

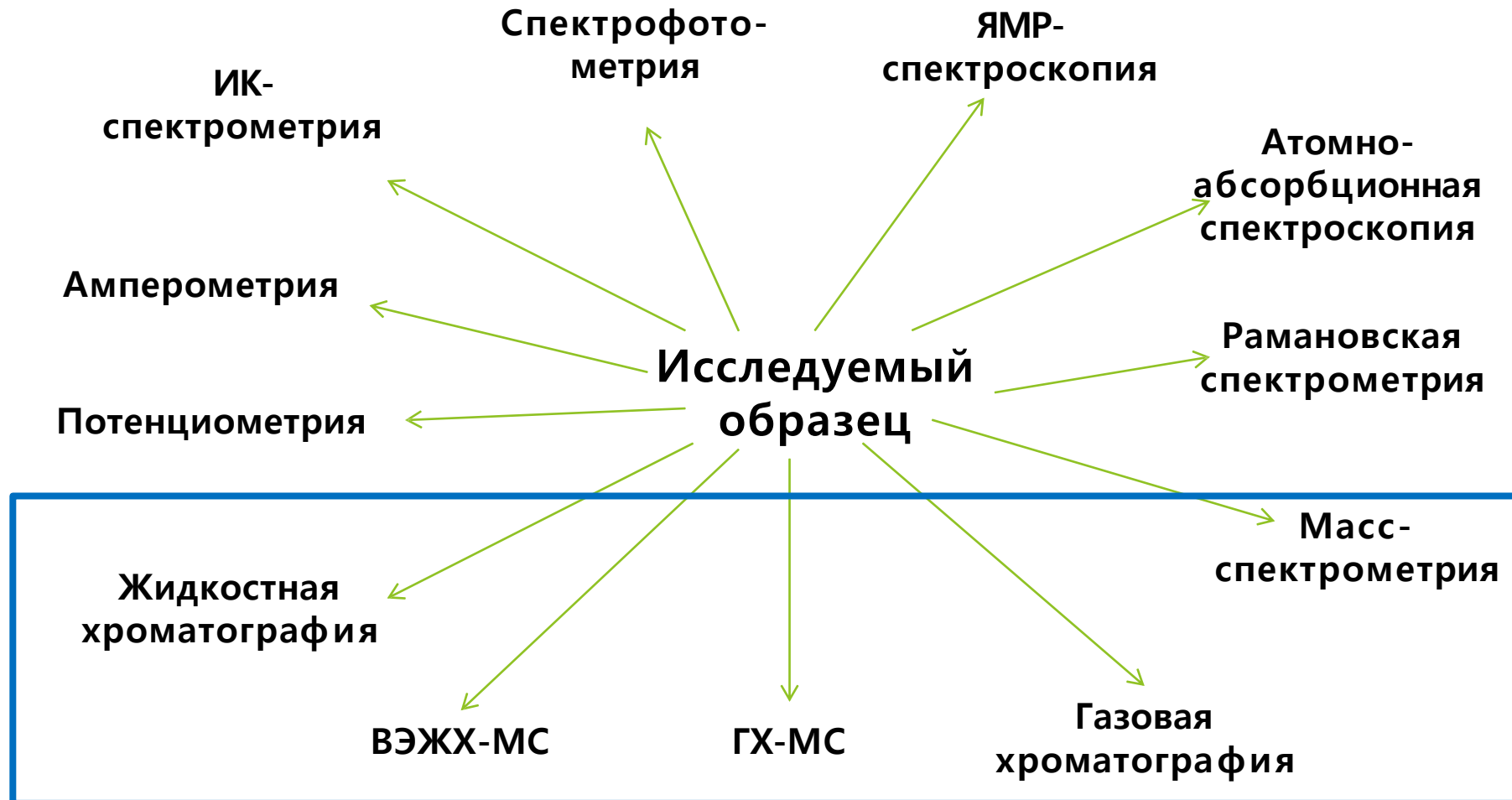


СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ХРОМАТОГРАФИИ

Лекция 1. Введение в хроматографию

Минажева Гулшарат Салауатовна – доктор педагогических наук,
кандидат химических наук, профессор кафедры АКХиТРЭ

СОВРЕМЕННЫЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА



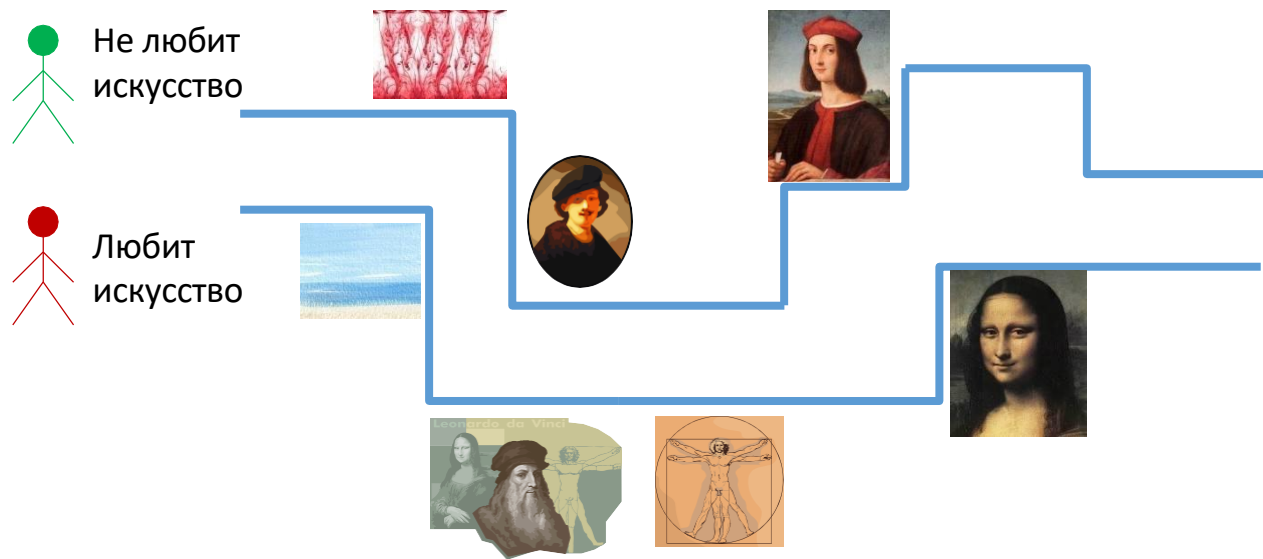
ЧТО ТАКОЕ ХРОМАТОГРАФИЯ?

Хроматография - **физический метод разделения**, в котором вещества разделяются между двумя фазами, одна из которых **стационарная**, а другая движется через нее в определенном направлении (**подвижная фаза**)

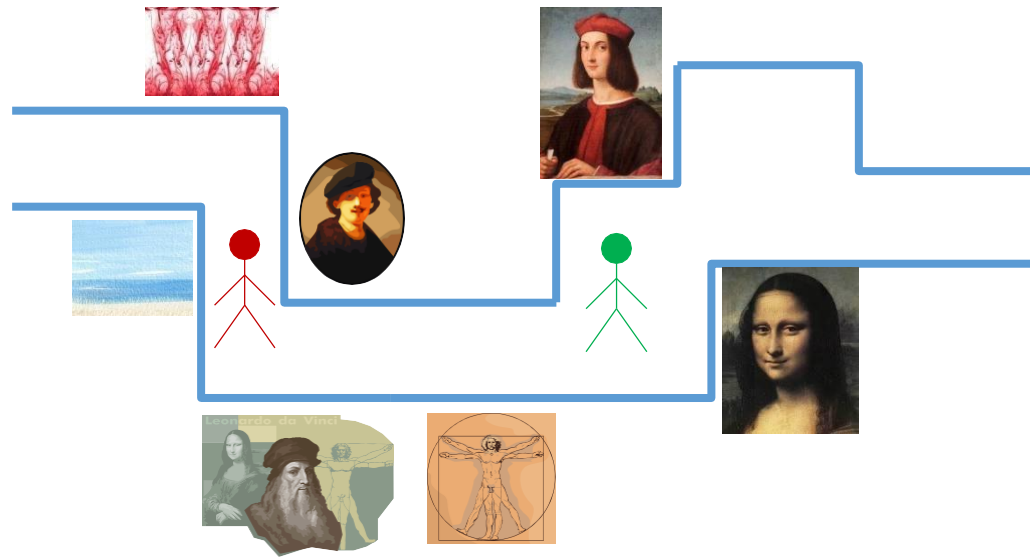
В колоночной хроматографии веществам требуется различное время для того, чтобы пройти через колонку, что и приводит к их разделению.

Соединения, которые сильнее удерживаются стационарной фазой, дольше проходят через колонку

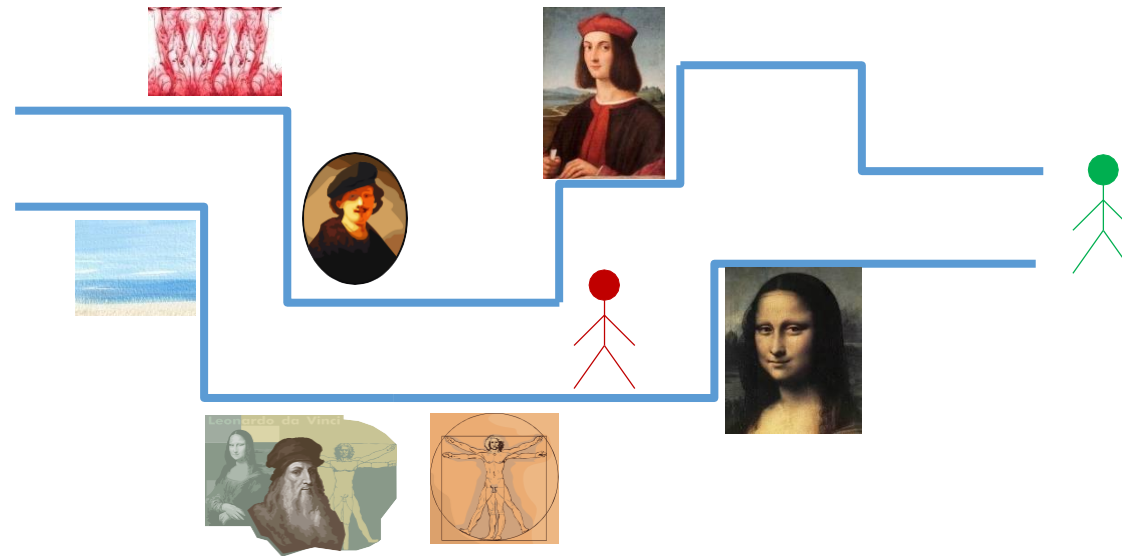
На примере - Галереи



На примере - Галереи



На примере - Галереи



ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

- Хроматография-широко используется в изучении объектов окружающей среды;
- Хроматографический метод был представлен русским ученым Цветом в 1903 году;
- В качестве **неподвижной (стационарной) фазы** берутся твердое вещество или твердое вещество покрытое жидкой оболочкой, обычно его называют **сорбентом**;
- В качестве подвижной фазы используется жидкость или газ, такая подвижная фаза проходит через неподвижную (стационарную) фазу, иногда и под давлением;
- Компоненты анализируемой смеси (**сорбаты**) вместе с подвижной фазой передвигаются вдоль стационарной фазы (**сорбента**).
- Анализируемую смесь обычно помещают в стеклянную или металлическую трубку, называемую **колонкой**.
- В зависимости от силы взаимодействия с поверхностью **сорбента** (за счет адсорбции или по какому-либо другому механизму) компоненты будут перемещаться вдоль колонки **с разной скоростью**.
- Одни компоненты останутся **в верхнем слое сорбента**, другие, в меньшей степени взаимодействующие с сорбентом, окажутся **в нижней части колонки**, а некоторые и вовсе **покинут колонку** вместе с подвижной фазой (такие компоненты называются **неудерживаемыми**, а время их удерживания определяет **“мертвое время”** колонки).

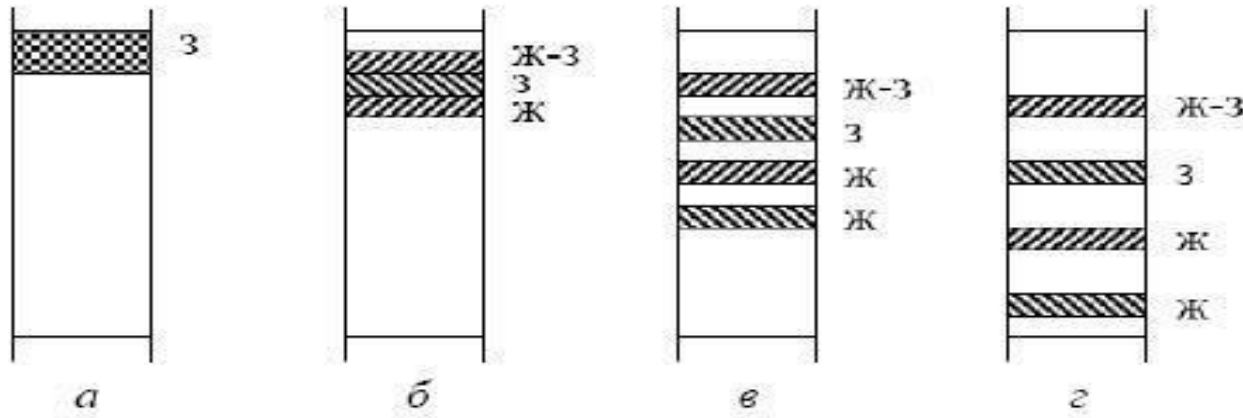
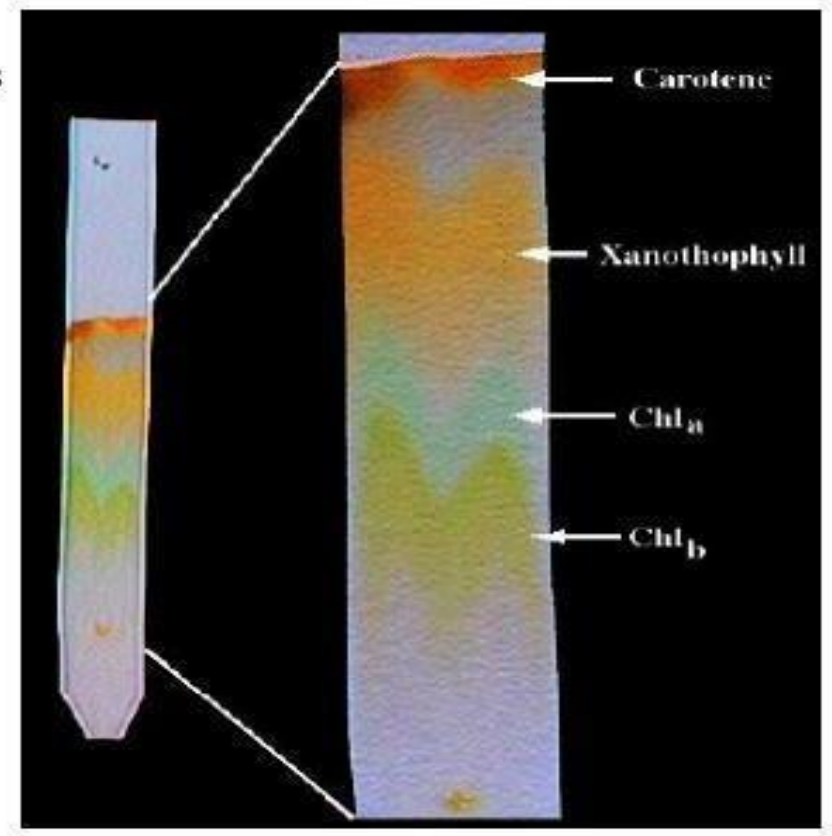


Схема процесса разделения пигментов, входящих в состав хлорофилла



Основы хроматографии – процесс разделения молекул за счет дифференциальной миграции, т. е. разделение, основанное на различных скоростях перемещения различных молекул

ВИДЫ ХРОМАТОГРАФИИ

Адсорбционная (молекулярная) хроматография	Основано на разнообразии сорбции различных компонентов разделяемой смеси в сорбенте
Хемосорбционная хроматография	В зависимости от образования водородной связи, наличия химической идентичности и т. д.
Распределительная хроматография	Основана на разнообразии растворимости компонентов в неподвижной смеси
Ионообменная хроматография	Основана на разнообразии константы ионообменного равновесия между неподвижной фазой и компонентами разделяемой смеси
Хроматография обмена лигандов	Основана на образовании координационных связей между высвобождающимися органическими молекулами и катионами металлов в группах (лигандах), встроенных в поверхностный слой адсорбента
Ситовая (эксклюзивная) хроматография	Основана на различий в размере и форме молекул, которые проходят через пористую структуру определенного материала, называемого ситом. Широко используется для разделения биомолекул, таких как белки, нуклеиновые кислоты и полисахариды, основываясь на их различиях в размерах и формах.
Аффинная хроматография	Это метод разделения и очистки биологических молекул на основе их специфического взаимодействия с лигандами, привязанными к носителю. Молекулы разделяются на основе их аффинного (специфического) взаимодействия с молекулой-лигандом, которая непрерывно удерживается на носителе. Осуществляется очистка и изоляция различных биологических молекул, таких как белки, антитела, ферменты и др.

Классификация хроматографических методов:

Признаки	Примеры
По агрегатному состоянию фаз	Газовая Жидкостная Флюидная
По механизму межфазного распределения	Распределительная Адсорбционная Ионообменная
По способу проведения	Колоночная Планарная (в плоском слое сорбента): <i>тонкослойная и бумажная</i>
По способу перемещения сорбата	Элюентная (используется специальный растворитель, или газ) Вытеснительная (аналиты вытесняются другими аналитами) Фронтальная (только один компонент можно получить в чистом виде, остальные не разделяются)
По целям и задачам	Аналитическая Препаративная

- В газовой хроматографии вещества движутся в потоке газа (подвижная фаза), а в методе ВЭЖХ подвижной фазой является жидкость.
- **Флюид** — жидкие и газообразные легкоподвижные компоненты магмы или циркулирующие в земных глубинах насыщенные газами растворы. Это и нефтегазовая система; газ или газообразная среда; жидкость; текучая среда
- **Элюент** — это газ или жидкость, применяемые в качестве подвижной фазы в хроматографической системе, которые протекают через неподвижную фазу.

Особенности хроматографических методов

Название метода	Подвижная фаза	Неподвижная фаза	Метод крепления неподвижной фазы	Тип хроматографии
Адсорбционная (жидкостная)	Жидкость	Твердое тело	Слой в колонке	Колоночная
Хроматография распределения (жидкостная)	Жидкость	Жидкость	Адсорбция на пористое вещество	Колоночная
Бумажная хроматография	Жидкость	Жидкость	Бумага удерживает волокна	Плоский (на плоскости)
Тонкослойная хроматография	Жидкость	Жидкость или твердое тело	Сорбент или жесткий носитель, нанесенный на стеклянную пластинку или фольгу	Плоский (на плоскости)
Газо-адсорбционная хроматография	Газ	Твердое тело	Слой в колонке	Колоночная
Газо-жидкостная хроматография	Газ	Жидкость	Адсорбция на пористое вещество или капилляр	Колоночная
Гелевая хроматография	Жидкость	Жидкость	Содержится в порах твердого полимера	Колоночная
Ионообменная хроматография	Жидкость	Твердое тело	Слой в колонке	Колоночная

Сравнение хроматографических методов:

Хроматографические методы различают по целям и задачам:

1. Аналитическая хроматография – получение информации
(*качественный и количественный анализ*).

2. Препаративная хроматография – выделение и очистка
веществ.

3. Промышленная хроматография – осуществляется
автоматизированный контроль выбросов.

Сравнение хроматографических методов

Газовая хроматография

- *Подвижная фаза – инертный газ (газ-носитель);*
 - *Большое влияние оказывает температура ;*
 - *Используется для хроматографирования летучих веществ и газов;*
1. газо-твёрдофазная (газо-адсорбционная)
 2. газо-жидкостная

Жидкостная хроматография

- *Подвижная фаза – жидкость;*
 - *Подходит для хроматографирования полярных веществ и макромолекул.*
1. жидкостно-жидкостная
 2. жидкостно-твёрдофазная
 3. жидкостно-гелевая

ПРЕИМУЩЕСТВА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА

1. Хроматографическое разделение имеет динамический характер и акты сорбции-десорбции разделяемых компонентов повторяются неоднократно. Поэтому хроматографическое разделение имеет высокую эффективность по сравнению со статистическими методами сорбции и экстракции.
2. При разделении используются различные типы взаимодействия сорбатов и неподвижной фазы: *от физических до хемосорбционных*. Это позволяет расширить ряд селективно разделяемых веществ.
1. К разделяемым веществам можно дать различные дополнительные поля (*гравитационные, электрические, магнитные*), которые используются для изменения условий разделения и расширения возможности хроматографии.
2. Хроматография - это не только одновременное разделение нескольких компонентов, это гибридный метод, который объединяет разделение компонентов с дальнейшим определением.
3. Хроматография позволяет решать ряд аналитических (*таких как разделение, идентификация, определение*) и препаративных (*такие как очистка, выделение, концентрирование*) проблем. Такие задачи можно решить путем их объединения и в формате "*on line*".

Различие адсорбция и абсорбция:

При **абсорбции** поглощение и распределение вещества происходит по всему объему жидкого абсорбента.

При **адсорбции** твердый, жидкий или газообразный сорбат скапливается на поверхности раздела фаз адсорбента (*на поверхности твердого вещества или жидкости*).

Адсорбция:

1. Выделяют **физическую адсорбцию**, при которой скопление веществ на поверхности адсорбента происходит вследствие *неспецифических межмолекулярных сил*, не зависящих от природы веществ.
2. Хемосорбция (или **химическая адсорбция**) — это сорбционные процессы, при которых происходят *химические превращения* между сорбентом и поглощаемым веществом.

При адсорбции выделяют **два вида взаимодействия** между молекулами:

- молекулы растворенного вещества взаимодействуют с молекулами или атомами на поверхности адсорбента;
- молекулы растворенного вещества взаимодействуют с водой в процессе гидратации.

Связь между количеством поглощенного сорбентом вещества и веществом, оставшимся в растворе в момент равновесия, подчиняется закону распределения.

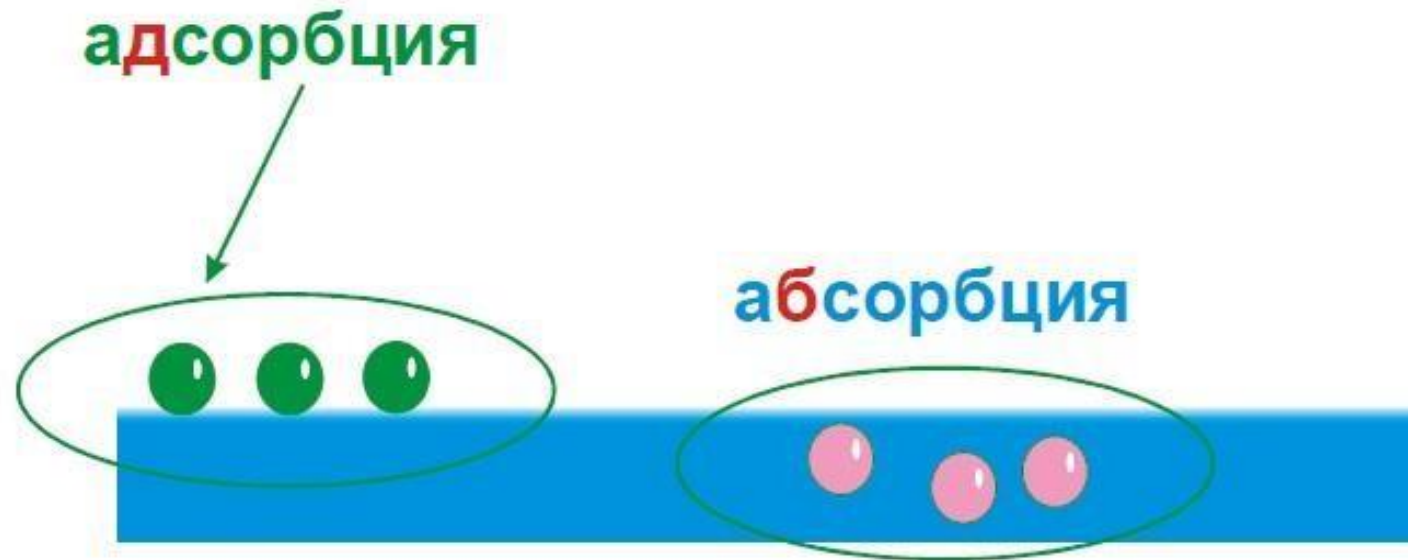
Адсорбционный процесс.

Определения

Сорбция – это поглощение веществ на границе двух фаз

Адсорбция – «прилипание»

Абсорбция – «растворение»



Физическая адсорбция и химическая адсорбция - это два различных процесса взаимодействия между адсорбентом (*поверхностью, на которой происходит адсорбция*) и адсорбатом (*веществом, которое адсорбируется*).

Физическая адсорбция:

Это процесс, при котором адсорбаты (*молекулы или атомы*) физически адсорбируются на поверхности адсорбента.

Взаимодействие между адсорбентом и адсорбатом в физической адсорбции является слабым и происходит вследствие ван-дер-Ваальсовских сил притяжения.

Физическая адсорбция зависит от температуры: при низких температурах она усиливается, а при повышении температуры может снижаться.

Примеры физической адсорбции включают адсорбцию газов на поверхности твердых материалов или адсорбцию молекул воды на силикагеле.

Химическая адсорбция:

Это процесс, при котором адсорбаты химически связываются с поверхностью адсорбента путем образования химических связей.

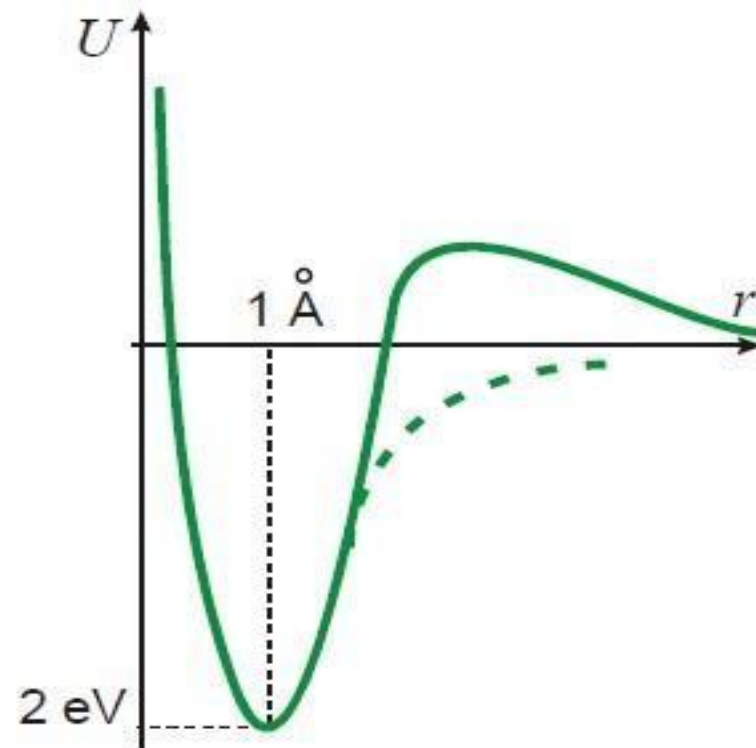
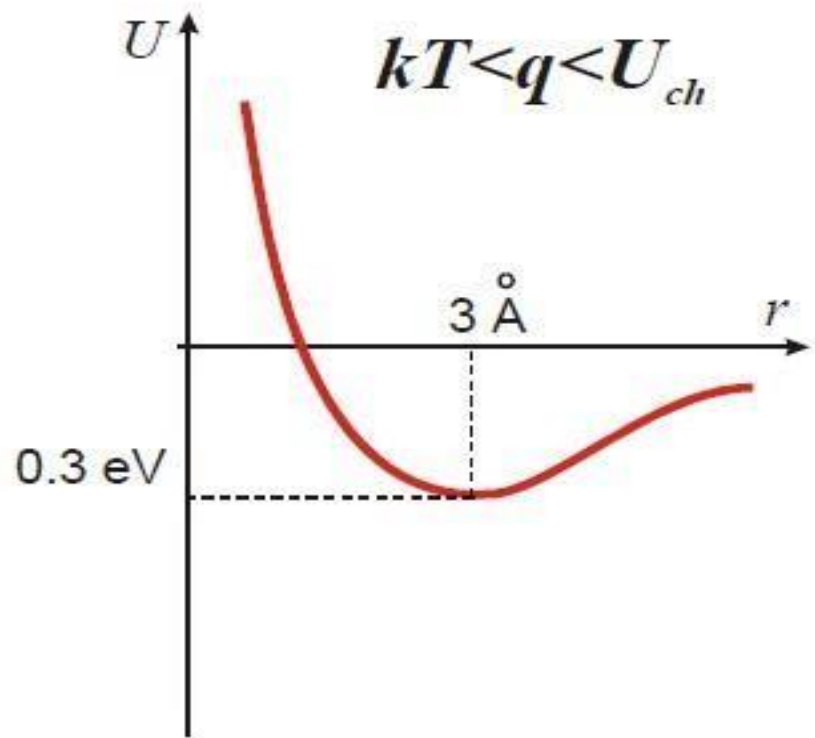
В отличие от физической адсорбции, в химической адсорбции происходит образование химических соединений между адсорбатом и адсорбентом.

Химическая адсорбция обычно более сильная, чем физическая, и менее зависит от температуры.

Примеры химической адсорбции включают адсорбцию кислорода на металлической поверхности или адсорбцию аминofункциональных групп на ионообменных смолах.

Физическая и химическая адсорбция

q – теплота адсорбции 1-й молекулы



0,1–0 эВ – **физическая** адсорбция

>2 эВ – **химическая** адсорбция

Характеристики, влияющие на скорость процесса адсорбции:

- концентрация сорбата;
- природа и химическое строение растворенного вещества;
- температура воды;
- виды и свойства адсорбента.

Процесс адсорбции состоит из трех этапов:

- **Транспортировка** вещества в растворе на гранулы адсорбента в поверхностном слое (наружную диффузионную зону);
- Процесс адсорбции;
- **Транспортировка** вещества внутри гранул адсорбента (внутри диффузионной зоны).

Адсорбция считается высокоскоростной, и стадия адсорбции не ограничивает скорость всего процесса.

Поэтому лимитирующей стадией считается *внешняя или внутренняя диффузия*. В некоторых случаях процесс может быть ограничен двумя диффузиями.

Хроматографические параметры

Stationary – неподвижная (стационарная)

Mobile – подвижная

To **r**etain – удерживание

Закон распределения Нернста:

Закон Распределения Нернста определяет относительное содержание в двух несмешивающихся или ограниченно смешивающихся жидкостях растворимого в них компонента;

ЗРН - является одним из законов идеальных разбавленных растворов. Открыт в 1890 В. Нернстом.

Согласно ЗРН, при равновесии отношение концентраций третьего компонента в двух жидких фазах является постоянной величиной.

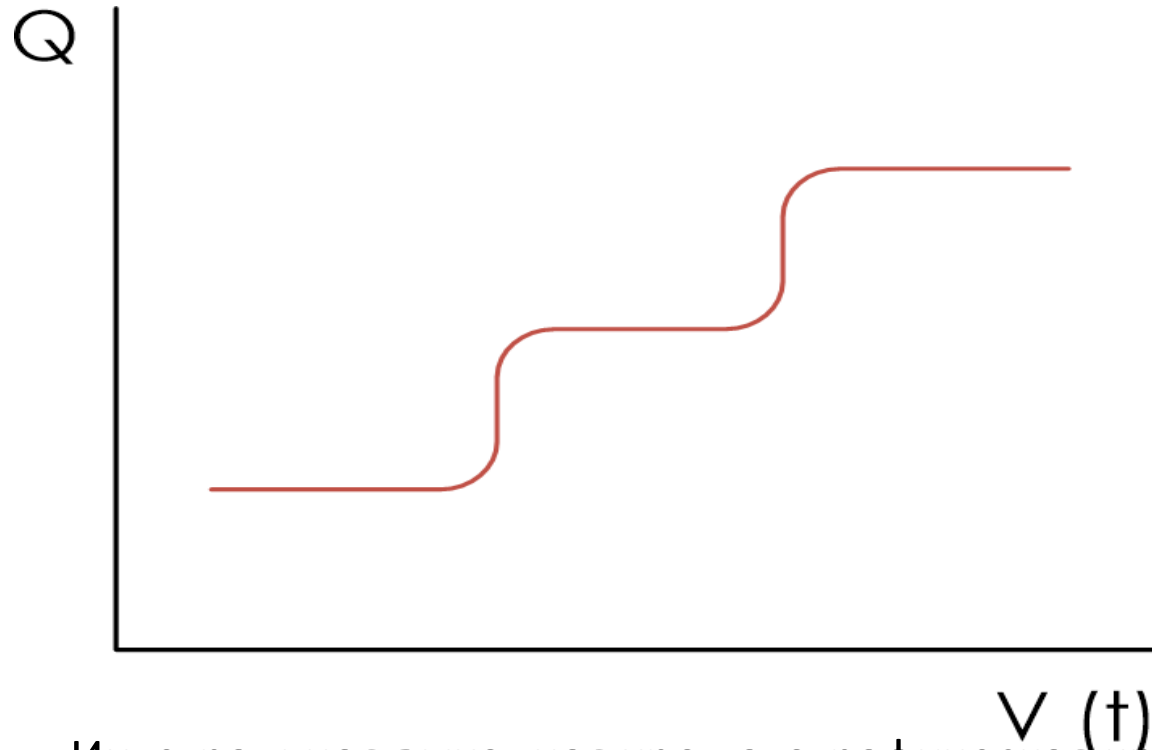
ЗРН - может быть записан в виде $c_1/c_2 = k$, где c_1 и c_2 — равновесные молярные концентрации третьего компонента в первой и второй фазах; постоянная k — коэффициент распределения, зависящий от температуры:

$$K = C_S / C_M$$

ЗРН - позволяет определить более выгодные условия экстрагирования веществ из растворов.

Хроматографическая картина разделения

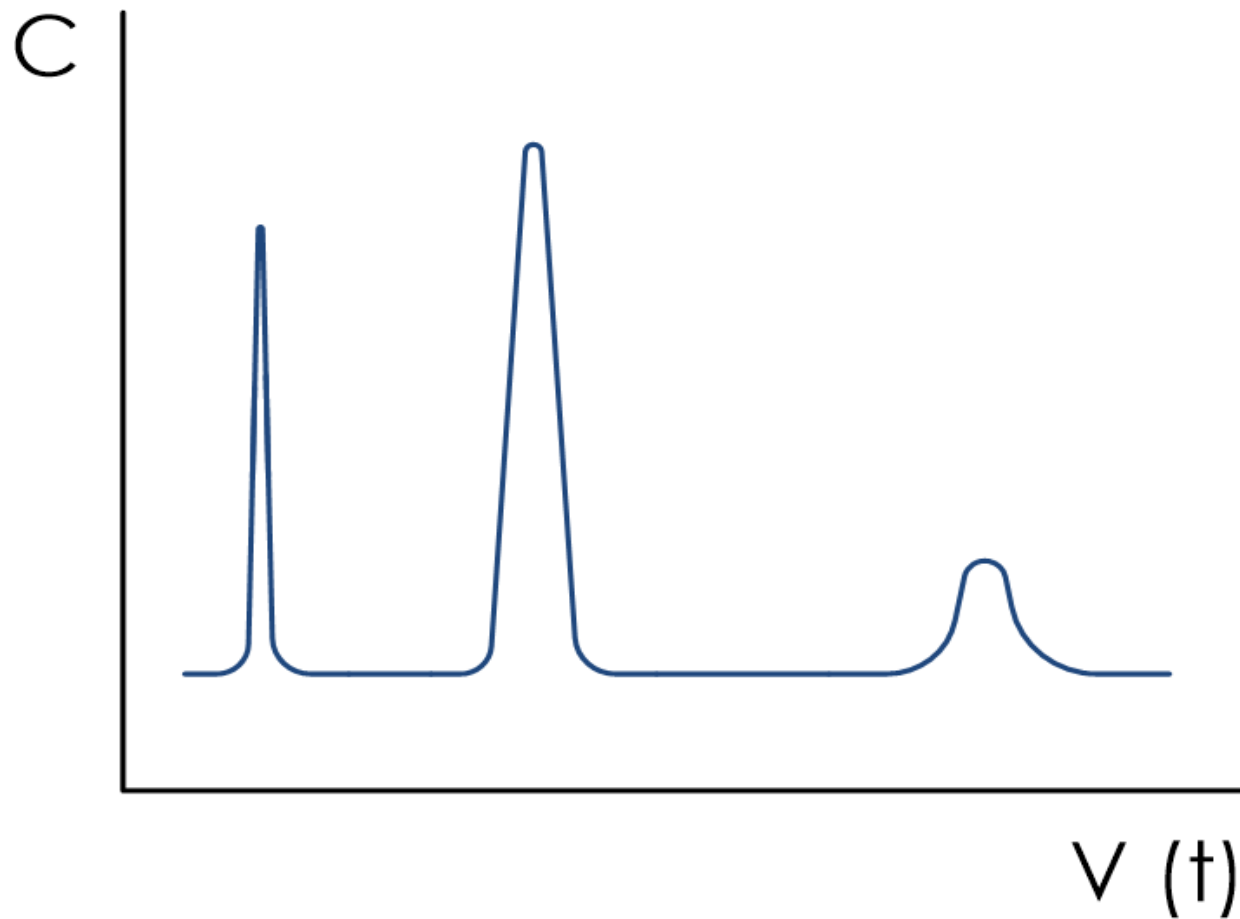
1. Интегральная (практически не применяется)
2. Дифференциальная



Интегральная выходная хроматографическая кривая

$$Q=f(V) \text{ или } Q=f(t).$$

Q-масса элюируемого вещества, V - объем растворителя, t - время хроматографирования.



Дифференциальная выходная хроматографическая кривая,

$$C=f(V) \text{ или } C=f(t).$$

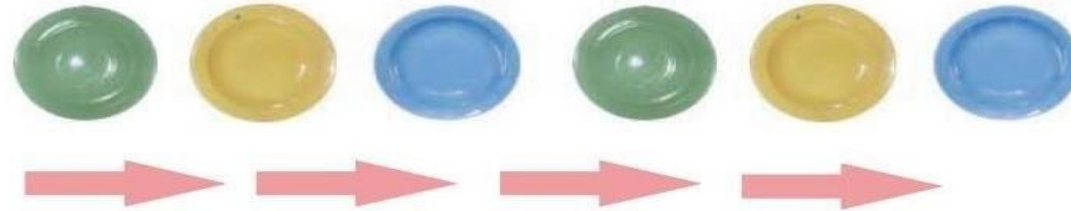
C-концентрирования хроматографируемого вещества.

Изменение обозначений:

- Было (адсорбция):
- P – давление, r – радиус, n - плотность

- Стало (теория теоретических тарелок):
- P – вероятность, r – номер тарелки,
- n – номер (число) порций газа-носителя

Концепция теоретических тарелок

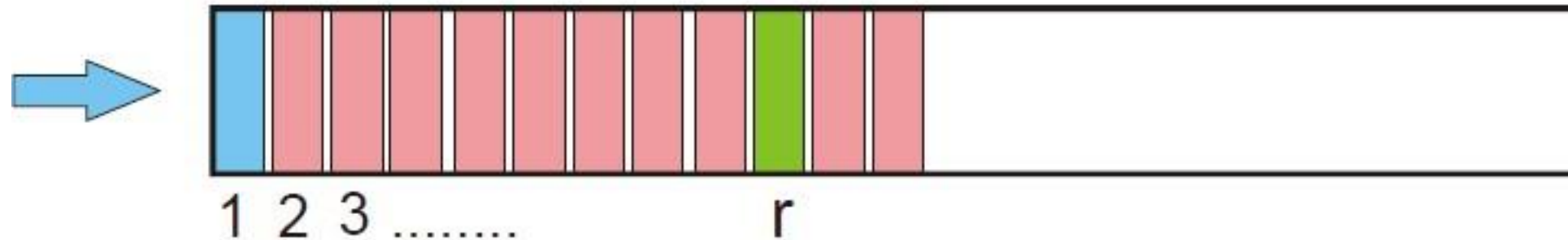


Определения

Теоретические тарелки - условная часть (участок) хроматографической колонки, где устанавливается равновесие частиц между подвижной и неподвижной фазами.

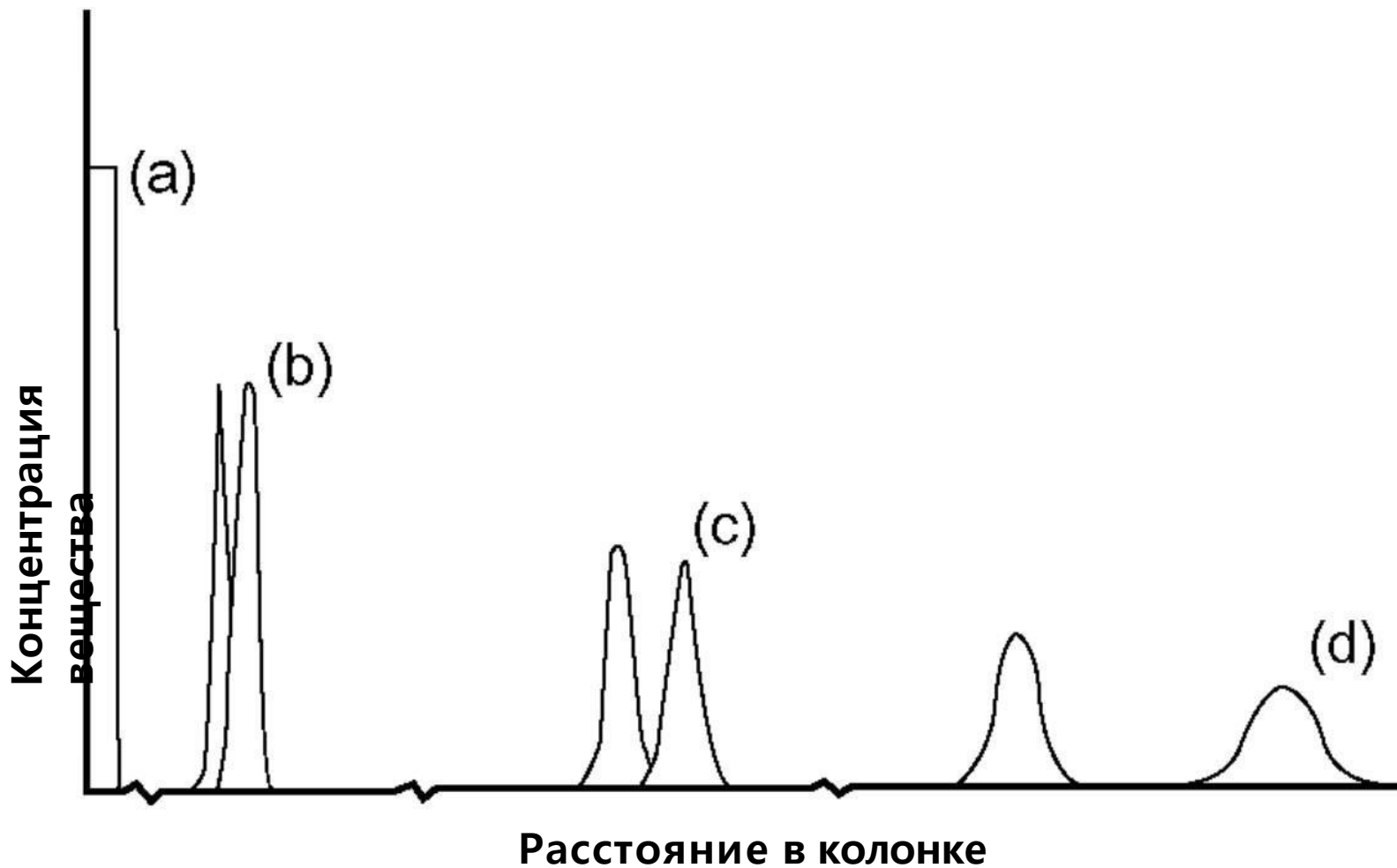
В 1952 году Мартин и Сидж выдвинули теорию теоретических тарелок, за что получили Нобелевскую премию.

Концепция теоретических тарелок



- - В момент времени $t=0$ в первую тарелку ($r=1$) вводится единичная проба **газа-носителя и исследуемого вещества**
- - Далее (при $n>1$) вводится только **газ-носитель**
- - В следующую тарелку ($r+1$) переходят только молекулы, которые были в **газовой фазе** в предыдущей тарелке (r)
- - *Молекулы, бывшие на поверхности в тарелке r , при переходе к тарелке ($r+1$) – при впрыске еще одной порции газа-носителя ($n+1$) – рассматриваются как **десорбированные***

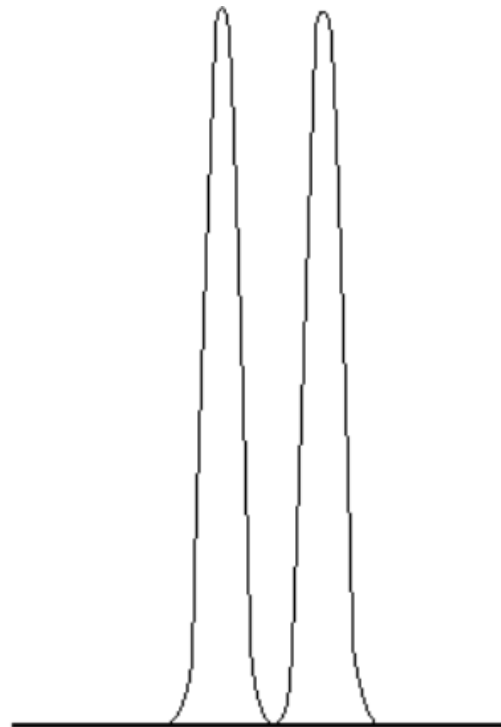
Процесс разделения



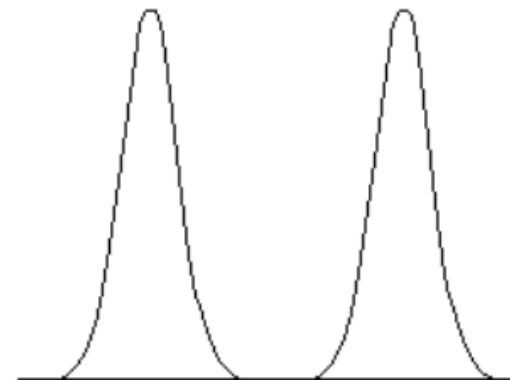
Улучшение разделения



(a)
Недостаточное
разделение



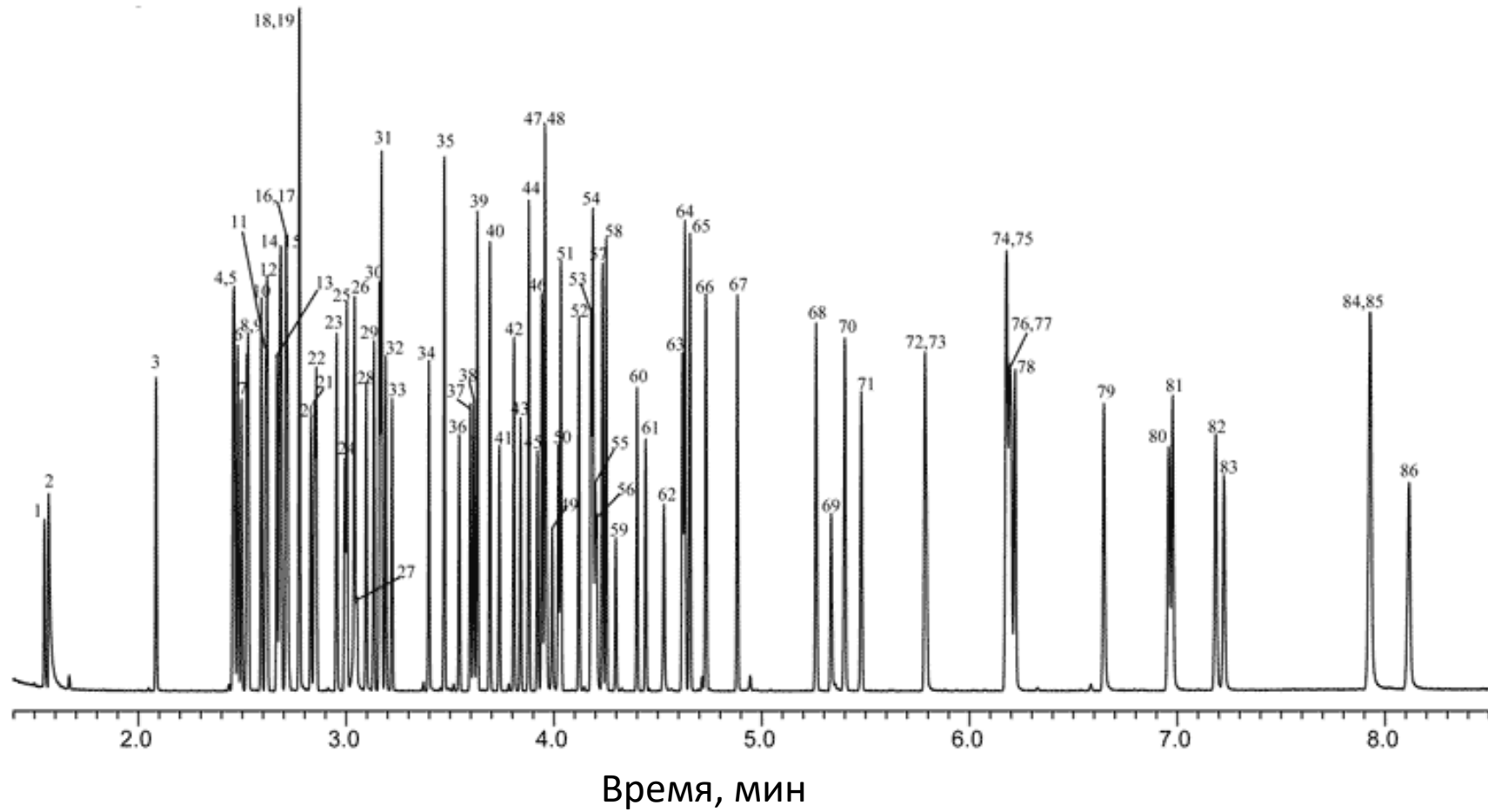
(b)
Улучшенная
эф ф е к т и в н о с т ь
к о л о н к и



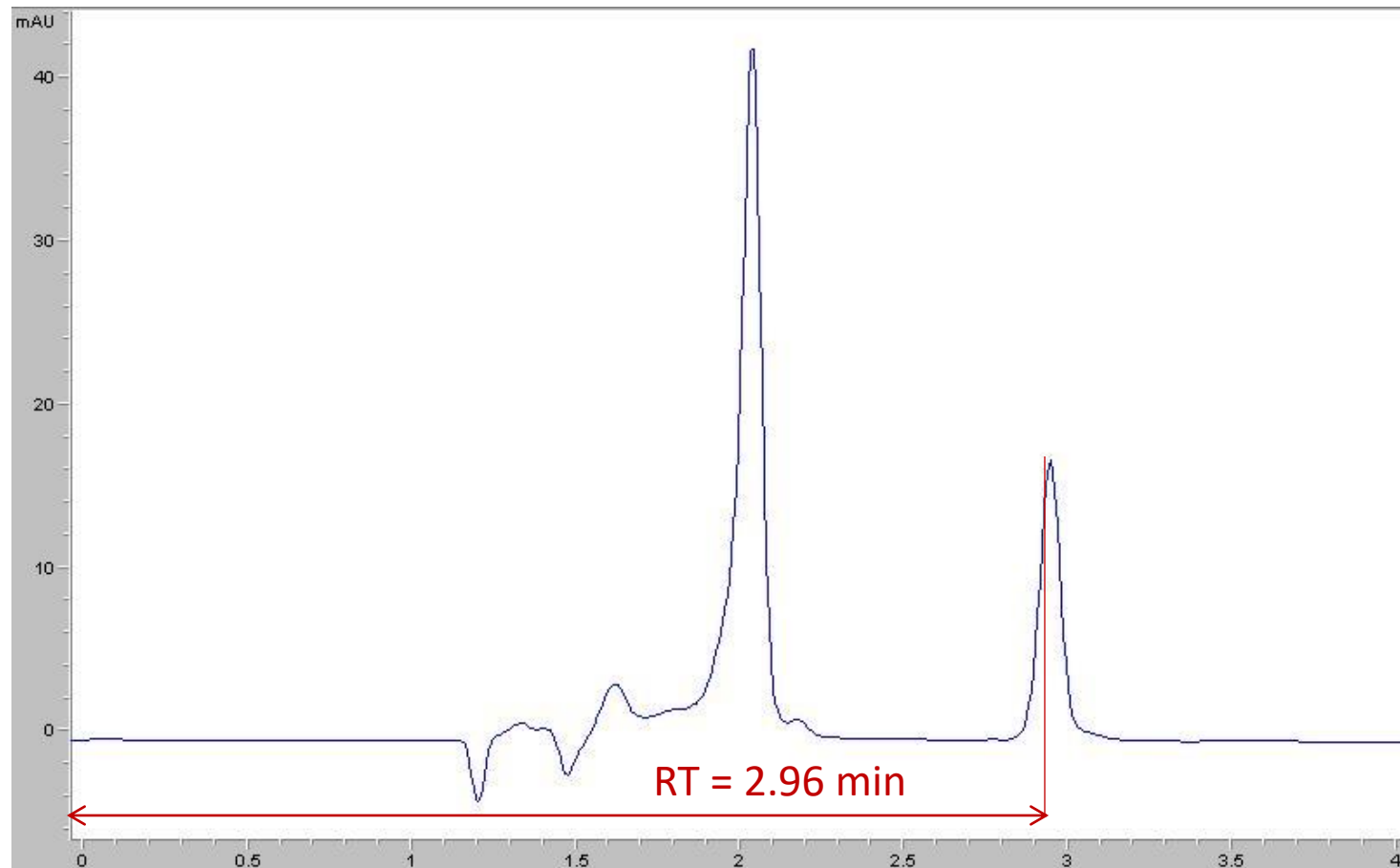
(c)
Улучшенная
с е л е к т и в н о с т ь
к о л о н к и

Хроматограмма

Сигнал детектора

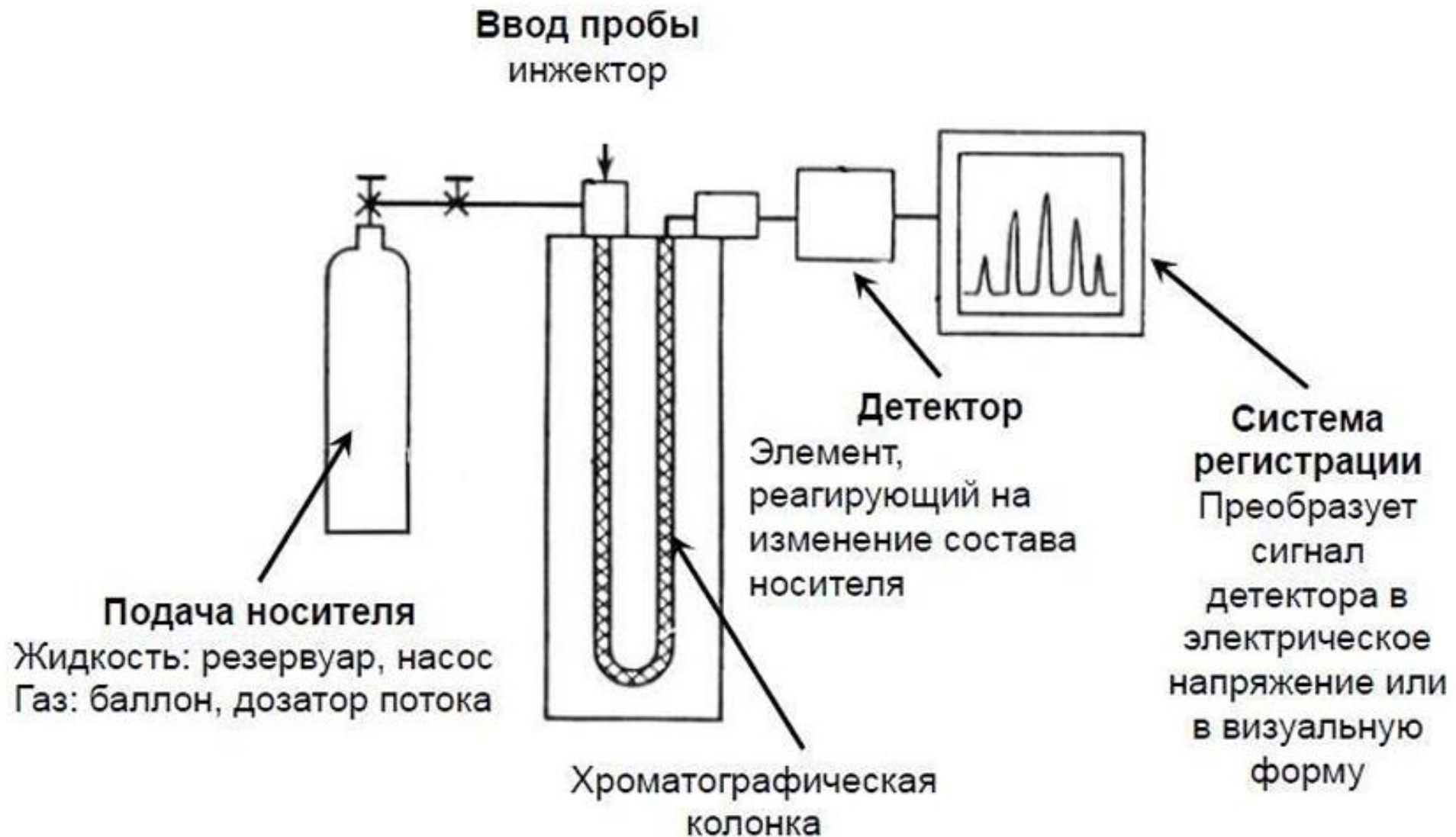


ВРЕМЯ УДЕРЖИВАНИЯ



Важный параметр для каждого пика

ОБЩАЯ КОНСТРУКЦИЯ ХРОМАТОГРАФА



Важные указания

В эксплуатационной документации и в маркировке оборудования важные указания выделены соответствующими символами. В общем случае указания можно разделить на три типа: указания позволяющие избежать травм или избежать повреждений оборудования, а также указания, позволяющие эффективно организовать работу с оборудованием. Символы, связанные с безопасностью выделены красным цветом и помещены в общепринятый знак «треугольник».



Указания, отмеченные данным символом, необходимо выполнять, чтобы исключить получение травм.



Указания, отмеченные данным символом, необходимо выполнять, чтобы исключить повреждение оборудования.



Размещение, эксплуатация (учёт) хроматографа с электрозахватным детектором должны выполняться в соответствии с указаниями СанПиН 2.6.1.1015-01 и ОСПОРБ-99и эксплуатационной документации. Уровень излучения на поверхности хроматографа с электрозахватным детектором не превышает природного фона.



Данный символ предупреждает об опасности ожога.



Не смотря на то, что хроматограф оснащен защитой от утечек водорода, данный символ предупреждает о повышенном внимании и опасности взрыва при утечке водорода, используемого в качестве газа-носителя.



Примечания, выделенные данным символом, помогают организовать эффективнее работу с оборудованием и избежать нерациональных действий.



В примечаниях, выделенных данным символом, приведена последовательность действий, например при настройке или техническом обслуживании

Quiz 1/5

Какова основная цель хроматографии?

1 – анализировать вещества

2 – получать спектры

3 – определять площади пиков

4 – разделять смеси химических соединений

Quiz 2/5

Какая фаза перемещает вещества в хроматографии?

1– стационарная

2– растворитель

3 – подвижная

4 – вода

Quiz 3/5

Какой параметр хроматографического пика используется для качественного анализа?

1 – время удерживания

2 – ширина пика

3 – площадь пика

4 – высота пика

Quiz 4/5

Какой параметр хроматографического пика используется для количественного анализа?

1 – время удерживания

2 – ширина пика

3 – площадь пика

4 – высота пика

Quiz 5/5

Какой из предложенных способов не позволит улучшить эффективность разделения двух пиков в хроматографии?

- 1 – изменение селективности колонки
- 2 – увеличение эффективности колонки
- 3 – отрезание колонки
- 4 – уменьшение ширины пика



ВОПРОСЫ ???