

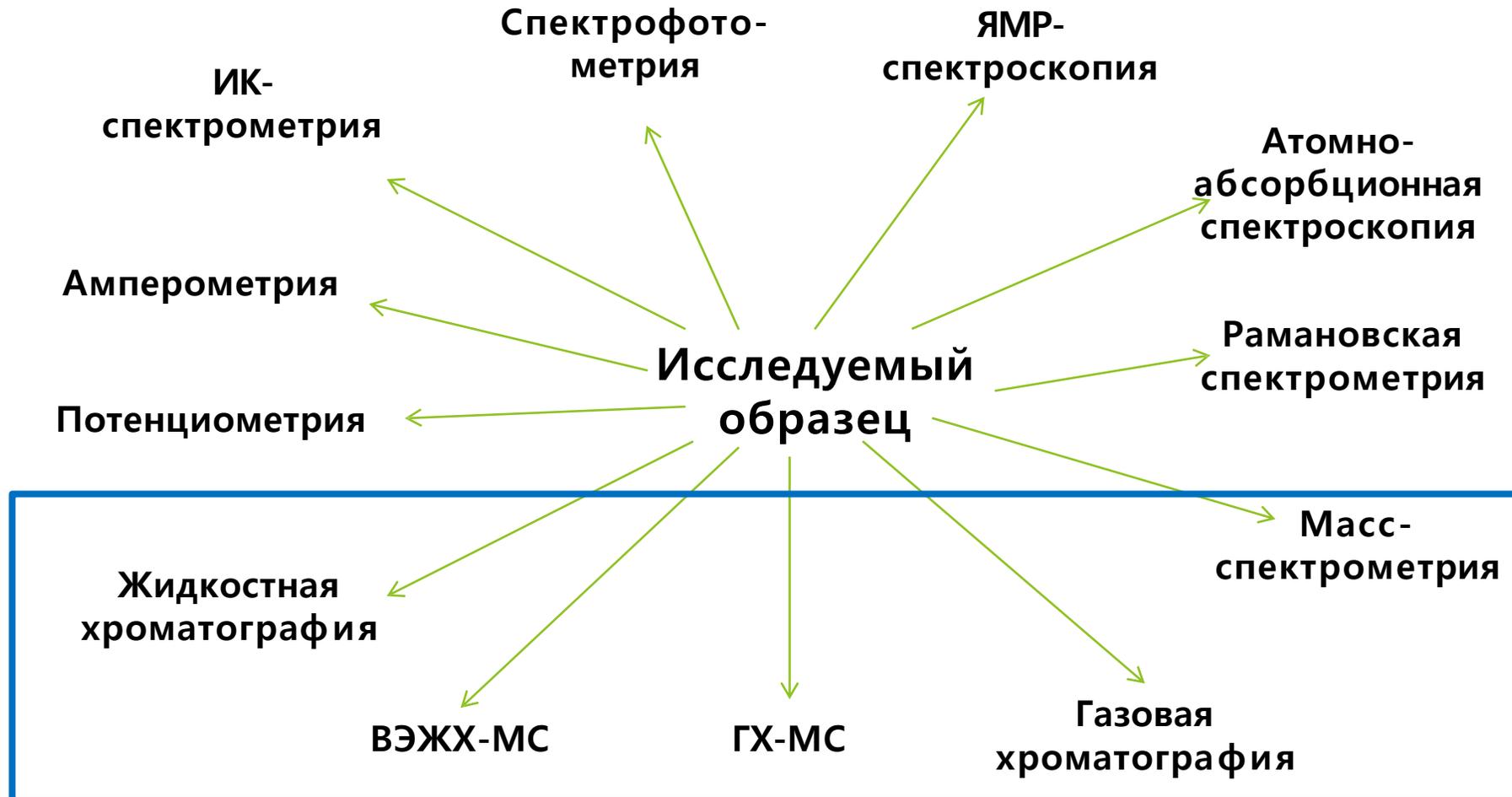


# СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ХРОМАТОГРАФИИ

## Лекция 1. Введение в хроматографию

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

# СОВРЕМЕННЫЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА



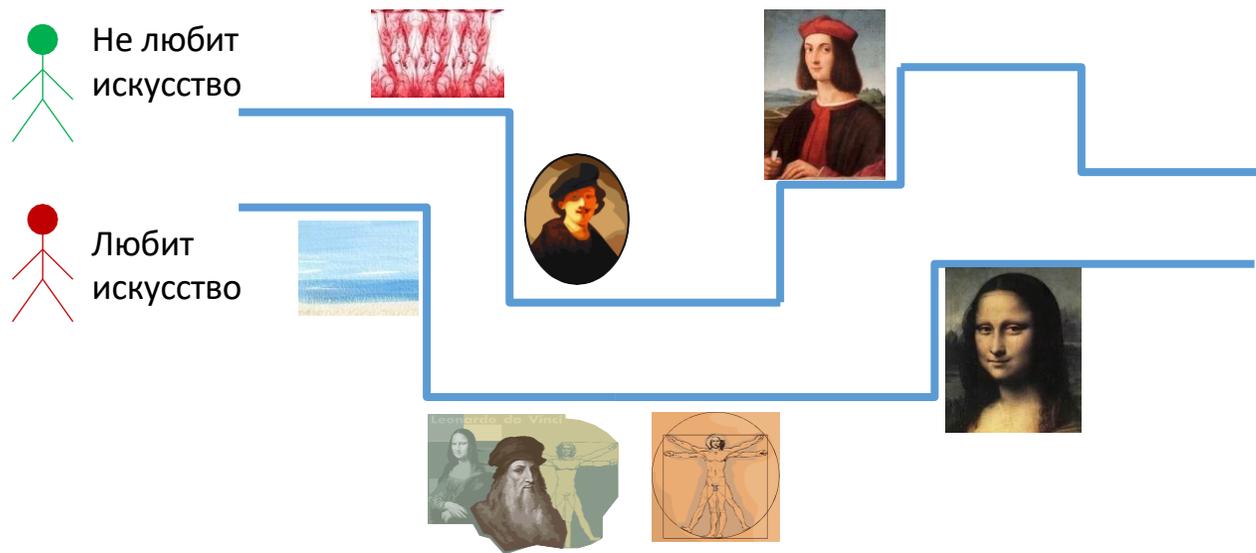
# ЧТО ТАКОЕ ХРОМАТОГРАФИЯ?

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**)

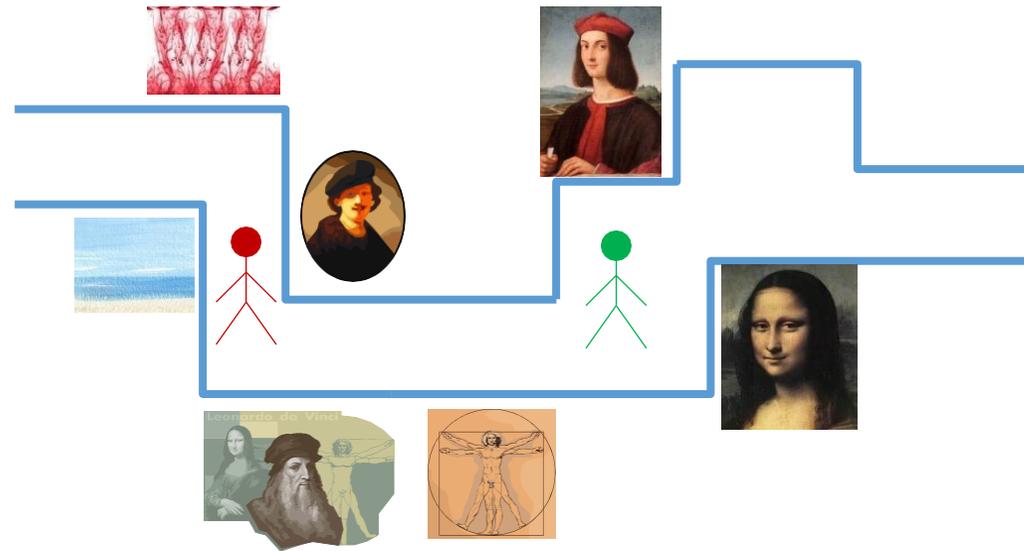
В колоночной хроматографии веществам требуется различное время для того, чтобы пройти через колонку, что и приводит к их разделению.

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

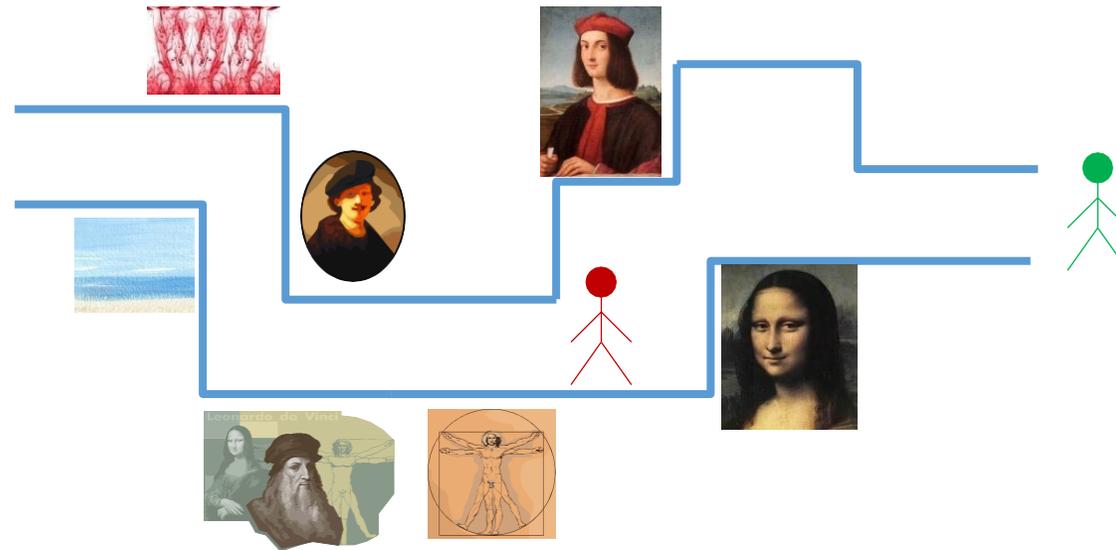
# На примере - Галереи



# 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).

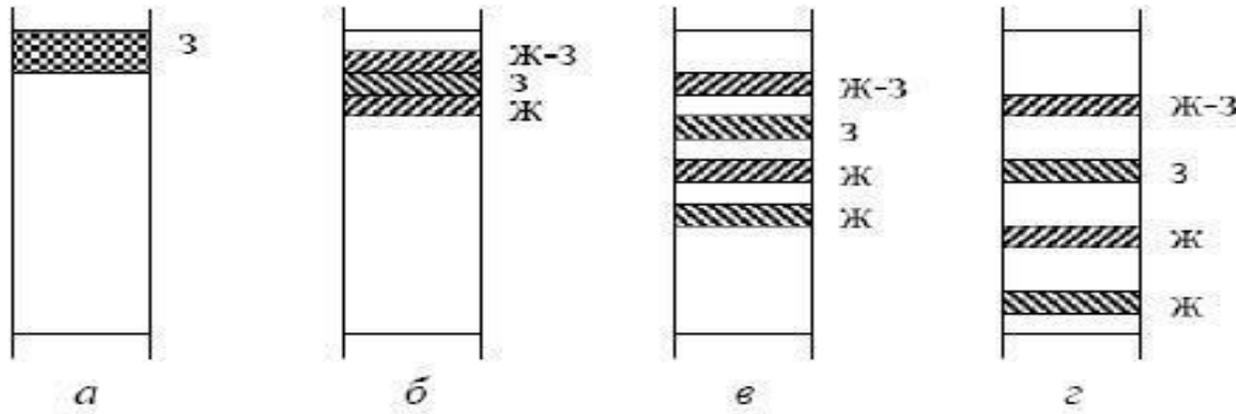
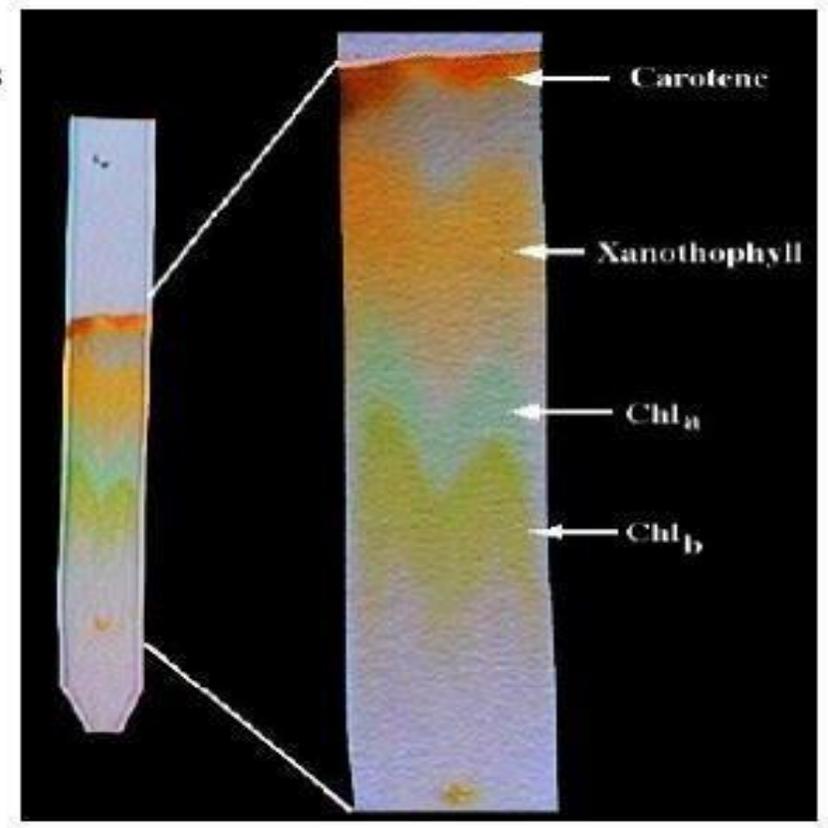


Схема процесса разделения пигментов, входящих в состав хлорофилла



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

# ВИДЫ ХРОМАТОГРАФИИ

<b>Адсорбционная (молекулярная) хроматография</b>	Основано на разнообразии сорбции различных компонентов разделяемой смеси в сорбенте
<b>Хемосорбционная хроматография</b>	В зависимости от образования водородной связи, наличия химической идентичности и т. д.
<b>Распределительная хроматография</b>	Основана на разнообразии растворимости компонентов в неподвижной смеси
<b>Ионообменная хроматография</b>	Основана на разнообразии константы ионообменного равновесия между неподвижной фазой и компонентами разделяемой смеси
<b>Хроматография обмена лигандов</b>	Основана на образовании координационных связей между высвобождающимися органическими молекулами и катионами металлов в группах (лигандах), встроенных в поверхностный слой адсорбента
<b>Ситовая (эксклюзивная) хроматография</b>	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.
<b>Аффинная хроматография</b>	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): тонкослойная и бумажная
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
<b>Адсорбционная (жидкостная)</b>	Жидкость	Твердое тело	Слой в колонке	Колоночная
<b>Хроматография распределения (жидкостная)</b>	Жидкость	Жидкость	Адсорбция на пористое вещество	Колоночная
<b>Бумажная хроматография</b>	Жидкость	Жидкость	Бумага удерживает волокна	Плоский (на плоскости)
<b>Тонкослойная хроматография</b>	Жидкость	Жидкость или твердое тело	Сорбент или жесткий носитель, нанесенный на стеклянную пластинку или фольгу	Плоский (на плоскости)
<b>Газо-адсорбционная хроматография</b>	Газ	Твердое тело	Слой в колонке	Колоночная
<b>Газо-жидкостная хроматография</b>	Газ	Жидкость	Адсорбция на пористое вещество или капилляр	Колоночная
<b>Гелевая хроматография</b>	Жидкость	Жидкость	Содержится в порах твердого полимера	Колоночная
<b>Ионообменная хроматография</b>	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.

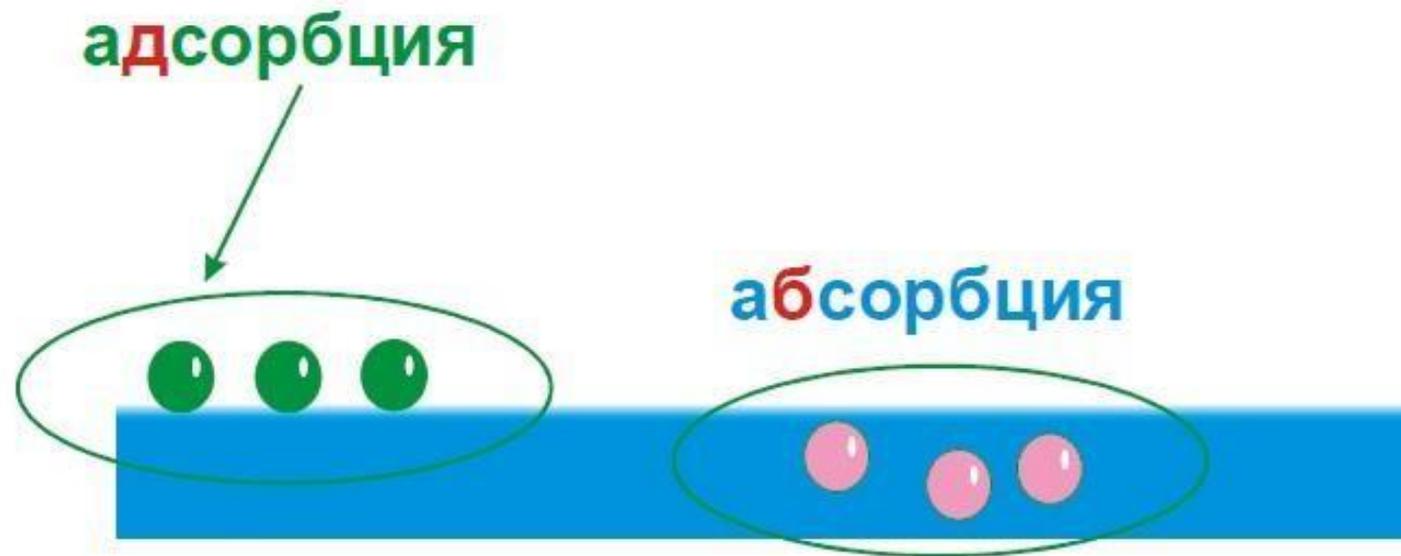
## Адсорбционный процесс.

### 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.

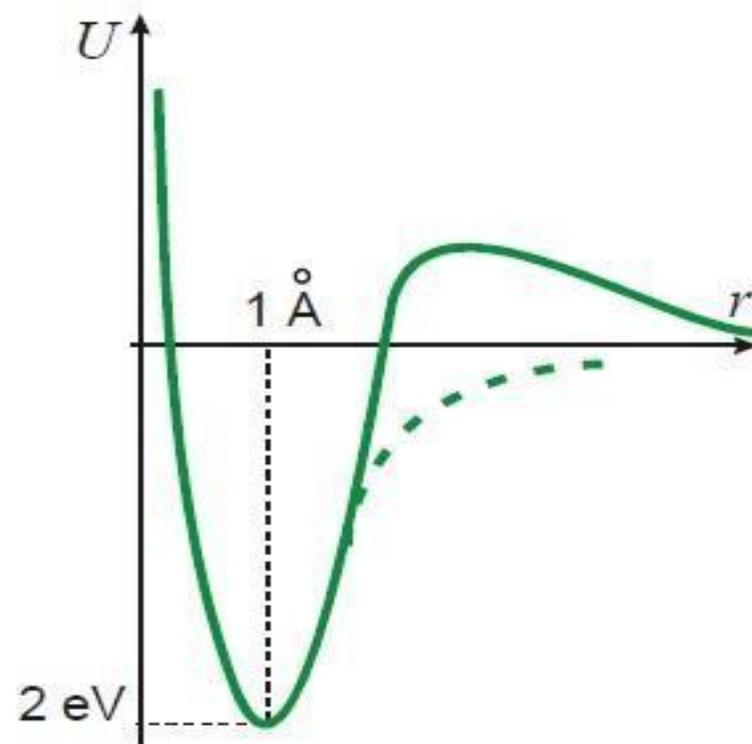
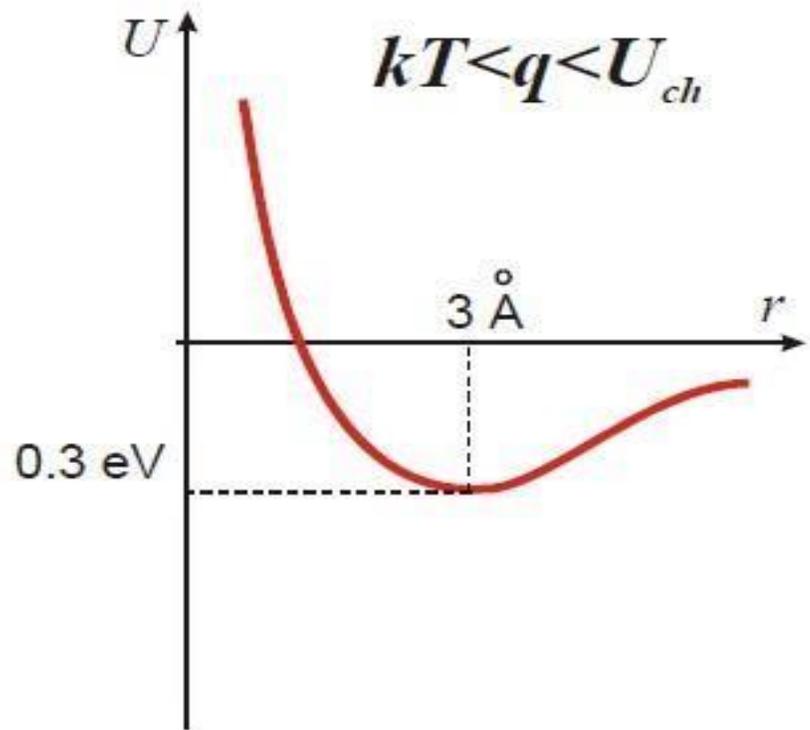
В отличие от физической адсорбции, в химической адсорбции происходит образование химических соединений между адсорбатом и адсорбентом.

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

**Примеры** химической адсорбции включают адсорбцию кислорода на металлической поверхности или адсорбцию аминофункциональных 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

**S**tationary – неподвижная (стационарная)

**M**obile – 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.

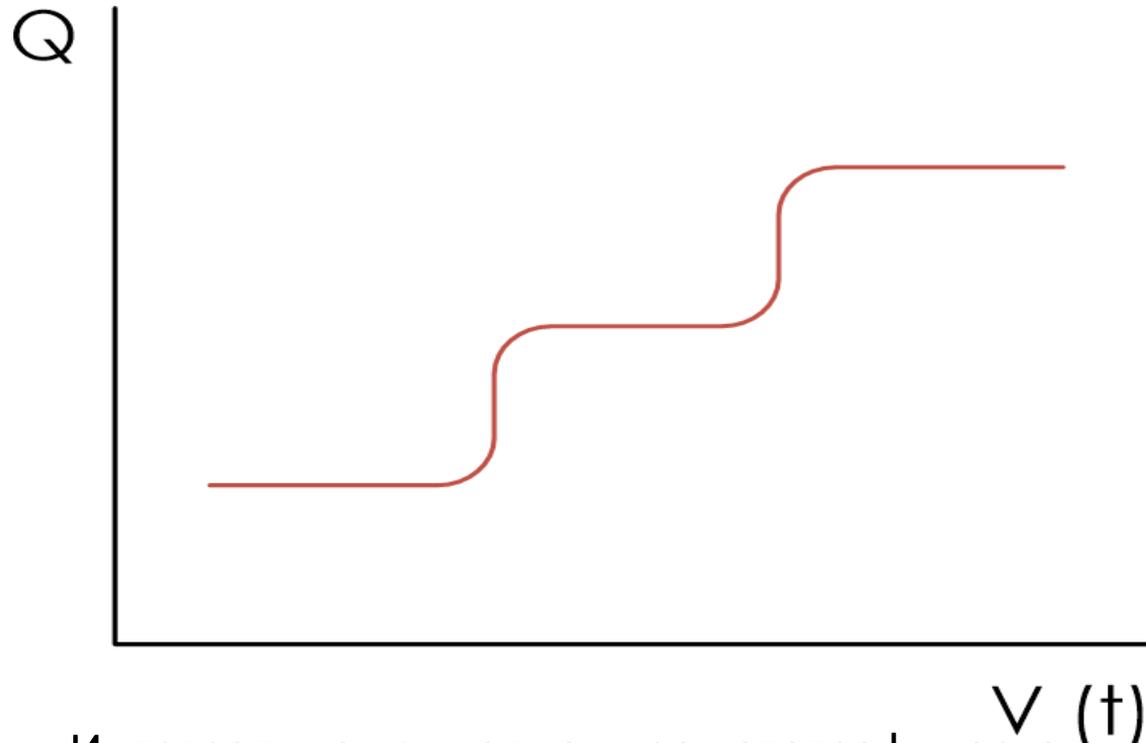
ЗРН - может быть записан в виде  $c_1/c_2 = k$ , где  $c_1$  и  $c_2$  — равновесные молярные концентрации третьего компонента в первой и второй фазах; постоянная  $k$  — коэффициент распределения, зависящий от температуры:

$$K = C_S / C_M$$

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

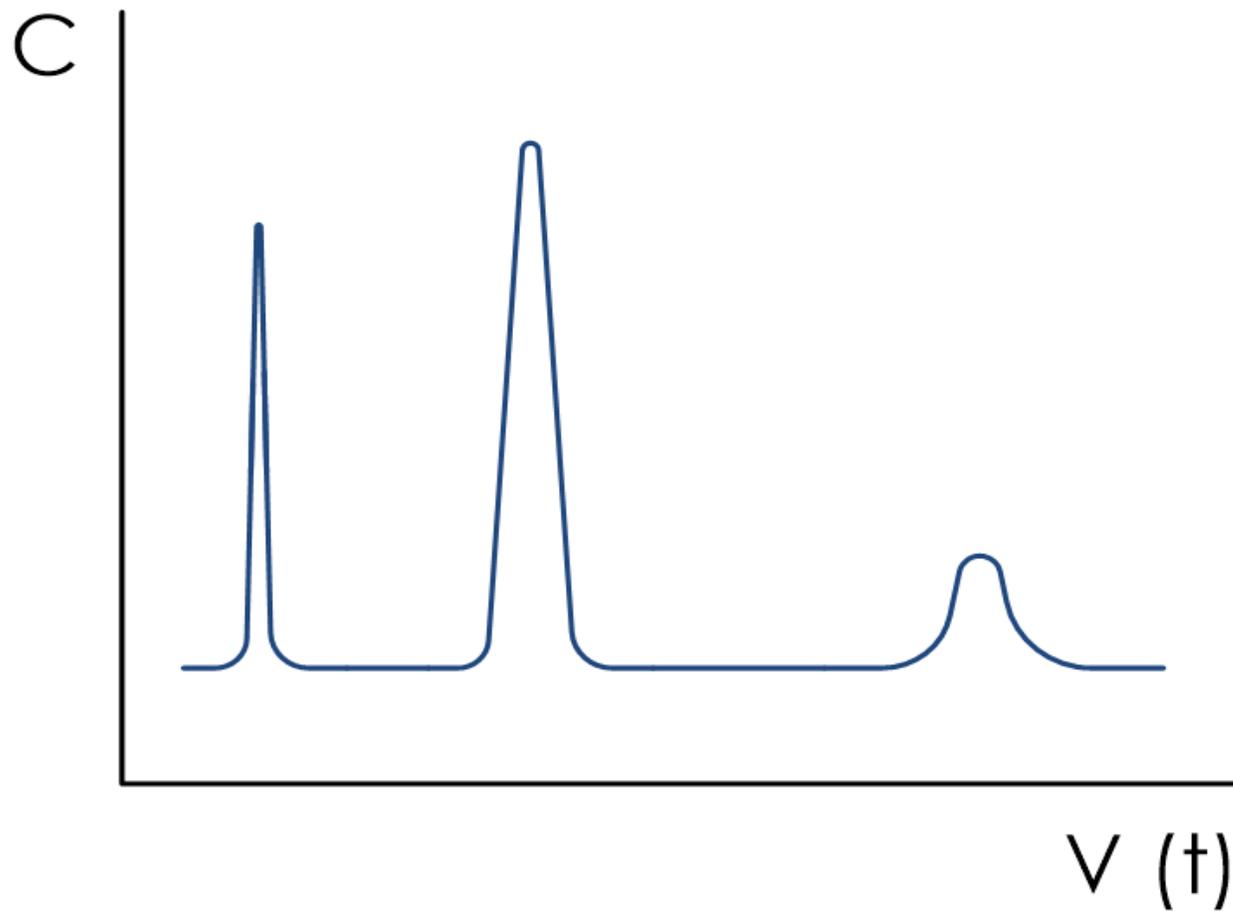
# Хроматографическая картина разделения

1. Интегральная (практически не применяется)
2. Дифференциальная



$$Q=f(V) \text{ или } Q=f(t).$$

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



Дифференциальная выходная хроматографическая кривая,

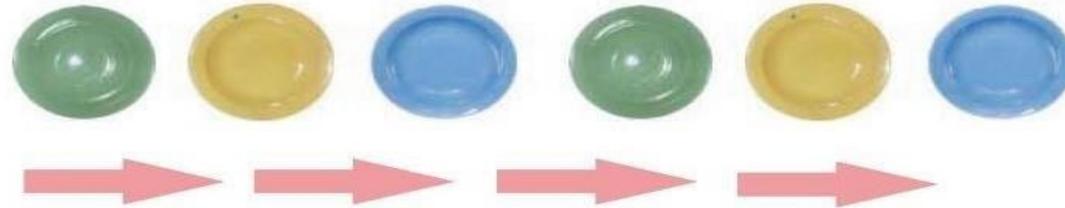
$$C=f(V) \text{ или } C=f(t).$$

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

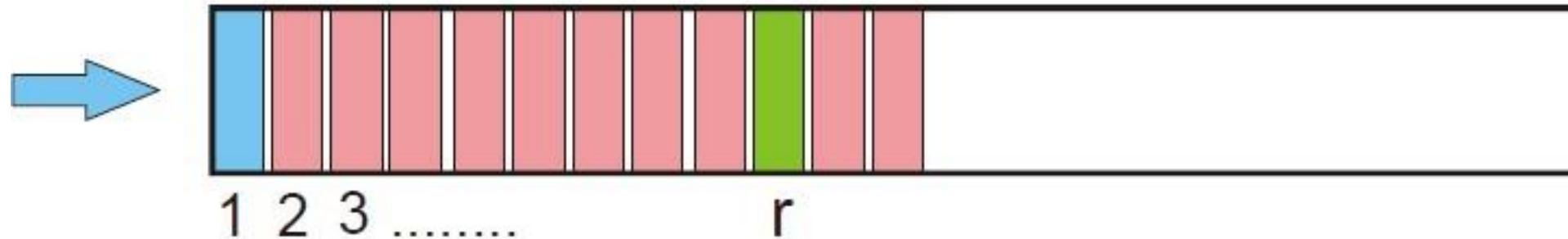


## Определения

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

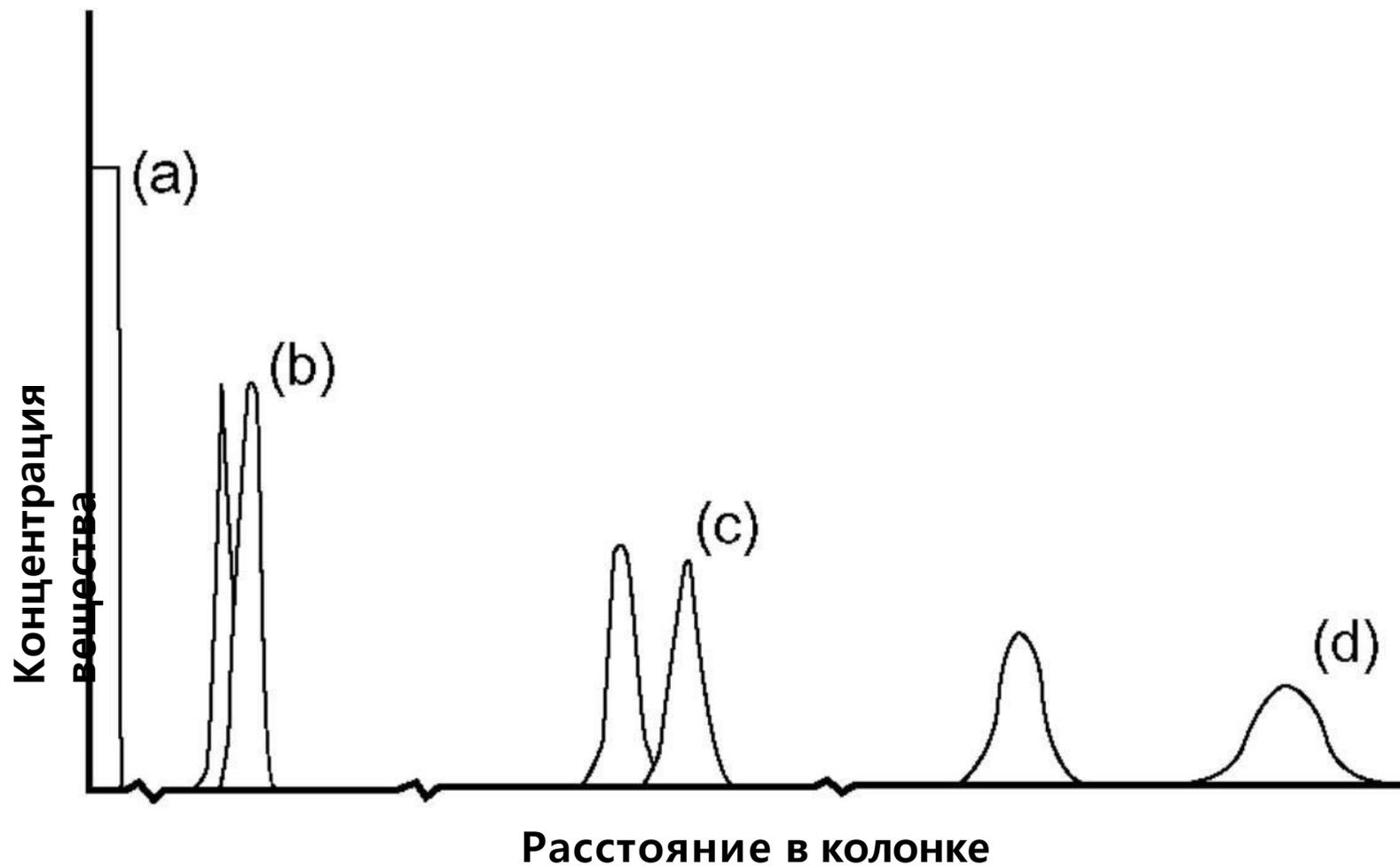
В 1952 году Мартин и Сидж выдвинули теорию теоретических тарелок, за что получили Нобелевскую премию.

# 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***

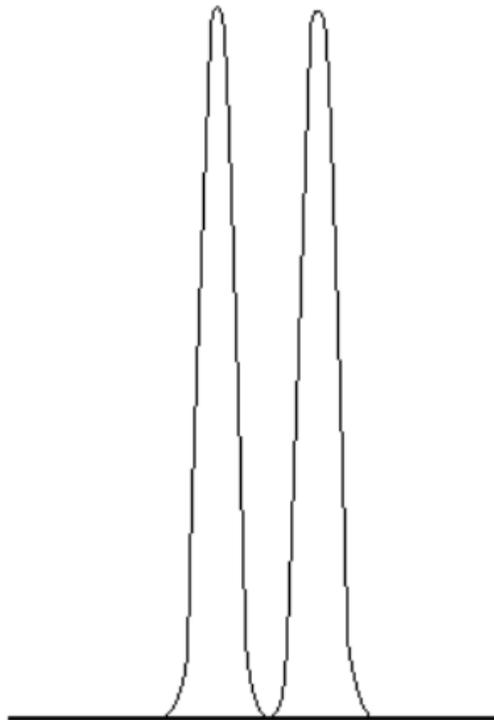
# Процесс разделения



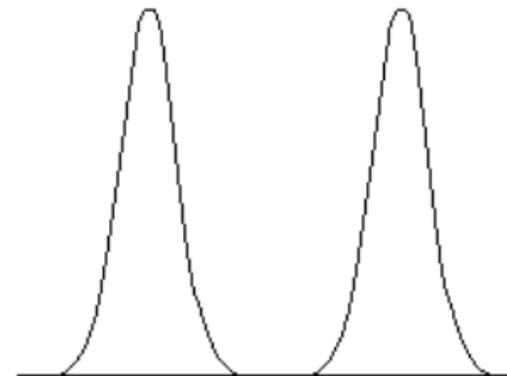
# Улучшение разделения



(a)  
Недостаточное  
разделение



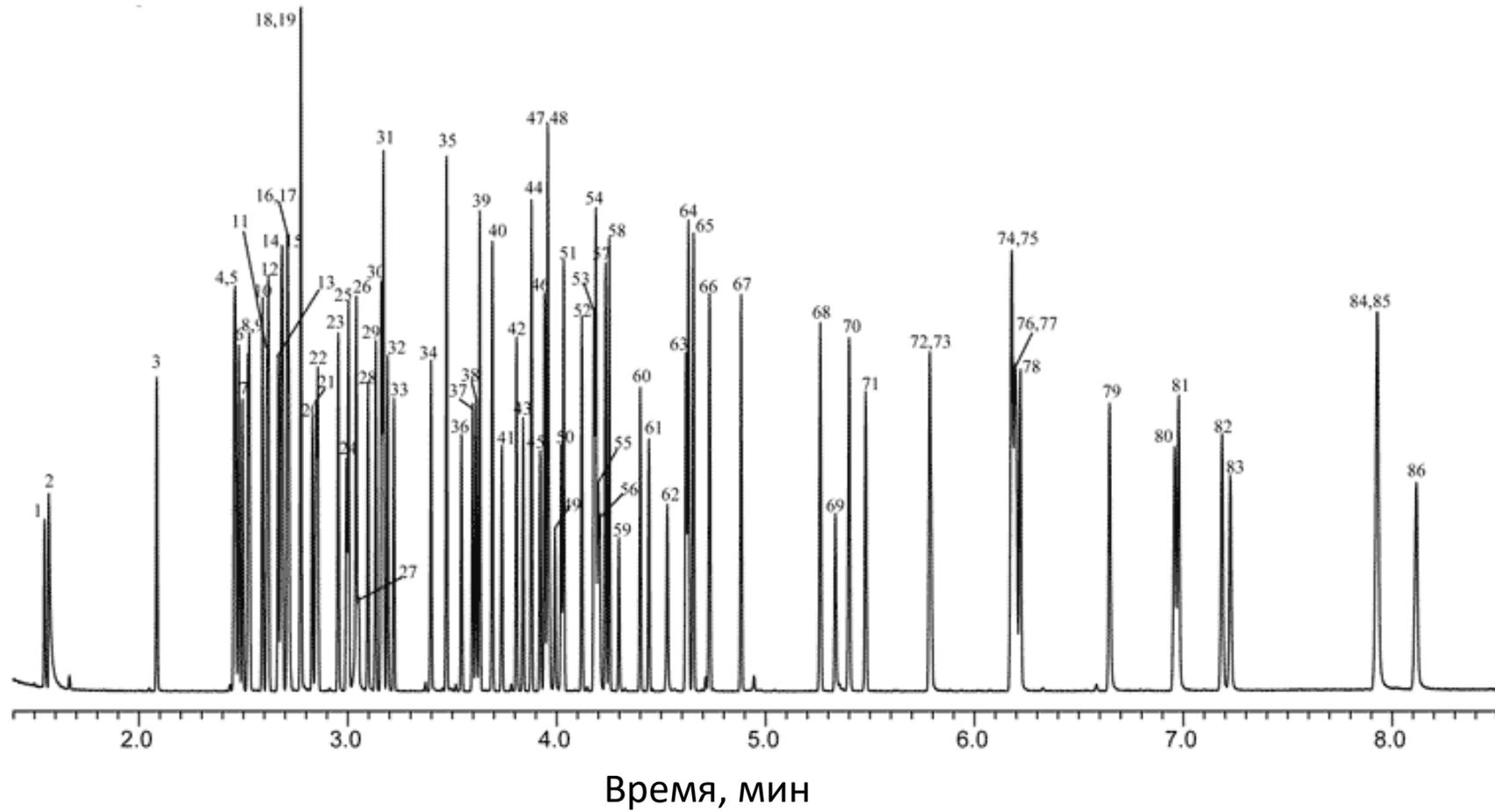
(b)  
Улучшенная  
эф ф е к т и в н о с т ь  
к о л о н к и



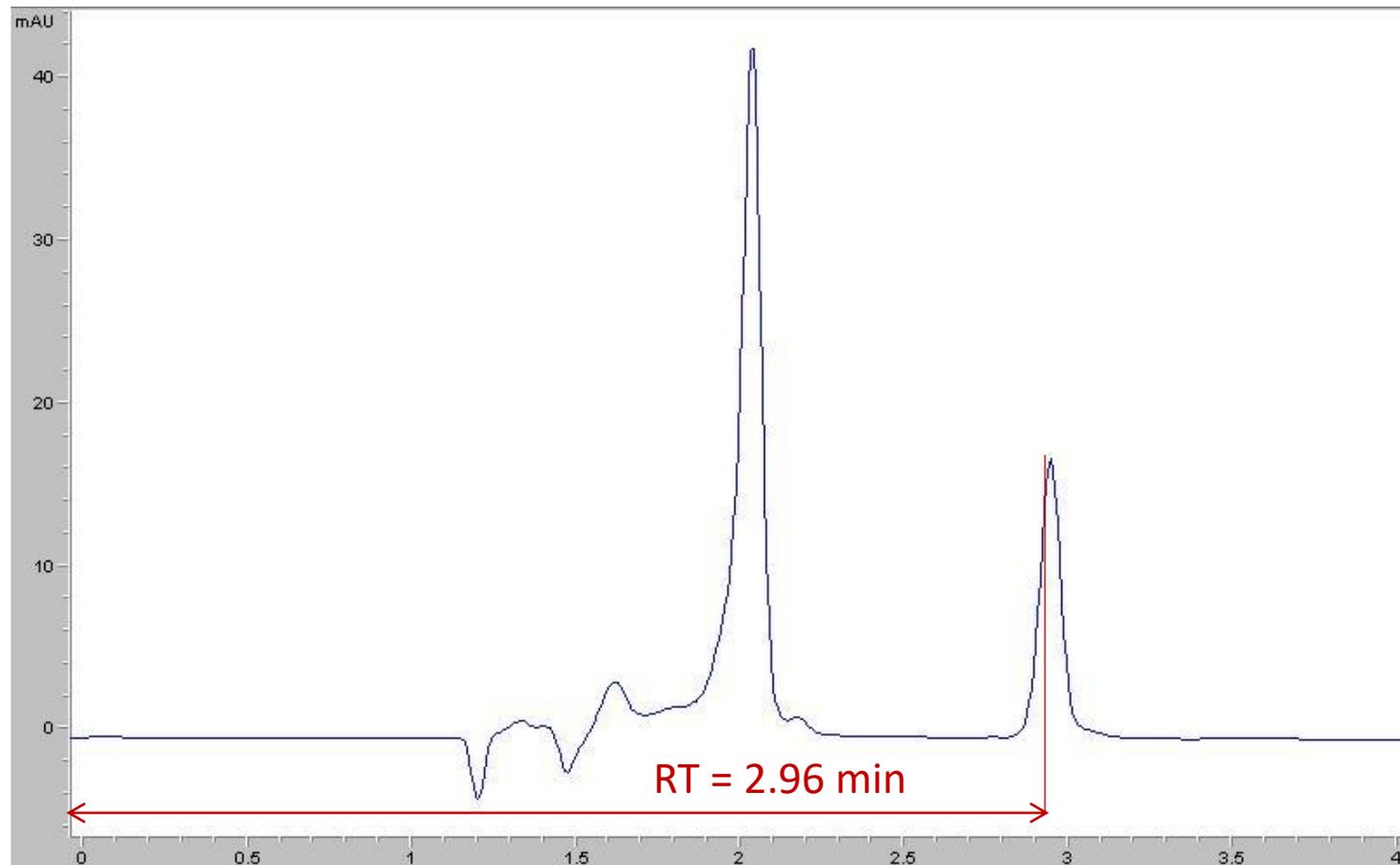
(c)  
Улучшенная  
с е л е к т и в н о с т ь  
к о л о н к и

# Хроматограмма

Сигнал детектора

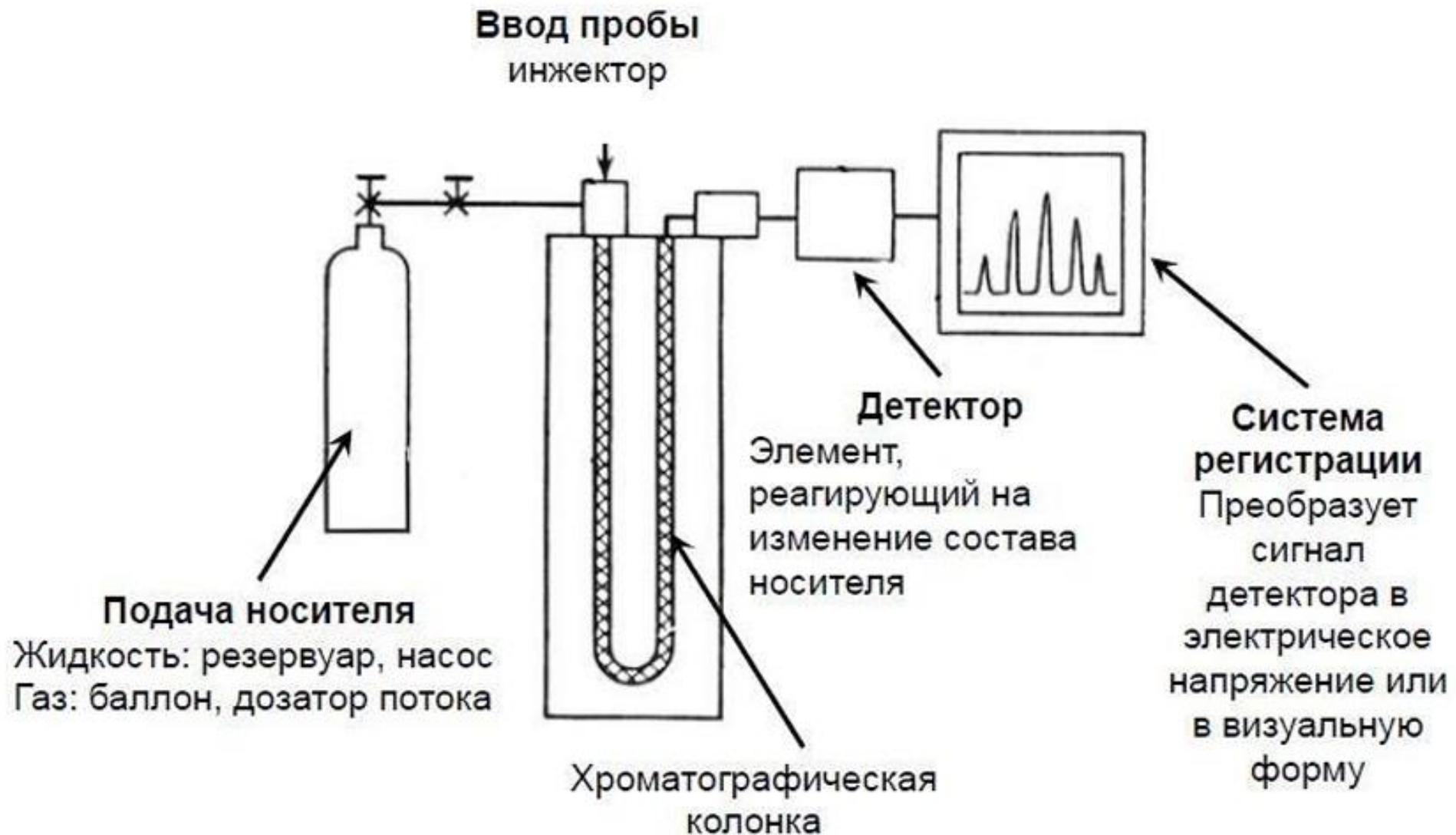


# ВРЕМЯ УДЕРЖИВАНИЯ



**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 ???**