***Сущность и классификация хроматографических методов. Ионообменная хроматография.***

Хроматографию можно определить как, основанный на многократном повторении актов сорбции и десорбции вещества при перемещении его в потоке подвижной фазы вдоль неподвижного сорбента.

***Сорбцией***(от лат. – *sorbeo* – поглощаю) называют процесс поглощения твёрдым телом или жидкостью (сорбентом) газообразного или растворённого вещества (сорбата), обратный процесс называют ***десорбцией****.* Сорбацию подразделяют на *адсорбцию –* поглощение вещества (адсорбата) поверхностью твёрдого или жидкого адсорбента и *абсорбцию*  − поглощение вещества (абсорбата) объёмом абсорбента.

Вещество подвижной фазы непрерывно вступает в контакт с новыми участками сорбента и частично сорбируется, а сорбированное вещество контактирует со свежими порциями подвижной фазы и частично десорбируется.

Различные методы хроматографии можно классифицировать по агрегатному состоянию фаз, способу их относительного перемещения, аппаратурному оформлению процесса и т. д. По агрегатному состоянию фаз хроматографические методы обычно классифицируют следующим образом (табл. 5.1).

Т а б л и ц а 5.1.[[1]](#footnote-1)\* **Классификация хроматографических методов по агрегатному состоянию фаз**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Неподвижная  фаза | Подвижная фаза | |
| газообразная | жидкая |
| Твёрдая | Газовая адсорбционная хроматография | Жидкостная адсорбционная, ионообменная, ионная, тонкослойная, осадочная хроматография |
| Жидкая | Газожидкостная распределительная хроматография, капиллярная | Жидкостная распределительная, высокоэффективная жидкостная, гель-хроматография |

По способу относительного перемещения фаз различают фронтальную, или элюэнтную, и вытеснительную хроматографию.

***Ионообменная хроматография*** основана на обратимом стехиометрическом обмене ионов, находящихся в растворе, на ионы, входящие в состав ионообменника. Такой процесс называется *ионным обменом*. *Иониты -* ионообменные смолы или *синтетические ионообменники.* Наибольшее распространение в качестве синтетических ионообменников нашли органические ионообменные смолы, например, поперечно-сшитый полистирол, содержащий различные функциональные группы.

В зависимости от знака заряда функциональных групп ионообменные смолы являются *катионитами* или *анионитами.* Катиониты содержат кислотные функциональные группы [ – SO3-,– COO-, – PO3-, – N(CH2CO2-)], поэтому каркас катионита заряжен отрицательно.

Функциональными группами каркаса анионитов являются четвертичные – NR3+, третичные – NH2H+ или первичные – NH3+ аммониевые, пиридиновые или другие основания, а в качестве подвижных противоионов выступают анионы. Анионообменные смолы получаются также путём реакции полимеризации или поликонденсации с использованием различных аминосоединений (фенилендиамина, полиэтиленполиамина и т. п.), формальдегида и др.

Ионообменные методики характеризуются высокой селективностью или высокой *избирательностью сорбции.* Это объясняется тем фактом, что на место иона из смолы может встать только ион, обладающий сходными характеристиками, т. е. размером и зарядом, а сходные, ионы по химическим свойствам, могут очень сильно различаться, в частности, радиусом. Поэтому ионообменные методики применяются даже для разделения изотопов (14N и 15N).

***Распределительная хроматография, её сущность****.*

На твёрдый носитель наносится плёнка жидкой фазы и через колонку, наполненную таким сорбентом, пропускают жидкий раствор. Этот вид хроматографии и называют распределительной хроматографией. Жидкость, нанесённую на носитель, называют неподвижной жидкой фазой, а растворитель, передвигающийся через носитель, – подвижной жидкой фазой. Жидкостно-жидкостная хроматография может проводиться в колонке (колоночный вариант) и на бумаге (бумажная хроматография).

Разделение смеси веществ в распределительной хроматографии основано на различии коэффициентов распределения вещества между несмешивающимися жидкостями:

|  |
| --- |
| *К*П, Н = *с*П/*с*Н, |

где *с*П  и *с*Н – концентрация в подвижной и неподвижной фазах.

***Колоночная распределительная хроматография****.*

Адсорбенты с закреплённой на их поверхности жидкой фазой выпускаются промышленностью. Таким адсорбентом заполняется колонка. Эффективность колонки связана с вязкостью, коэффициентом диффузии и другими свойствами жидкостей. Носитель неподвижной фазы должен обладать достаточно развитой поверхностью, быть химически инертным, прочно удерживать на своей поверхности жидкую фазу и не растворятся в применяемых растворителях.

***Бумажная распределительная хроматография.***

В бумажной распределительной хроматографии в качестве носителя используется специальная хроматографическая бумага.

Хроматографическая проба наносится на стартовую линию бумажной полоски и подвергается действию подвижной фазы (растворителя). Если компоненты окрашены, через некоторое время на хроматограмме можно увидеть отдельные цветные пятна.

Хроматографическая бумага должна быть химически чистой, нейтральной, инертной по отношению к компонентам раствора и подвижному растворителю и быть однородной по плотности. Имеют значение и некоторые другие свойства бумаги.

К растворителям обычно предъявляются следующие требования: растворители подвижной и неподвижной фаз не должны смешиваться, состав растворителя в процессе хроматографирования не должен изменяться, растворители должны легко удаляться с бумаги, быть недефицитными и безвредными для человека.

***Основы газо-адсорбционной хроматографии****.*

В газо-адсорбционной хроматографии неподвижная фаза – твёрдая, а подвижная – газообразная. В газо-адсорбционной хроматографии колонки заполняются твёрдым сорбентом. Адсорбция газа на твёрдом сорбенте подчиняется уравнению изотермы адсорбции:

|  |  |
| --- | --- |
| , | (5.6) |

где *n* – количество адсорбированного вещества при равновесии; *n*∞ - максимальное количество вещества, которое может быть адсорбировано на данном адсорбенте; *b* – постоянная; *с* – концентрация.

Зависимость количества поглощённого вещества от концентрации раствора или давления газа при постоянной температуре называют *изотермой адсорбции*. Уравнение (5.6) – это уравнение изотермы адсорбции Лэнгмюра.

В области небольших концентраций изотерма линейна. Действительно, при *bc* ‹‹ 1 знаменатель (5.6) становится равным единице, и уравнение (5.6) переходит в

|  |  |
| --- | --- |
| *n = n*∞*bc* = Г*с*. | (5.7) |

Это уравнение линейной адсорбции. Оно соответствует уравнению Генри (Г – коэффициент Генри). Область линейной адсорбции называют также областью Генри. Следует отметить, что количество адсорбированного вещества может определяться не только концентрацией, но и сродством адсорбанта к адсорбенту (специфичностью).

***Основы газо-жидкостной хроматографии.***

Возможности хроматографического определения вещества в газовой фазе значительно возросли с открытием в 1952 г. метода газо-жидкостной хроматографии. При анализе по этому методу анализируемая газовая смесь проходит через колонку, наполненную твёрдым носителем, на поверхность которого нанесён тонкий слой жидкой фазы. Таким образом, с компонентами пробы здесь уже взаимодействует вещество жидкой плёнки.

В газо-жидкостной хроматографии вместо процесса адсорбции газа на твёрдом сорбенте имеет место процесс растворения газа в твёрдой плёнке, находящейся на твёрдом носителе. Различие в растворимости газов оказалось более существенным, чем различие в адсорбционных свойствах. Поэтому газо-жидкостная хроматография открыла более широкие возможности в анализе и разделении многокомпонентных смесей.

Эффективность разделения в газо-жидкостной хроматографии зависит главным образом от правильности выбора жидкой фазы. Строго обоснованных теоретических способов выбора жидкой фазы не существует. Однако требования к жидкой фазе предъявляются совершенно определённые. Жидкая фаза должна обладать высокой селективностью, быть химически инертной по отношению к компонентам смеси и твёрдому носителю, быть термически устойчивой, не растворять газ-носитель, иметь малую вязкость и быть не летучей.

В качестве жидкой фазы в газо-жидкостной хроматографии используются вазелиновое масло, силиконовое масло, фталаты (дибутил-, диоктил- и др.), диметилформамид, трикреазилфосфат, некоторые жидкие кристаллы и ряд других.

***Газовый хроматограф****.* Независимо от сложности хроматографа основными узлами хроматографической установки являются дозатор (система ввода пробы), хроматографическая колонка и детектор. Кроме того, в установке имеются устройства для подачи газа-носителя, для преобразования импульса детектора в соответствующий сигнал и некоторые другие.

*Дозатор* предназначен для точного количественного отбора пробы и введения её в хроматографическую колонку. Газообразные и жидкие пробы вводятся с помощью специальных шприцов. Нередко в качестве дозатора в лабораторной практике используется обыкновенный медицинский шприц.

*Хроматографические колонки* весьма различны по форме, размерам и конструкционным материалам. Применяются прямые, спиральные и другие колонки длиной от 1 – 2 м и менее до нескольких десятков метров. Внутренний диаметр колонок обычно несколько миллиметров. Конструкционными материалами для колонок обычно служат медь, сталь, латунь, секло и др.

Большое влияние на процессы адсорбции-десорбции оказывает температура, поэтому практически все хроматографы имеют устройства для термостатирования.

Адсорбенты, которыми наполняют колонку, выпускаются промышленностью и имеют, как всякий товарный продукт, гарантии и инструкции по применению.

*Детектор* предназначен для обнаружения изменений в составе газа, прошедшего через колонку. Показания детектора обычно преобразуются в электрический сигнал и передаются фиксирующему или записывающему прибору, например на ленту электронного потенциометра. В современных приборах сигнал передаётся на компьютер.

Детекторы бывают по теплопроводности (катарометры), по плотности, по электрической проводимости, пламенные, пламенно-ионизационные и другие ионизационные детекторы, термохимические, пламенно-фотометрические и т. д. Детекторы выбирают в зависимости от свойств изучаемой системы.

Принцип работы, например, катарометра основан на измерении сопротивления нагретой платиновой нити, которое зависит от теплопроводности омывающего газа. Количество теплоты, отводимое от нагретой нити, зависит от состава газа. Чем больше теплопроводность определяемых компонентов смеси будет отличаться от теплопроводности газа-носителя, тем большей чувствительностью будет обладать катарометр.

В пламенно-ионизационных детекторах (ПИД) измеряют электрическую проводимость пламени водородной горелки. Чисто водородное пламя обладает очень низкой электрической проводимостью. При появлении в пламени органических соединений, происходит их ионизация и, как следствие повышение проводимости. ПИД позволяет обнаружить до 10-12 г вещества.

***Качественный хроматографичекий анализ.***

Качественный состав пробы может быть установлен с помощью хроматографической методики по характеристике полученной хроматограммы. Типичная хроматограмма приведена на рис. 5.10. В идеальном случае каждому компоненту смеси отвечает свой пик.

|  |
| --- |
|  |
| **Рис. 5.10.** Хроматограммы смеси воды и кислот (115 0С):  *1 – вода; 2 – муравьиная кислота; 3 – уксусная кислота;*  *4 – пропионовая кислота; 5 – изомасляная кислота;*  *6 – н-масляная кислота; 7 – изовалерианова кислота* |

Собственно хроматографический качественный анализ основан на использовании характеристик удерживания – времени удерживания или пропорционального ему удерживаемого объёма и *индексов удерживания.* Для этой цели применяются относительные удерживаемые объёмы – формула (5.8). Идентификация исследуемых веществ проводится сравнением полученных и табличных данных.

|  |  |
| --- | --- |
| *Vr = trω*, | (5.8) |

где *Vr –* удерживаемый объём; *tr* – время удерживания; *ω* – объёмная скорость газа-носителя.

Иногда в смесь вводят вещество, наличие которого там предполагается (эталон) и сравнивают высоту или площадь пика до введения эталона и после.

***Количественный хроматографический анализ***основан на измерении различных параметров пика, зависящих от концентрации хроматографируемых веществ – высоты, ширины, площади и удерживаемого объёма – или произведения удерживаемого объёма на высоту. Выбор какого-либо параметра из перечисленных обусловлен конкретным видом хроматограммы. В частности, при достаточной стабильности условий хроматографирования и детектирования определяющим параметром пика можно считать его высоту.

Наиболее точным считается *метод абсолютной калибровки.* В этом методе экспериментально определяют зависимость высоты или площади пика от концентрации вещества, которое нужно определить в смеси и строят градуировочные графики, т. е. зависимость выбранного параметра пика от концентрации чистого определяемого вещества. Далее по этому графику находят концентрацию того же вещества, но уже в рабочей смеси.

1. \* Таблица имеет иллюстративный характер и некоторые виды хроматографии в неё не включены. [↑](#footnote-ref-1)