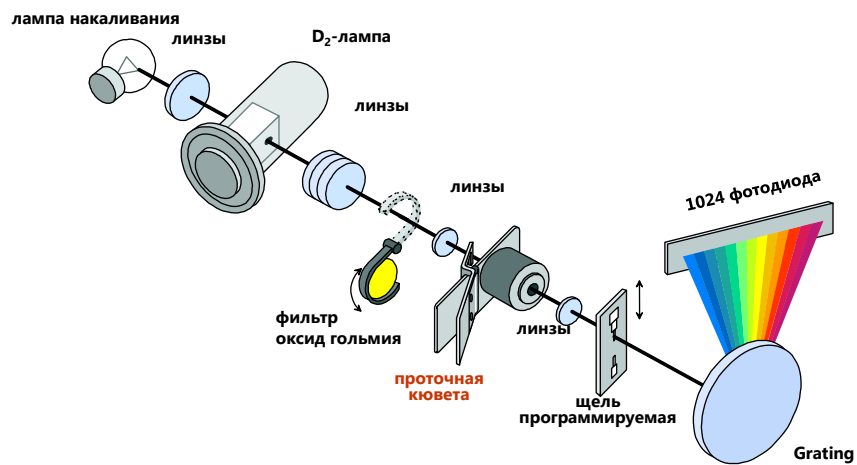
Фильтр - фиксированная λ ;
Монохроматор - настраиваемая λ .



Фотодиодная матрица - одновременно регистрируется сигнал при многих λ . Получается полный спектр в каждый момент времени

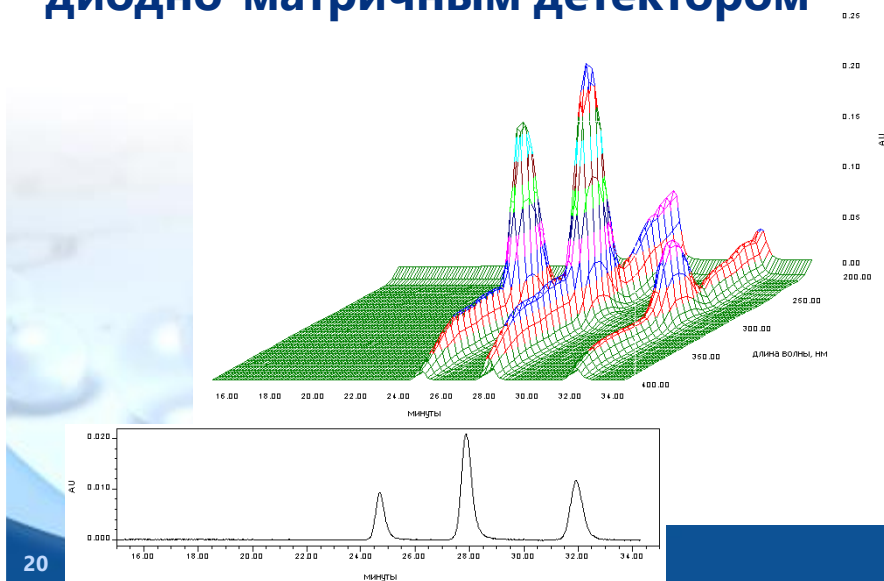
18

Блок-схема DAD – диодно-матричного детектора



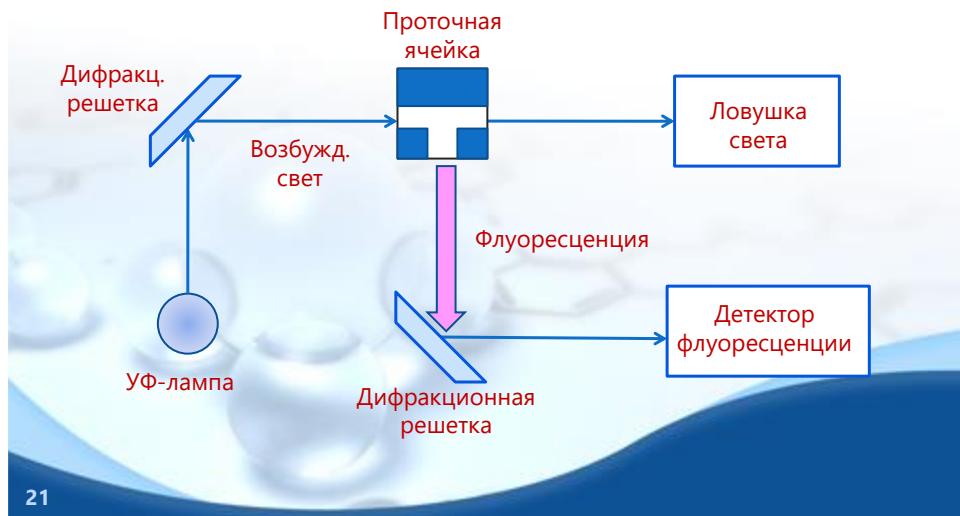
19

Хроматограмма, получаемая с диодно-матричным детектором



20

Схема флуориметрического детектора



Флуориметрический детектор

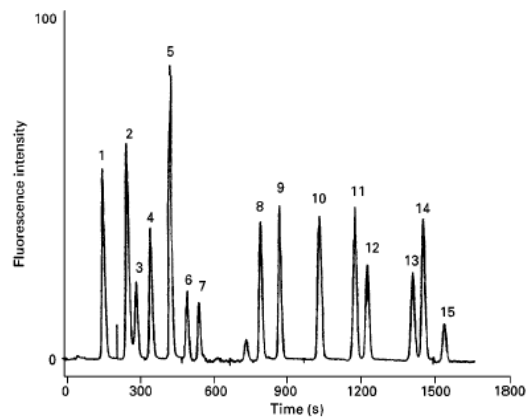


Figure 5 Separation of a series of priority pollutants with programmed fluorescence detection. 1, Naphthalene; 2, acenaphthene; 3, fluorene; 4, phenanthrene; 5, anthracene; 6, fluoranthene; 7, pyrene; 8, benz(a)anthracene; 9, chrysene; 10, benzo(b)fluoranthene; 11, benzo(k)fluoranthene; 12, benzo(a)pyrene; 13, dibenz(a,h)anthracene; 14, benzo(ghi)perylene; 15, indeno(123-cd)pyrene. (Courtesy of the Perkin Elmer Corporation.)

Хроматограмма смеси ПАУ, полученная с флуориметрическим детектором

Электрохимические детекторы

Электрохимические детекторы по свойствам **вещества** (окислители или восстановители):

- потенциометрический;
- кулонометрический;
- полярографический;
- амперометрический.

Электрохимические детекторы по свойствам **раствора**:

- измерение диэлектрической постоянной;
- кондуктометрический детектор.

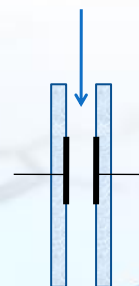
23

Электрохимические детекторы

Электрохимические детекторы по свойствам **вещества** (окислителей или восстановителей):



Электрохимические детекторы по свойствам **раствора**:



24

Сопоставление детекторов для ВЭЖХ

Характеристика	Детекторы				
	спектрофотометрический	флуориметрический	рефрактометрический	кондуктометрический	масс-спектрометрический
Предел обнаружения (масса, нг)	0,1-1	0,01-0,001	100-1000	0,5-1	0,01-0,0001
Предел обнаружения (концентрация, г/мл)	10^{-8}	10^{-11}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-11}
Диапазон линейности	10^5	10^3	10^4	10^4	10^4
Градиент	возможен	возможен	Нет	Нет	возможен