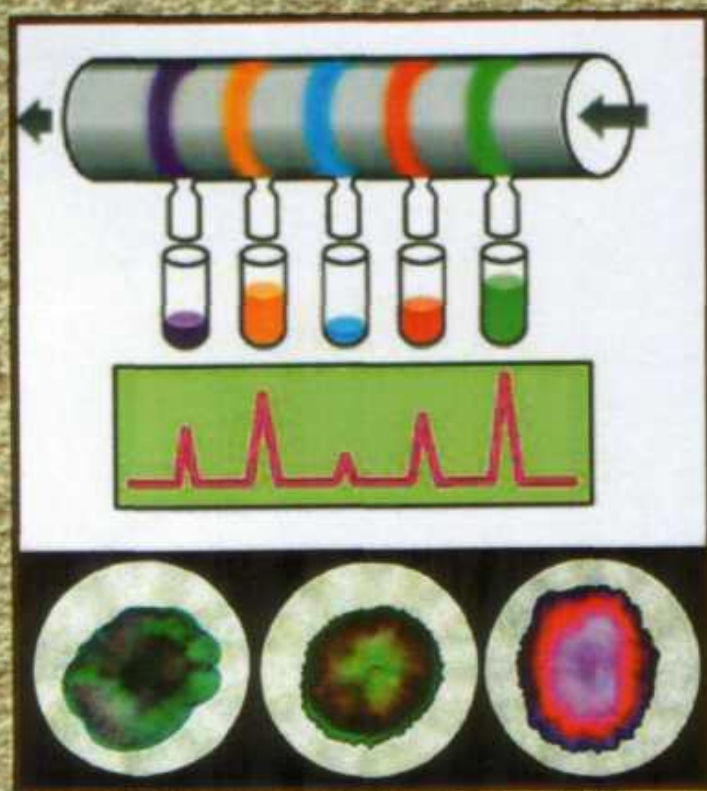


**ФЕДОРЧЕНКО Софія Володимирівна**

**КУРТА Сергій Андрійович**

# **ХРОМАТОГРАФІЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ**





Міністерство освіти і науки, молоді та спорту України  
Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника  
Інститут природничих наук  
Кафедра органічної та аналітичної хімії

**Федорченко Софія Володимирівна**

**Курта Сергій Андрійович**

# **ХРОМАТОГРАФІЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ**

Навчальний посібник

Івано-Франківськ  
Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника  
2012

УДК 543.544  
ББК 24.471  
Ф33

*Рекомендовано вченою радою  
Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника  
(протокол № 4 від 30 січня 2012 р.)*

РЕЦЕНЗЕНТИ: **Токарєв В. С.**, доктор хімічних наук, професор кафедри органічної хімії університету “Львівська політехніка”;  
**Сіренко Г. О.**, доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри неорганічної та фізичної хімії Прикарпатського національного університету ім. Василя Стефаника.

**Федорченко С. В.**

Ф33 Хроматографічні методи аналізу : навч. посіб. / Федорченко Софія Володимирівна, Курта Сергій Андрійович. – Івано-Франківськ : Прикарп. нац. ун-т ім. В. Стефаника, 2012. – 146 с.

У посібнику викладено загальні принципи хроматографії й особливості її модифікацій. Розглянуто теоретичні основи хроматографічного розділення, основні форми здійснення хроматографії, основи методів газової, розподільчої, адсорбційної та іонообмінної хроматографії. Широко розглянуто техніку хроматографічного експерименту, методи ідентифікації сполук і кількісного розрахунку хроматограм, методик якостісного і кількісного аналізу багатокомпонентних проб. Наведено відомості про будову і принцип дії хроматографічної апаратури. Значну увагу приділено теоретичним знанням про вплив основних факторів на хроматографічне розділення суміші речовини і практичний вибір оптимальних умов проведення хроматографічного аналізу та ефективної апаратури: типу хроматографічної колонки, нерухомих фаз. Висвітлено можливості й особливості використання хроматографічних методів аналізу в різних сферах діяльності.

Навчальний посібник рекомендований для студентів хімічних, хіміко-технологічних, біохімічних, екологічних та фармацевтичних спеціальностей вищих навчальних закладів, а також для аспірантів, інженерів і лаборантів дослідницьких та аналітичних лабораторій.

**УДК 543.544**  
**ББК 24.471**

© Федорченко С. В., Курта С. А., 2012  
© Кафедра органічної та аналітичної хімії Прикарпатського національного університету ім. В. Стефаника, 2012  
© Видавництво Прикарпатського національного університету ім. В. Стефаника, 2012

## Зміст

<b>Передмова</b>	5
<b>1. Основні визначення хроматографічного процесу</b>	7
1.1. Суть хроматографічного методу	7
1.2. Класифікація хроматографічних методів аналізу	9
1.3. Хроматограма та її характеристики	15
1.4. Розмір хроматографічного піку	19
Контрольні запитання	20
<b>2. Молекулярна хроматографія</b>	21
2.1. Сорбція та розподіл молекул між фазами	21
2.1.1. Сили міжмолекулярної взаємодії	21
2.1.2. Адсорбція	23
2.1.3. Ізотерма адсорбції	24
2.1.4. Абсорбція	28
Контрольні запитання і задачі	29
2.2. Теоретичні основи хроматографічного розділення	30
2.2.1. Класифікація теорій хроматографічного розділення	30
2.2.2. Теорія ідеальної хроматографії	34
2.2.3. Теорія неідеальної хроматографії	38
2.2.4. Теорія тарілок	40
2.2.5. Дифузійна теорія	43
2.2.6. Роздільна здатність хроматографічної колонки	47
2.2.7. Якісний хроматографічний аналіз	52
2.2.8. Кількісний хроматографічний аналіз	56
Контрольні запитання і задачі	64
2.3. Газова хроматографія	67
2.3.1. Загальні положення. Рухома фаза у газовій хроматографії	67
2.3.2. Вплив різних факторів на хроматографічне розділення	70
2.3.3. Основні блоки газового хроматографа	73

2.3.4. Особливості газоадсорбційної хроматографії. Адсорбенти.	84
2.3.5. Особливості газорідинної хроматографії	92
Контрольні запитання	95
2.4. Рідинна колонкова хроматографія	96
2.4.1. Особливості рідинної адсорбційної хроматографії. Елюенти.	99
2.4.2. Особливості рідинної розподільної хроматографії	102
2.4.3. Гель-хроматографія	103
2.4.4. Афінна хроматографія (за біоспецифічною спорідненістю)	105
Контрольні запитання і задачі	108
2.5. Площинна хроматографія	109
2.5.1. Техніка проведення аналізу	110
2.5.2. Кількісні характеристики у площинній хроматографії	112
2.5.3. Хроматографія на папері	113
2.5.4. Тонкошарова хроматографія	115
Контрольні запитання і задачі	119
<b>3. Іонообмінна хроматографія</b>	120
3.1. Особливості розподілу іонів між фазами	121
3.2. Класифікація та властивості іонообмінних сорбентів	122
3.3. Підготовка іонообмінних смол	127
3.4. Застосування іонообмінних смол	130
3.5. Іонна хроматографія	131
3.6. Осадова хроматографія іонів	135
3.6.1. Фізико-хімічні основи осадової хроматографії	136
3.6.2. Осадова хроматографія на папері	137
3.6.3. Фактори впливу на формування осадових хроматограм	138
3.7. Адсорбційно-комплексоутворювальна хроматографія	140
Контрольні запитання і задачі	143
<b>Список використаних джерел</b>	144

## ПЕРЕДМОВА

Одне з важливих завдань сучасної аналітичної хімії – надійний і точний аналіз органічних та неорганічних речовин, часто близьких за будовою та властивостями. Без цього неможливе проведення хімічних, фізико-хімічних, біохімічних і медичних досліджень, на цьому значною мірою базуються криміналістична експертиза, екологічні методи аналізу довкілля, а також хімічна, нафтова, газова, харчова, медична та багато інших галузей народного господарства.

Хроматографічні методи посідають особливе місце серед ефективних методів аналітичного аналізу, оскільки найбільш широко використовуються завдяки своїй універсальності – дозволяють провести аналіз складних неорганічних та органічних речовин, що перебувають у газовому, рідкому і навіть твердому агрегатному стані.

Хроматографічні методи аналізу ґрунтуються на різноманітних фізичних і хімічних процесах, які дають змогу розв'язувати складні аналітичні задачі розділення та наступного визначення малих концентрацій близьких за хімічними властивостями речовин.

Більшість методів аналізу є методами визначення, які ґрунтуються на проведенні специфічних або селективних хімічних реакцій чи на визначенні специфічних властивостей речовин. Ці методи не завжди дають можливість провести якісний та кількісний аналіз складних сумішей. Наприклад, бензинові фракції, які википають в межах 10 °C складаються з десятків вуглеводнів різних класів та їх ізомерів і мало відрізняються за хімічними властивостями. Тому в аналізі складних сумішей виключне значення мають методи розділення або виділення окремих компонентів.

Розділення багатокомпонентних сумішей можна здійснювати різними процесами хімічної технології. Розділення суміші не викликає особливих труднощів, якщо її компоненти знаходяться в різних фазах. Воно суттєво

ускладнюється, якщо компоненти суміші утворюють одну фазу. В цьому випадку необхідно змінювати агрегатний стан окремих компонентів (наприклад, домогтися випадання їх в осад), або застосовувати хімічні чи фізичні методи розділення. В основі останніх лежать кінетичні явища або фазові рівноваги.

Такі широко відомі методи розділення багатокомпонентних сумішей як дистиляція, кристалізація, екстракція і адсорбція ґруновані на зміні фазових рівноваг. В цих процесах молекули речовин, які утворюють однофазову суміш, в певній системі з різних фаз переходять через границю розподілу, прагнучи до такої рівноваги між цими фазами, при якій в кожній з них встановлюється постійна рівноважна концентрація. Якщо властивості компонентів суміші подібні, то достатнє розділення досягається тільки багаторазовим повторенням елементарного акту розподілу.

Більш повного розподілу можна досягти, якщо багаторазове встановлення фазових рівноваг поєднати з дією кінетичного фактора, зокрема якщо розділення суміші проводити в системах, в яких одна фаза (рухома) переміщується відносно другої (нерухомої). Рухома і нерухома фаза такої системи повинна володіти великою поверхнею дотикання та відносно невеликою товщиною взаємодіючого шару через наявність дифузійних процесів, які знижують ефективність розділення.

Ці вимоги виконуються в **хроматографічному методі розділення суміші речовин**, який знайшов широке застосування в аналітичній практиці.

Метою цього посібника є ознайомлення студентів з окремими положеннями теорії і практики хроматографічного аналізу, які безпосередньо використовуються для розробки методик розділення, ідентифікації та кількісного визначення близьких за властивостями речовин, формування уявлення про класичні та найбільш уживані сучасні методи хроматографії.

# 1. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ОСНОВИ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО ПРОЦЕСУ

## 1.1. Суть хроматографічного методу

Хроматографія поєднує в собі як способи концентрування і розділення, так і способи ідентифікації та кількісного визначення різноманітних речовин. Засновником методу справедливо вважається Михайло Семенович Цвет – російський ботанік, який свого часу займався проблемою розділення рослинного пігменту хлорофілу на складові частини. Назву "хроматографія" також запропонував Михайло Семенович Цвет.

У 1903 році М.С. Цвет опублікував в працях Варшавського товариства природодослідників статтю, в якій показав можливість розділення пігментів зелених листків за допомогою адсорбентів. Він пропускав через скляну колонку, заповнену дрібно розмеленим карбонатом кальцію, розчин хлорофілу і виявив, що в міру просування розчину по довжині колонки, шар розчину розділяється на декілька шарів з різним забарвленням (жовтим, зеленим, червоним,...). Цей метод Цвет назвав *хроматографією* (від грецьких слів "хромато" – "колір", "фарба" і "графо" – "писати"), хоч причиною розділення була різна сорбційна здатність окремих пігментів відносно карбонату кальцію. Таким шляхом можна проводити розділення і безбарвних сполук.

Розділення компонентів суміші на хроматографічній колонці зумовлене їх різним *утримуванням* у нерухомій фазі. Якщо як нерухому фазу взяти подрібнений сорбент – речовину, яка поглинає компоненти суміші, і наповнити ним скляну чи металічну трубку, а просування рухомої фази (рідини чи газу) здійснювати за рахунок різниці тиску на кінцях цієї трубки, то ця трубка буде представляти собою *хроматографічну колонку*.

*Нерухома фаза* – це твердий адсорбент із розвиненою поверхнею або плівка рідини, адсорбційно закріплена на твердому носії; *рухома фаза* – потік газу або рідини, який проходить (фільтрується) крізь шар сорбенту.



*Функція нерухомої фази* – сорбувати, утримувати речовини, *функція рухомої фази* – розчиняти в собі речовини і переміщувати їх. Неоднаковий розподіл компонентів суміші між фазами створює умови, необхідні для їх розділення та подальшого визначення.

Суміш для розділення разом з потоком рухомої фази потрапляє в хроматографічну колонку. При контакті з поверхнею нерухомої фази кожен із компонентів розподіляється між нерухоною і рухоною фазами в залежності від своїх властивостей, наприклад, здатності до адсорбції. Через неперервність просування рухомої фази лише частина компонента вступає у взаємодію з нерухоною фазою, інша ж частина рухається далі і вступає у взаємодію вже з іншою ділянкою поверхні нерухомої фази. Поглинені поверхнею нерухомої фази компоненти суміші не просуватимуться далі з рухоною фазою доти, поки не десорбуються. Тому кожному з них для проходження всієї довжини колонки необхідно більше часу, ніж для молекул рухомої фази. Середня швидкість просування молекул різних компонентів суміші вздовж колонки різна, і ця різниця при достатній довжині колонки може привести до повного розділення суміші на складові компоненти.

*Отже*, розділення речовин при промиванні колонки рухоною фазою відбувається внаслідок неоднакової швидкості їх руху вздовж шару твердого чи рідкого сорбенту. Неоднакова швидкість руху окремих речовин зумовлена різними величинами їхніх коефіцієнтів розподілу. Специфічність процесу хроматографічного розділення суміші полягає в багаторазовому повторенні актів сорбції і десорбції, розчинення і виділення компонентів рухомої фази при її русі вздовж нерухомої.

У подальшому для розділення сумішей стали використовувати також відмінності в іоннобмінних властивостях, в розчинності осадів, різницю в міграційних властивостях компонентів.

Суть хроматографічного методу можна сформулювати так: *хроматографія* – це метод розділення та аналізу рідких або газуватих сумішей

речовин, який ґрунтується на відмінності розподілу компонентів між двома фазами, що не змішуються і рухаються одна відносно одної.

Хроматографічні методи аналізу знайшли дуже широке застосування за останні 50 років. За розробку теорії і практики хроматографії англійським хімікам Мартіну і Сінджу в 1952 році була присвоєна Нобелівська премія в галузі хімії.

За допомогою хроматографічного методу можна провести:

- якісний і кількісний аналіз досліджуваної речовини;
- концентрування речовин з дуже розбавлених розчинів;
- розділення складних сумішей органічних і неорганічних речовин на окремі компоненти; розділення і виділення рослинних і тваринних пігментів, ізотопів, рідкоземельних елементів та інших речовин;
- очищення речовин від домішок;
- визначення молекулярної структури деяких сполук шляхом встановлення зв'язку між здатністю до сорбції і будовою даної речовини.

## 1.2. Класифікація хроматографічних методів аналізу

Існує багато варіантів здійснення хроматографічного аналізу, які класифікуються за такими основними характеристиками:

**I. За агрегатним станом нерухомої та рухомої фаз:** сорбент (нерухома фаза) може бути твердою речовиною або рідиною, що сорбована на твердому носії; рухома фаза може бути рідиною або газом; сорбати можуть перебувати у рідкому, газуватому або пароподібному стані:

рухома фаза	нерухома фаза	назва хроматографії
газ	тверда	газоадсорбційна
газ	рідка (рідина розподілена	газоабсорбційна,

	тонким шаром по поверхні твердого носія)	газорідинно- розподільна
рідина	тверда	рідинна адсорбційна
рідина	рідка	рідинно-розподільна

**II. За апаратним оформленням або способом проведення хроматографічного процесу:** колонкова (в колонці або капілярі) і площинна (на папері або в тонкому шарі сорбенту) хроматографія.

**1. Колонкова** – наприклад, нерухомою фазою у вигляді гранул діаметром 0,1-0,5 мм заповнюють трубку діаметром 2-6 мм і довжиною декілька метрів (набивна колонка). Якщо нерухома фаза – рідина, вона наноситься на поверхню і в пори гранул інертного носія. Варіантом колонкової хроматографії є **капілярна**, коли рідка фаза наноситься на внутрішню стінку капіляра діаметром 0,1-0,5 мм і довжиною до 100 і більше метрів.

**2. Площинна** – використовується при рідкій нерухомій фазі:

**а) тонкошарова** – скляна або алюмінієва пластина, покрита тонким шаром носія, утримує нерухому фазу – розчинник;

**б) паперова** – нерухома фаза – спеціальний хроматографічний папір (типу фільтрувального), просочений відповідними реактивами.

У площинній хроматографії рух рухомої рідкої фази здійснюється завдяки капілярним силам.

**III. За природою сил міжфазової взаємодії сорбенту та сорбованих речовин (сорбатів),** що зумовлює розподіл молекул або іонів між фазами, хроматографію поділяють на два основні види – молекулярну та іонообмінну.

Розрізняють такі *механізми розділення*: адсорбційний, розподільний, іонообмінний (ґрунтується на протіканні реакції обміну йонів між рухомою і нерухомою фазами), осадовий (ґрунтується на утворенні малорозчинних сполук компонентів рухомої фази з речовинами, які входять до складу нерухомої фази), міграційний (ґрунтується на різній затримці речовин рухомої

фази в порах нерухомої фази, куди вони потрапляють за рахунок броунівського руху (міграції)), адсорбційно-комплексуютьвальний. У всіх цих випадках, незалежно від механізму розділення, речовина розподіляється між двома фазами. Речовини з різними властивостями по-різному розподіляються між рухомою і нерухомою фазами.

З урахуванням агрегатного стану фаз, а також техніки виконання аналізу до *молекулярної* хроматографії належать такі основні різновиди колонкової та капілярної хроматографії (у дужках зазначено агрегатні стани нерухомої і рухомої фаз):

- рідинна адсорбційна (тверда-рідка);
- рідинно-розподільна або екстракційна (рідка-рідка);
- афінна (тверда-рідка);
- молекулярно-ситова або гель-хроматографія (рідка-рідка);
- газоадсорбційна (тверда-газувата),
- газорідинна (рідка-газувата);
- площинна (планарна) на папері (рідка-рідка);
- хроматографія в тонкому шарі сорбенту (тверда-рідка або рідка-рідка).

*Іонообмінну* хроматографію поділяють на такі основні різновиди колонкової, капілярної та планарної хроматографії:

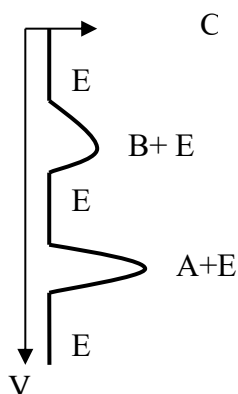
- іонообмінна, іонна (фази тверда-рідка або рідка-рідка);
- осадова (тверда-рідка);
- адсорбційно-комплексуютьвальна (тверда-рідка).

У деяких випадках розділення речовин може відбуватися за декількома одночасно діючими механізмами.

#### **IV. За методикою проведення аналізу:**

**1. Проявна (елюентна)** хроматографія – в безперервний потік рухомої фази, яка практично не сорбується (елюента), вноситься порція об'єкту аналізу. Елюент захоплює частину компонентів об'єкту аналізу, яка знаходиться в рівновазі між ним і нерухомою фазою, і просуває їх вздовж нерухомої фази з

різними для кожного компонента швидкостями. Зона речовини, яка краще сорбується, постійно відстає від зони речовини з гіршою сорбцією, і при достатній довжині колонки суміш розділяється. На виході з колонки збирають компоненти в порядку зростання їх здатності до сорбції. Зміну концентрації речовин, що розділяються, по виходу з колонки фіксують у вигляді безперервної кривої – хроматограми (рис.1). Звичайно по осі абсцис відкладають об'єм газу-носія  $V$  (елюента), що проходить через колонку, а по осі ординат – зміну концентрації компонента  $C$ , що хроматографується, після виходу його з колонки. Такий спосіб розділення використовують переважно в молекулярній рідинній та газовій хроматографії під час аналізу органічних речовин, і він дозволяє практично повністю розділити суміш на складові компоненти. Він є найбільш уживаним у вискоєфективній хроматографії і єдиним способом кількісного аналізу.



**Рис. 1.** Хроматограма в проявній хроматографії:  $E$  – елюент,  $B$  – речовина з гіршою здатністю до адсорбції,  $A$  – речовина з кращою здатністю до адсорбції.

**2. Фронтальна** – крізь колонку безперервно пропускають об'єкт аналізу, який сам є рухомою фазою, і вимірюють концентрацію кожного компонента на виході з колонки. Сорбент насичується компонентами суміші з кращою здатністю до сорбції, а компонент з гіршою здатністю до сорбції рухається попереду інших вздовж шару сорбента і покидає колонку в чистому вигляді. Отже, крізь колонку спочатку проходить речовина, яка сорбується найгірше, а



потім її суміш з речовиною, що сорбується краще, і т.д. Цей метод дозволяє виділити з суміші тільки одну, найменш здатну до сорбції речовину, тому для розділення речовин він малоприматний. Проте метод є ефективним для виділення чистої речовини із технічного продукту за умови її найменшої здатності до сорбції або накопичення окремих речовин із дуже розбавлених розчинів за допомогою спеціальних сорбентів. Фронтальний аналіз застосовують, зокрема, для очищення води йонообмінними адсорбентами та очищення повітря активованим вугіллям в протигазах.

**3. Витіснювальна** – в нерухому фазу вноситься порція об'єкту аналізу. Ця порція витискається через шар нерухомої фази потоком речовини-витіснювача, який сорбується сильніше, ніж компоненти об'єкту аналізу. Компоненти суміші рухаються попереду фронту витіснювача до виходу з колонки з однаковою швидкістю, розділившись на зони, що дотикаються між собою, у відповідності зі здатністю до сорбції. Використання цього методу ускладнюється важкістю вибору необхідної концентрації речовини-витіснювача, взаємною дифузією на межі зон, яка перешкоджає отриманню на виході з колонки достатньо чистих компонентів, і тривалістю процесу розділення. При вдалому виборі витіснювача з колонки можна витіснити тільки одну речовину, яка сорбується найгірше. Цей метод використовується в основному при визначенні мікродомішок.

**V. Залежно від мети проведення** хроматографічного процесу розрізняють *аналітичну* і *препаративну* хроматографію. *Аналітичну* хроматографію використовують для визначення якісного та кількісного складу зразка. Зазвичай для цього відбирають малу кількість зразка (до 10 мг). Часто для отримання інформації не є обов'язковим повне розділення компонентів зразка, що визначається. Можна використовувати такі форми детектування, за яких відбувається руйнування досліджуваних речовин. Після розділення компоненти суміші не потрібні, тому їх викидають або знищують. Відповідно до малих кількостей зразка в аналітичній хроматографії використовують

колонки малих розмірів (малого діаметра). *Препаративна хроматографія* – це процес виділення речовин із суміші у чистому вигляді в лабораторних умовах або у виробничих процесах з метою їх подальшого використання. Працюють з великою кількістю зразка (понад 10 мг, може бути більше 1 кг). Оскільки речовини розділяють для подальшого використання, не можна застосовувати деструктивні способи детектування. Колонки більші, ніж в аналітичній хроматографії.

**VI. За ефективністю** хроматографічного розділення, розрізняють *класичну* та *високоєфективну* (під тиском) *хроматографію*. У випадку класичної хроматографії, тобто подібного до запропонованого М.С.Цветом варіанта, пробу вводять у колонку вручну, далі пропускають рухома фазу, яка проходить крізь сорбент під дією сили тяжіння та капілярних сил. На виході з колонки елюат збирають окремими порціями певного об'єму й аналізують у так званому режимі *off-line* (фракційний метод аналізу). У разі високоєфективної хроматографії колонку малого внутрішнього діаметру заповнюють дрібнодисперсним сорбентом щільно, так що рухома фаза не може рухатись вздовж колонки за атмосферного тиску. Тому для протікання як проби, так і рухомої фази потрібно прикласти тиск, тобто підключити насос. Оскільки під тиском рухома фаза просувається досить швидко, то проводити аналіз у режимі *off-line* недоцільно. На виході з колонки приєднують детектор, в якому безперервно вимірюється певний параметр елюату, що прямо пропорційний концентрації досліджуваного компонента. Це так званий режим *in-line*. На сучасному етапі розвитку хроматографічних методів класичну хроматографію більше використовують із препаративною метою. Високоєфективну хроматографію застосовують для якісного і кількісного аналізу.

Найширше застосування для аналізу органічних речовин дістала газова хроматографія (газоадсорбційна і газорідинно-розподільна, колонкова, проявного типу). За її допомогою виконується біля 50 % всіх

хроматографічних аналізів. Поняття газової хроматографії об'єднує всі варіанти, в яких рухомою фазою є гази або речовини в паровому стані.

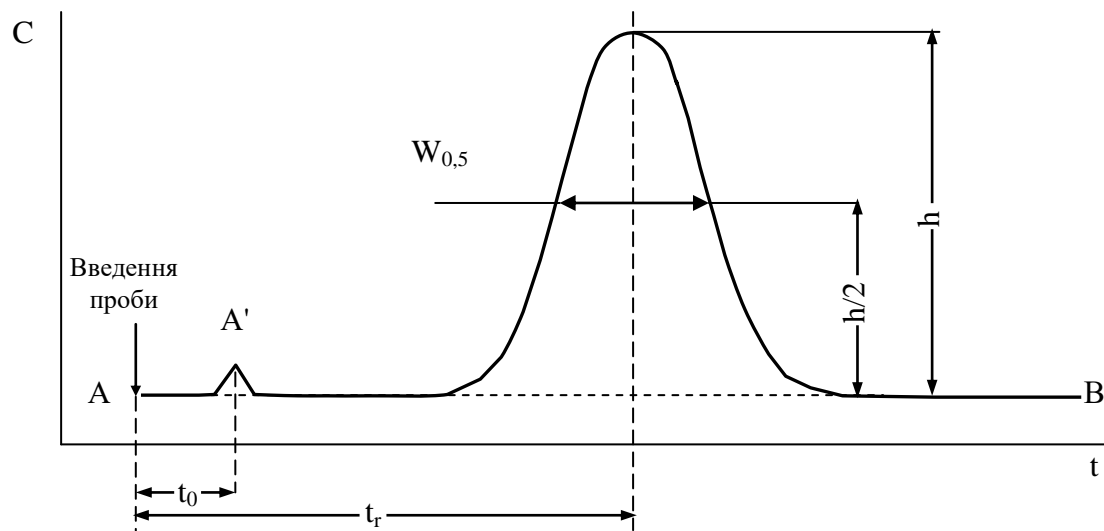
### 1.3. Хроматограма та її характеристики

У сучасній хроматографії хроматограма – це графік залежності величини аналітичного сигналу (чи концентрації речовини/речовин) від часу проведення аналізу або об'єму рухомої фази. Хроматограма може містити одну і більше кривих елюювання окремих компонентів (залежно від складу суміші). Криві елюювання ще називають *хроматографічними піками*. Хроматограма є **аналітичним сигналом** у хроматографічних елюентних методах аналізу. Газові хроматографи дають можливість фіксувати сигнал на виході з колонки на рухомій паперовій стрічці (діаграмі).

На рис.2 зображено криву елюювання одного компонента. При відсутності проби через колонку проходить тільки газ-носіє і реєстратор настроюється таким чином, що перо самописця виписує пряму лінію АВ, паралельну краю діаграми. Ця пряма називається *базовою лінією*.

Після введення в деякий момент часу А у колонку за допомогою дозатора порції аналізованої суміші, вона проходить крізь шар нерухомої фази. Якщо компоненти суміші мають різні сорбційні властивості, вони просуваються вздовж колонки з різними швидкостями і через деякий час з колонки будуть виходити бінарні суміші газу-носія з розділеними компонентами суміші. Зміна складу газу викличе відхилення пера самописця від базової лінії, і вихід компонентів буде зафіксовано у вигляді хроматографічних піків (рис.2).

*Система координат* для хроматограми така: по осі абсцис відкладають в основному об'єм газу-носія, що проходить через колонку, або при постійній його швидкості – час дослідження, пропорційний об'єму газу; по осі ординат – зміну концентрації компонента, що хроматографується по виходу його з колонки.



**Рис.2.** Хроматограма та її характеристики.

Основні параметри хроматограми (*елюційні характеристики*) – об'єм утримування і час утримування, є якісними характеристиками речовин, що хроматографуються, і використовуються для ідентифікації компонентів в складній суміші. Якісний аналіз оснований на вимірюванні цих величин, скільки параметри утримування хроматографічних піків не залежать від концентрації компонентів.

Так як колонка має незаповнений адсорбентом простір, то для точного визначення часу і об'єму утримування компонента суміші необхідно враховувати час і об'єм утримування газу-носія. Для цього в пробу спеціально додається речовина, яка не має здатності сорбуватися в нерухому фазу – інертний компонент, наприклад, коли газом-носієм є азот, то додають гелій.

### 1. Параметри утримування інертного компонента.

а) *час утримування інертного компонента  $t_0$*  – час, який інертний компонент проходить від моменту введення проби до виходу. В цьому випадку речовина рухається із швидкістю газу-носія, проходить і займає вільний об'єм колонки  $V_0$  – об'єм колонки, не заповнений адсорбентом:

$$t_0 = V_0/\omega, \quad (1.1.)$$

де  $V_0$  – вільний об'єм колонки,  $\text{см}^3$ ;

$\omega$  – об'ємна швидкість газу-носія,  $\text{см}^3/\text{с}$ .

На хроматограмі цій величині відповідає відрізок AA'.

б) об'єм утримування інертного компонента  $V_0$ :

$$V_0 = t_0 \omega. \quad (1.2.)$$

Зазвичай вільний об'єм колонки розраховують за цією формулою, експериментально вимірявши  $\omega$  та  $t_0$ . Величину  $\omega$  вимірюють пінним вимірювачем швидкості, встановленим на виході газу з колонки. Час утримування ( $t_0$ ) вимірюють секундоміром від моменту введення проби до виходу максимуму концентрації інертного компонента. Час утримування зручно розраховувати за відстанню утримування  $l$  в мм (AA'), виміряною на діаграмі від моменту введення проби до максимуму піка, і швидкістю руху стрічки самописця  $U$  в мм/с:

$$t_0 = l/U. \quad (1.3.)$$

## 2. Параметри утримування компонента суміші.

а) час утримування компонента  $t_r$  – час, який проходить від моменту введення проби до виходу на хроматограмі максимуму концентрації компонента. В цьому випадку речовина повинна пройти не тільки вільний об'єм колонки, але і частину об'єму нерухомої фази, в якій вона сорбується. Цей об'єм пропорційний об'єму нерухомої фази і коефіцієнту Генрі компонента

$$t_r = \frac{V_0 + V_a \cdot \Gamma}{\omega}, \quad (1.4)$$

де  $V_a$  – об'єм сорбента, см<sup>3</sup>;

$\Gamma$  – коефіцієнт Генрі компонента.

Величина  $t_r$  залежить від конструктивних особливостей хроматографічної колонки. Для виключення цієї залежності розраховують виправлений час утримування  $t'_r$ :

$$t'_r = t_r - t_0. \quad (1.5)$$

б) об'єм утримування компонента  $V_r$  – об'єм газу-носія, який проходить через колонку від моменту введення проби до виходу на хроматограмі максимуму концентрації компонента:



$$V_r = V_0 + V_a \Gamma = t_r \omega . \quad (1.6)$$

Величина об'єму утримування компонента  $V_r$  залежить від здатності до сорбції речовини, що аналізується, і служить її характеристикою. Однак у величину  $V_r$  слід ввести поправку, адже  $V_r$  залежить від вільного об'єму колонки  $V_0$ , тому виправлений об'єм утримування:

$$V'_r = V_r - V_0 = V_a \cdot \Gamma \quad (1.7)$$

в) *питомий виправлений об'єм утримування*  $V_{num}$  – виправлений об'єм утримування, приведений до 0 °С і віднесений до одиниці маси сорбента для виключення впливу на величину виправленого об'єму утримування геометричних розмірів колонки:

$$V_{num} = \frac{V'_r}{m} \cdot \frac{273,16}{T_k} = \frac{V_a \cdot \Gamma}{m} \cdot \frac{273,16}{T_k} = \frac{\Gamma}{\rho} \cdot \frac{273,16}{T_k}, \quad (1.8)$$

де  $m$  – маса сорбента,

$\rho$  – густина сорбента,

$T_k$  – температура колонки.

$V_{num.} \approx \Gamma$ , тобто коефіцієнт Генрі характеризує величину утримання сорбата одиницею об'єму нерухомої фази. Тому величина  $V_{num.}$  – фізико-хімічна константа, яка залежить тільки від властивостей речовини, сорбента і температури та не залежить від концентрації речовини і маси сорбента.

На виході з колонки розподіл концентрації речовини змінюється тільки за масштабом, але не за формою: максимальна концентрація зменшується в  $\Gamma$  раз і хроматографічна зона внаслідок її десорбції розширюється в  $\Gamma$  раз. Розподіл речовини на виході з колонки, а відповідно, і хроматограма можуть бути описані рівнянням:

$$C = C_{max} \cdot e^{-\frac{x^2}{4Dt}}, \quad (1.9)$$

де  $x$  – абсциса, яка визначає положення концентрації  $C$  по відношенню до центру зони,

$C_{max}$  – максимальна концентрація в зоні, яка відповідає  $x=0$ ,

$t$  – час від моменту введення проби,  
 $D$  – коефіцієнт молекулярної дифузії.

#### 1.4. Розмір хроматографічного піка

Для кількісного хроматографічного аналізу важливо знайти площу хроматографічних піків компонентів суміші, так як площа під піками пропорційна масі компонента в суміші (при використанні концентраційного детектора, тип детектора дуже важливий).

Для концентраційного детектора, який реєструє зміну концентрації речовини на виході з колонки, сигнал детектора (відхилення показника самописця від рівня базової лінії) пропорційний концентрації компонента в суміші з газом-носієм:

$$I = \varphi \cdot C, \quad (1.10)$$

де  $\varphi$  – коефіцієнт пропорційності, який характеризує чутливість детектора,  
 $C$  – концентрація.

Оскільки  $C = \frac{dm}{dV}$ , а об'ємна швидкість газу-носія  $\omega = \frac{dV}{dt}$  ( $V$  – об'єм суміші компоненту з газом-носієм), то для елементарного об'єму, який виходить з колонки, можна записати:

$$dm = C \cdot dV = C \cdot dt \cdot \omega \quad (1.11)$$

або

$$dm = \frac{I}{\varphi} \cdot \omega \cdot dt, \quad (1.12)$$

де  $m$  – маса компонента.

Маса компонента аналізованої суміші, який виходить з колонки за час  $t_2$  і  $t_1$  при постійній об'ємній швидкості  $\omega$ :

$$m = \int_{t_1}^{t_2} \frac{I \cdot \omega}{\varphi} dt = \frac{\omega}{\varphi} \int_{t_1}^{t_2} I dt \quad (1.13)$$

Щоб визначити  $m$ , треба знайти площу піка.

Так як  $I=h \cdot C_1$  ( $C_1$  – чутливість самописця, мВ/см,  $h$  – висота піка);  $t=l/U$ ,  $dt=dl/U$  ( $U$  – швидкість руху стрічки самописця, мм/с)

$$\int_{t_1}^{t_2} I dt = \frac{C_1}{U} \int_{l_1}^{l_2} h dl \quad (1.14)$$

$$\int_{l_1}^{l_2} h dl = S \quad (1.15)$$

де  $l_1$  і  $l_2$  – відстані утримування, які відповідають початку і закінченню виходу піка речовини,

$S$  – площа хроматографічного піка (площа фігури, обмеженої лінією піку і продовженням базової лінії, визначається як добуток висоти піка на його ширину, виміряну на половині висоти).

$$m = \frac{\omega \cdot C_1}{\varphi \cdot U} \cdot S \quad (1.16)$$

Таким чином, при незмінних величинах  $\omega$  і  $U$  *площа хроматографічного піка пропорційна масі речовини*, введеної з пробойою в хроматограф, є кількісною характеристикою хроматограми і використовується для кількісного аналізу. Якщо пропорційності між масою речовини і площею піку немає, то визначення концентрації по площі неправильне.

### Контрольні запитання

1. Хто і коли запропонував хроматографічний аналіз?
2. У чому полягає суть хроматографічного аналізу?
3. В якому агрегатному стані можуть перебувати нерухома й рухома фази, а також компоненти суміші, що аналізується?
4. За якими принципами класифікують хроматографічні методи?
5. Які різновиди хроматографічного аналізу належать до молекулярної хроматографії?

6. Які різновиди хроматографічного аналізу об'єднує іонообмінна хроматографія?
7. Назвіть основні етапи хроматографічного аналізу.
8. Які задачі вирішуються за допомогою хроматографічних методів?
9. Поясніть відмінність між аналітичною і препаративною хроматографією.
10. У чому полягає відмінність між класичною і високоефективною хроматографією?
11. Назвіть основні елюційні характеристики хроматографічного піку.

## 2. МОЛЕКУЛЯРНА ХРОМАТОГРАФІЯ

До методів розділення, які ґрунтуються на розподілі молекул речовин між рухомою й нерухомою фазами, належать усі різновиди адсорбційної та розподільної хроматографії, а також гель-хроматографія. Незважаючи на різний механізм взаємодії молекул речовин із сорбентом у цих методах, процес хроматографічного розділення можна характеризувати одними й тими самими параметрами.

### 2.1. Сорбція та розподіл молекул між фазами

**2.1.1. Сили міжмолекулярної взаємодії.** Розділення компонентів суміші на хроматографічній колонці зумовлене їх *різним утримуванням* у нерухомій фазі. Молекули утримуються в результаті дії міжмолекулярних сил притягання або так званих сил Ван-дер-Ваальса, які мають електростатичну природу та виникають між сорбентом і сорбатом. Речовину, яка поглинає (сорбує) компоненти, називають *сорбентом*, а яка поглинається з газової або рідкої фази – *сорбатом*. Сорбент у хроматографії використовується як нерухома фаза.

Енергія взаємодії між молекулами сорбату та частинками сорбенту складається з енергій орієнтаційних, індукційних і дисперсійних сил. У

багатьох випадках сорбція зумовлена також силами специфічної взаємодії – виникненням водневого або донорно-акцепторного зв'язку.

*Орієнтаційна* взаємодія виникає між полярними молекулами, які мають сталий дипольний момент. Взаємодія двох таких диполів зумовлює взаємне притягання молекул. Наприклад, у разі адсорбції полярних молекул хлористого метилу на полярному сорбенті – кремнеземі, вагомий внесок у міжмолекулярну взаємодію роблять орієнтаційні сили.

*Індукційна* взаємодія має місце між полярною і неполярною молекулами. При їх зближенні в неполярній молекулі виникає так званий індукційний диполь і в результаті відбувається взаємодія між індукційним і сталим диполями, що призводить до взаємного електростатичного притягання молекул. Така взаємодія відбувається, наприклад, при адсорбції неполярних молекул алканів на полярному сорбенті – оксиді алюмінію.

*Дисперсійна* взаємодія виникає між різними молекулами, незалежно від їх полярності. Однак більш вагомий внесок в енергію міжмолекулярної взаємодії сили дисперсії роблять у разі взаємного притягання неполярних молекул. Дисперсійна взаємодія зумовлена міграцією електронної густини в атомі (молекулі) внаслідок безперервного руху електронів. Тому навіть у неполярних молекулах, які за своєю будовою є також системою заряджених частинок – протонів та електронів, виникають короточасні миттєві дипольні моменти. Електростатична взаємодія таких диполів спричинює міжатомне (міжмолекулярне) притягання, наприклад, у разі адсорбції неполярних молекул хлору на неполярному вуглецевому адсорбенті.

*Водневий* зв'язок виникає при взаємодії електропозитивних атомів водню, наприклад, тих, що входять до складу гідроксильної групи, з електронегативними атомами, в основному азоту, кисню та фтору. Водневий зв'язок у міжфазовій взаємодії сорбент-сорбат може утворюватись зокрема тоді, коли сорбентом є речовина, на поверхні якої знаходяться хімічно зв'язані гідроксильні групи, а до складу молекул сорбату входять електронодонорні



атоми. Наприклад, метанол, піридин та інші електронодонорні молекули добре сорбуються на поверхні гідратованого кремнезему, який містить зв'язані гідроксильні групи.

*Донорно-акцепторний* (координаційний) зв'язок виникає між атомами, один з яких має вільну електронну пару, наприклад, атом кисню в молекулі води або атом азоту в молекулі ацетонітрилу, а другий – вільні атомні орбіталі, наприклад, d-орбіталі силіцію в кремнеземі. Виникнення донорно-акцепторного зв'язку зумовлене передачею електронної пари із заповненої орбіталі одного атома (донора) на вакантну орбіталь іншого (акцептора) з утворенням спільної зв'язувальної орбіталі. Особливо сприятливі умови для виникнення донорно-акцепторних зв'язків створюються при адсорбції іонів d-елементів на адсорбентах з іммобілізованими або хімічно закріпленими на їх поверхні органічними реагентами, до складу яких входять електронодонорні атоми.

Згідно теорії Ленгмюра на поверхні адсорбента знаходиться силове поле, яке здатне притягувати молекули іншої речовини і утворювати мономолекулярний шар адсорбованих молекул. Утримання поверхневих атомів чи молекул здійснюється або фізичними вандерваальсовими силами міжмолекулярної взаємодії або хімічними – утворенням поверхневих сполук. Між поверхнею адсорбента і середовищем встановлюється рухома адсорбційна рівновага, яка визначається рівністю швидкостей адсорбції і десорбції молекул.

**2.1.2. Адсорбція.** *Адсорбція* – це процес поглинання молекул із газового або рідкого середовища *поверхнею (зовнішньою і внутрішньою) твердої речовини.*

Речовину, на поверхні якої відбувається концентрування іншої речовини, називають *адсорбентом*, а яка вилучається з газової або рідкої фази і утримується на поверхні – *адсорбатом*.

Адсорбція відбувається в результаті дії міжмолекулярних сил притягання. Взаємодія за рахунок слабких сил Ван-дер-Ваальса та водневого зв'язку

призводить до *фізичної адсорбції*, яка не впливає на стан поверхні адсорбенту. В разі фізичної адсорбції речовини елюються придатною рухомою фазою без їх руйнування. Якщо під час адсорбції на поверхні утворюються поверхневі хімічні сполуки, які за властивостями відрізняються від аналогічних об'ємних сполук, то адсорбцію називають *хімічною*. Елюювання в цьому разі може призвести до руйнування початкових сполук.

Слід зазначити, що взаємодія між адсорбентом та адсорбатом має переважно кооперативний характер і найвагоміший внесок різних сил адсорбції в загальний процес розподілу речовин між фазами залежить від хімічної природи взаємодіючих компонентів адсорбційної системи.

Адсорбція речовин при досягненні стану міжфазової рівноваги залежить від:

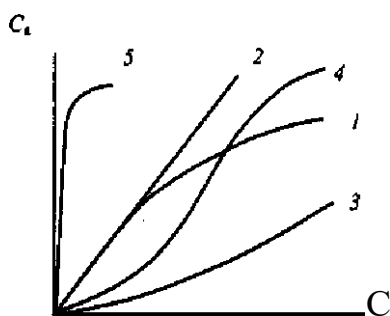
- температури;
- хімічної природи (спорідненості до сорбенту) і концентрації або тиску газу адсорбату;
- хімічної природи, структури та площі поверхні адсорбенту.

Як правило, адсорбція – процес екзотермічний, тому з підвищенням температури величина адсорбції зменшується. Чим більша площа поверхні адсорбенту, а також концентрація адсорбату, тим більша величина адсорбції. Отже, змінювати час утримування речовини у колонці можна, змінюючи температуру і пористість адсорбенту.

Проявлення спорідненості до сорбенту особливо помітне при адсорбції кількох речовин, оскільки можливим є витіснення одних сорбованих речовин іншими, які мають більшу спорідненість, хоча, можливо, й меншу концентрацію.

**2.1.3. Ізотерма адсорбції.** Для адсорбента певної маси кількість адсорбованої речовини залежить від концентрації (чи парціального тиску) речовини, що адсорбується. Чим вища концентрація чи парціальний тиск

речовини, тим більше її адсорбується. Залежність кількості речовини, адсорбованої з газуватої або рідкої фази ( $C_a$ ), від її концентрації в розчині ( $C$ ) у стані рівноваги за сталої температури називають *ізотермою адсорбції*. Загальне рівняння, що описує ізотерму, таке:  $C_a=f(C)$ . Основні типи ізотерм адсорбції наведено на рис. 3.



**Рис. 3.** Основні типи ізотерм адсорбції: 1– випукла, ізотерма Ленгмюра (1 –тип); 2 – ізотерма Генрі (прямолінійна); 3 – увігнута, ізотерма Фрейндліха; 4 – s-подібна; 5 – Н-тип (хемосорбція)

В ідеальному випадку (при малих парціальних тисках і відсутності взаємодії між компонентами суміші) ізотерма адсорбції має лінійну форму й описується рівнянням  $C_a=DC$ , де  $D$  – *коефіцієнт розподілу* речовини, за допомогою якого можна кількісно описати ступінь розподілу речовини між двома фазами у стані рівноваги. Коефіцієнт розподілу знаходять у статичних умовах і обчислюють за формулою:

$$D = C_a/C \quad (2.1)$$

де  $C_a$  – кількість речовини у твердій нерухомій фазі у стані рівноваги, моль/кг (ммоль/г);  $C$  – концентрація речовини у рухомій фазі у стані рівноваги, моль/л.

Коефіцієнт розподілу речовини між двома фазами, одна з яких тверда, має розмірність л/кг або мл/г. Він залежить від хімічної природи адсорбенту та адсорбату і від температури.

Однією з найпоширеніших теорій, що пояснює адсорбцію молекул газу на поверхні твердого тіла, є *теорія Ленгмюра*. Відповідно до неї, кожна елементарна частинка поверхні адсорбенту (активний центр) поглинає тільки

одну молекулу адсорбату, внаслідок чого поверхня адсорбенту заповнюється мономолекулярним шаром адсорбату. Адсорбовані молекули через деякий період часу залишають поверхню, тобто десорбуються. Кількість молекул, які адсорбуються (десорбуються) за одиницю часу, віднесена до одиниці поверхні, називають швидкістю адсорбції (десорбції). Швидкість адсорбції зростає зі збільшенням концентрації адсорбату.

У стані адсорбційної рівноваги швидкість адсорбції  $U_{\text{адс.}}$  дорівнює швидкості десорбції  $U_{\text{дес.}}$ :

$$\begin{aligned} U_{\text{адс.}} &= K_1 C(1-\theta), & U_{\text{дес.}} &= K_2 \theta, \\ K_1 C(1-\theta) &= K_2 \theta, \end{aligned} \quad (2.2.)$$

де  $K_1$ ,  $K_2$  – константи швидкості відповідно адсорбції й десорбції;  $C$  – рівноважна концентрація адсорбату, моль/л;  $\theta$  – частка зайнятих молекулами адсорбату центрів адсорбції на поверхні адсорбенту.

Розв'язавши рівняння (2.2) відносно  $\theta$ , отримаємо рівняння ізотерми адсорбції Ленгмюра:

$$\theta = \frac{bC}{1+bC}, \quad (2.3.)$$

де  $b = \frac{K_1}{K_2}$  – константа, що залежить від температури і характеризує взаємодію адсорбату й адсорбенту, або так звану поверхневу активність адсорбенту.

Позначимо максимальне число активних центрів адсорбенту, які можуть бути зайняті молекулами адсорбату, через  $a_\infty$ . Тоді  $C_a = a_\infty \theta$  і рівняння (2.3) перетвориться на рівняння випуклої ізотерми адсорбції, яку зображено на рис. 3 (крива 1):

$$C_a = a_\infty \frac{bC}{1+bC}, \quad (2.4)$$

За малих рівноважних концентрацій адсорбату величина  $C_a$  пропорційна концентрації  $C$ , що відповідає рівнянню ізотерми адсорбції Генрі, яка має лінійний характер (рис. 3, крива 2):

$$C_a = \Gamma \cdot C, \quad (2.5)$$

де  $\Gamma$  – коефіцієнт Генрі (коефіцієнт розподілу).

Коефіцієнт Генрі не залежить від концентрації адсорбату і є сталою величиною за сталої температури. Речовини, які краще адсорбуються на певному адсорбенті, мають більші значення коефіцієнта Генрі.

При збільшенні спорідненості матеріалу сорбента і речовини  $\Gamma$  зростає, а при збільшенні температури – зменшується. Отже, при розділенні суміші речовин першою з колонки елююватиметься речовина, яка має найменший коефіцієнт розподілу, останньою – речовина, яка має найбільший коефіцієнт розподілу.

Хоча рівняння Ленгмюра було отримане теоретично, воно дає змогу за малих концентрацій за лінійною залежністю (2.5) знайти коефіцієнт розподілу, а за високих, коли спостерігається насичення моношару, – *максимальну ємність адсорбента*  $a_\infty$ .

У деяких випадках ізотерми адсорбції мають іншу форму – увігнуту (ізотерма Фрейндліха) або S-подібну (рис. 3, криві 3, 4), що зумовлено утворенням на поверхні адсорбенту полімолекулярного шару адсорбату. Однак за малих концентрацій речовин, які сорбуються, ця ізотерма адсорбції близька до лінійної залежності й сорбційна здатність різних речовин адекватна величині коефіцієнта Генрі. Ізотерми Н-типу (рис. 3, крива 5) характерні для хемосорбції. У цьому разі на поверхні адсорбенту утворюється нова хімічна сполука, наприклад, при сорбції іонів металів на адсорбентах, модифікованих органічними комплексоутворювальними реагентами.

При врахуванні взаємодії між молекулами суміші спостерігається відхилення від лінійності як негативне (крива 2), так і позитивне (крива 3).

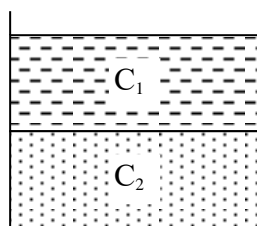
Форма ізотерм адсорбції, їх взаємне розміщення дає уяву про характер розподілу речовин в колонці і дозволяє вибрати умови адсорбційного хроматографічного розділення суміші. На явищі адсорбції ґрунтується промисловий процес адсорбційного розділення речовин.

**2.1.4. Абсорбція.** *Абсорбція (розподіл)* – це процес поглинання речовини з рідкої або газової фази усім об'ємом твердого тіла або рідиною. Речовину, яка поглинає (абсорбує) компоненти, називають *абсорбентом*, а яка поглинається з газової або рідкої фази – *абсорбатом*.

При контакті рідкої фази, яка містить розчинену речовину, з іншою рідкою фазою, що не змішується з першою і в якій цієї речовини немає, відбувається перехід речовини з однієї фази в іншу. Процес розподілу триває доти, доки відношення концентрації речовини в обох фазах не досягне сталої величини, яка залежить від хімічної природи обох фаз (розчинників) та природи речовини, що розподіляється між ними. Відповідно до *закону розподілу Нернста*, за сталої температури у стані рівноваги відношення концентрацій речовини у рідких фазах, які не змішуються між собою, є величиною сталою:

$$\frac{C_2}{C_1} = D = \text{const}, \quad (2.6)$$

де  $C_1$  і  $C_2$  – концентрація речовини у фазах, моль/л;  $D$  – коефіцієнт розподілу (безрозмірна величина).



**Рис. 4.** Розподіл розчиненої речовини між двома рідинами, які не змішуються.

Коефіцієнт розподілу не залежить від концентрації речовини, яка розподіляється між двома рідкими фазами, за умови однакового її молекулярного стану в обох фазах. Не залежить він також від об'ємів контактуючих фаз.

Розподіл розчиненої речовини між рухомою газовою і нерухомою рідкою фазами здійснюється за рахунок процесу розчинення і випаровування газу, що є компонентом аналізованої суміші, рідкою плівкою, розподіленою тонким шаром по поверхні твердого носія – *газорідинно-розподільна хроматографія*.

На цьому явищі ґрунтуються промислові процеси виділення і розділення – *абсорбція і ректифікація*.

Розподіл розчиненої речовини між двома рідкими фазами, які не змішуються між собою – рухомим і нерухомим розчинником, лежить в основі *рідинно-розподільної або екстракційної хроматографії*. Найбільша швидкість руху в колонці спостерігається у компонента суміші з найменшим коефіцієнтом розподілу між розчинниками. На принципі розподілу ґрунтується промисловий процес виділення і розділення компонентів – *екстракція*.

Зіставлення рівнянь (2.5) і (2.6) засвідчує, що коефіцієнти  $\Gamma$  і  $D$  характеризують один і той самий рівноважний стан розподілу речовини між двома фазами, а тому залежність  $C_2=f(C_1)$  аналогічна рівнянню (2.5) лінійної ізотерми адсорбції Генрі.

Утримування речовин у рідкій нерухомій фазі відбувається за рахунок сил міжмолекулярної взаємодії.

### Контрольні запитання і задачі

1. Наведіть визначення понять “адсорбція”, “абсорбція”, “адсорбент”, “адсорбат”, “коефіцієнт розподілу”, “ізотерма адсорбції”.
2. Назвіть основні типи ізотерм адсорбції. Поясніть відмінність між поняттями “адсорбція” і “сорбція”.
3. Як можна впливати на утримування речовин у колонці?
4. В чому відмінність між фізичною і хімічною адсорбцією?
5. Які сили міжмолекулярної взаємодії приводять до взаємного притягання молекул?
6. У чому полягає теорія адсорбції Ленгмюра? Які важливі величини можна визначити за рівнянням Ленгмюра?
7. Який вигляд має ізотерма адсорбції Генрі? Напишіть вираз для коефіцієнта Генрі.

8. Напишіть вираз для коефіцієнта розподілу речовин між двома рідкими фазами, що не змішуються.

9. Які сили міжмолекулярної взаємодії зумовлюють розподіл речовин між двома рідкими фазами?

10. Кількість речовини А, поглинена на 0,5 г адсорбенту, дорівнює  $2,7 \cdot 10^{-2}$  ммоль за її концентрації  $3,8 \cdot 10^{-4}$  моль/л у розчині, що перебуває в рівновазі з адсорбентом. Розрахуйте коефіцієнт Генрі. Відповідь: 142.

11. До 50 мл розчину речовини А з концентрацією  $1,5 \cdot 10^{-4}$  моль/л додали 1,0 г адсорбенту й перемішували до встановлення сорбційної рівноваги, після чого концентрація А в розчині становила  $6 \cdot 10^{-5}$  моль/л. Розрахуйте коефіцієнт Генрі. Відповідь: 75.

12. Концентрація речовини в органічній фазі дорівнює 64,6, а у водній – 15,4 % загальної її концентрації. Розрахуйте коефіцієнт розподілу за однакових об'ємів фаз, якщо сорбентом є органічний розчинник; якщо сорбентом є вода. Відповідь: 5,49; 0,182.

## **2.2. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО РОЗДІЛЕННЯ**

### **2.2.1. Класифікація теорій хроматографічного розділення**

*Метою* хроматографічного процесу є розділення суміші речовин. Теорії хроматографії розглядають поведінку речовини і розподіл її концентрації всередині колонки. Теорія хроматографічного аналізу є підставою для прогнозування оптимальних умов розділення компонентів газової або рідкої суміші.

*Завданням* теорій хроматографічного розділення є встановлення законів руху компонентів аналізованої суміші в хроматографічній колонці і визначення факторів, які впливають на його ефективність.



Для пояснення поведінки розчиненої речовини під час її елюювання існує дві теорії: еквівалентних тарілок та дифузійна, які розглянуто далі. Пояснити розмивання хроматографічних піків можна з позицій лінійності або нелінійності ізотерми адсорбції, швидкості дифузії молекул у нерухомій і рухомій фазах.

Отже, існуючі теорії розглядають процес хроматографії базуючись на:

- 1) характері ізотерми сорбції речовини, що хроматографується;
- 2) швидкості встановлення стану міжфазної рівноваги.

Залежно від *типу ізотерми адсорбції* розрізняють *лінійну та нелінійну хроматографію* (рис. 5). За малих концентрацій речовин, які адсорбуються, усі типи ізотерм адсорбції мають вигляд близький до лінійного. Тому здебільшого процес переміщення речовини вздовж шару сорбенту при елююванні може бути описаний саме з позицій лінійної хроматографії. При цьому вважають, що рівновага розподілу речовини між адсорбентом і рухомою фазою встановлюється миттєво; у таких випадках йдеться про так звану *ідеальну хроматографію*. Однак на практиці адсорбційна рівновага встановлюється не миттєво, а упродовж певного інтервалу часу, що призводить до розмивання хроматографічної смуги (кривої елюювання). Це характерно для так званої *неідеальної хроматографії*. У практиці аналізу найпоширенішою є *лінійна неідеальна хроматографія*, коли розподіл між нерухомою та рухомою фазами описується лінійною ізотермою адсорбції, а рівновага сорбції встановлюється протягом певного періоду часу.

**Теорія лінійної хроматографії** розглядає процеси, в яких розподіл речовини між фазами описується лінійною ізотермою, тобто підпорядковується закону Генрі. Закон Генрі застосовується для розбавлених розчинів при низьких тисках: парціальний тиск компонента реального розчину низьких концентрацій прямопропорційний його мольній частці в рідкій чи твердій фазі:

$$p = x \cdot G, \quad (2.7)$$

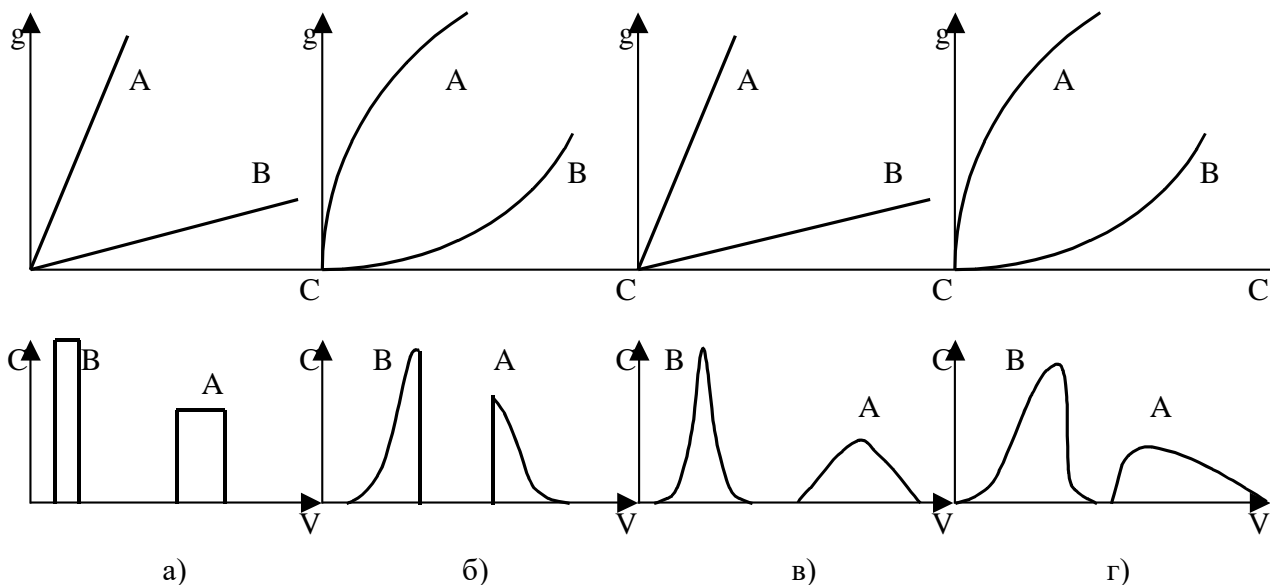
де  $G$  – коефіцієнт Генрі.

Якщо в розчині з близькими за властивостями компонентами не відбувається утворення сполук молекул компонента чи розпаду існуючих асоційованих комплексів, а також немає притягання між молекулами компонентів, тобто утворення розчину не супроводжується значними тепловими ефектами чи змінами об'єму (вони незначні) – залежність парціального тиску від мольної частки компонента суміші є лінійною. Відхилення від лінійності – позитивні чи негативні – пояснюються взаємодіями між молекулами розчину.

**Теорія нелінійної хроматографії** розглядає процеси, в яких розподіл речовини між фазами описується випуклою чи вгнутою ізотермою, тобто не підпорядковується закону Генрі.

**Теорія ідеальної (рівноважної) хроматографії** виходить із припущення, що при русі газової суміші крізь шар нерухомого сорбенту в кожній точці рівноважний розподіл речовини між фазами встановлюється миттєво. Вона не враховує процеси молекулярної дифузії і масообміну з нерухомою фазою. Проте застосування цієї теорії досить важливе, бо дозволяє знайти закони пересування центру хроматографічної зони.

**Теорія неідеальної (нерівноважної) хроматографії** розглядає реально здійснюваний процес, в якому швидкість встановлення міжфазової рівноваги визначена і враховує процеси дифузії і масообміну.



**Рис. 5.** Форми ізоТЕРМИ сорбції і відповідні їм контури зон, що відповідають різним теоріям газової хроматографії:

- а) лінійна ідеальна хроматографія;    б) нелінійна ідеальна хроматографія;  
в) лінійна неідеальна хроматографія;    г) нелінійна неідеальна хроматографія.

Рисунок показує розподіл концентрації речовини в хроматографічній зоні в залежності від лінійності ізоТЕРМИ сорбції двох речовин, що хроматографуються, а також від швидкого чи повільного встановлення рівноваги. У всіх випадках, крім лінійної рівноважної хроматографії (рис.5, а) має місце розмивання речовини по шару, розширення хроматографічної зони: симетричне у випадку лінійної і асиметричне для нелінійної хроматографії.

*Опис* хроматографічного процесу можна вести з трьох позицій:

1. Розгляд шару сорбенту, в якому розподіляється речовина і встановлюється рівновага, як макроскопічно однорідне середовище з участю великого числа молекул – *метод матеріального балансу*.

2. Вивчення процесів, які відбуваються з окремо взятою молекулою і розглядати швидкість її руху вздовж осі, а також із однієї фази в іншу – *стохастичний метод*. Ці два методи подібні і їх об'єднують під назвою *теорія швидкостей*.

3. Розгляд шару сорбенту таким, що складається з великої кількості послідовних елементарних ступенів (тарілок), на яких встановлюється рівновага. Ця теорія отримала назву *теорії тарілок*.

Ці теорії дозволяють пояснити причини розмивання хроматографічних зон і знайти шляхи зменшення їх дії, і відповідно, покращити умови проведення хроматографічного процесу.

### 2.2.2. Теорія ідеальної хроматографії

*Теорія ідеальної хроматографії* базується на допущенні миттєвості процесу сорбції-десорбції і встановлення рівноваги між концентрацією речовини в рухомій і нерухомій фазі та відсутності дифузійних факторів в хроматографічній колонці

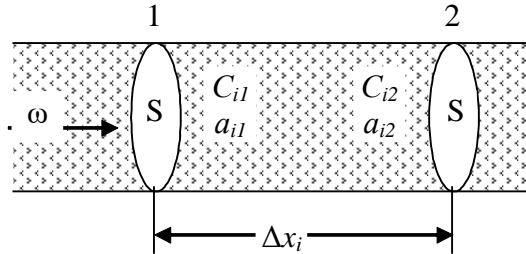
**Основне завдання теорії ідеальної хроматографії** – встановити залежність між швидкістю пересування компонента вздовж шару сорбента і його здатністю до сорбції.

Розглянемо тонкий шар сорбента  $\Delta x$  між перетинами 1 і 2 (рис. 6), як однорідне середовище та опишемо його масообмін, пов'язаний з переносом речовини газом-носієм та переносом його між фазами за рахунок процесів сорбції і десорбції. При миттєвому встановленні сорбційної рівноваги можна використати метод матеріального балансу. При проходженні газу між перетинами 1 і 2 за час  $\Delta \tau$  зона  $i$ -того компонента пересувається на відстань  $\Delta x_i$ , зміна кількості речовини в газі дорівнює зміні кількості речовини в нерухомій фазі. Нехай об'ємна швидкість пересування рухомої фази  $\omega$ . Тоді її об'єм, пропущений за час  $\Delta \tau$  через поперечний переріз, становить  $\omega \cdot \Delta \tau$ . При концентрації речовини в газовій фазі  $C_i$  кількість речовини, перенесена об'ємом рухомої фази через переріз 1 становить  $\omega \cdot \Delta \tau \cdot C_{i1}$ , а кількість речовини, перенесена через переріз 2 становить  $\omega \cdot \Delta \tau \cdot C_{i2}$ . За час  $\Delta \tau$  кількість речовини в

одиниці об'єму сорбента  $a_{i1}$  змінюється на  $a_{i2}$ . Рівняння матеріального балансу має такий вигляд:

$$\omega \cdot (C_{i1} - C_{i2}) \cdot \Delta\tau = (a_{i1} - a_{i2}) \cdot \Delta x_i; \quad (2.8)$$

$$\omega \cdot \Delta C_i \cdot \Delta\tau = \Delta a_i \cdot \Delta x_i. \quad (2.9)$$



**Рис. 6.** Схема проходження газу в хроматографічній колонці

Оскільки  $\Delta x_i / \Delta\tau = u_i$  — лінійна швидкість руху зони речовини вздовж нерухомої фази, з рівняння (2.9) одержимо:

$$u_i = \frac{\omega \cdot \Delta C_i}{\Delta a_i}. \quad (2.10)$$

При лінійній ізотермі сорбції  $\Delta a_i / \Delta C_i$  є постійна величина, яка дорівнює  $K$  — коефіцієнту Генрі. Він дорівнює відношенню кількості речовини в одиниці об'єму нерухомої фази до концентрації речовини в рухомій фазі. Відповідно, для одиниці перерізу колонки  $u_i = \frac{\omega}{\Gamma}$ , а для перерізу площею  $S$ :

$$u_i = \frac{\omega}{\Gamma \cdot S}, \quad (2.11)$$

$\frac{\omega}{S} = u_r$  — лінійна швидкість руху газу-носія. Отже,

$$u_i = \frac{u_r}{\Gamma}. \quad (2.12)$$

Таким чином, у випадку лінійної ідеальної хроматографії швидкість руху хроматографічної зони речовини постійна в часі й по перерізу шару  $i$  залежить від коефіцієнта Генрі. При наявності в суміші компонентів з

різними коефіцієнтами Генрі, вони будуть рухатися з різними швидкостями  $u_i$  і на виході з колонки з'являться окремо, тобто розділяться. Коли нерухома фаза є рідкою, замість коефіцієнта Генрі ( $\Gamma$ ) використовують коефіцієнт розподілу ( $D$ ).

**Залежність форми хроматографічного піка від типу ізотерми адсорбції.** Розглянемо схему проходження зони *компонента* газової або рідкої суміші в умовах *лінійної ідеальної* хроматографії. Припустимо, що зона компонента поділяється в колонці на багато малих сегментів. Середня швидкість кожного сегмента описується залежністю (2.11). Оскільки ізотерма сорбції стала, тобто  $\Gamma$  не залежить від концентрації, то за сталої швидкості потоку рухомої фази сегменти рухаються з однаковими швидкостями. Тому крива елюювання кожного компонента має симетричний і нерозмитий вигляд. Після проходження певного шляху вздовж хроматографічної колонки компоненти суміші повністю розділяються і криві елюювання не перекриваються, як це зображено на рис. 5, а.

Згідно теорії лінійної ідеальної хроматографії через деякий час після введення проби на виході з колонки з'являються зони речовин у вигляді прямокутних ділянок в порядку збільшення коефіцієнтів Генрі (рис. 5.а). Але розподіл концентрацій в хроматографічній зоні в значній мірі визначається молекулярною дифузією в газовому потоці, навіть для випадку рівноважної хроматографії. При переносі розчиненої речовини рухомою фазою від входу до виходу колонки, молекули можуть дифундувати в будь-якому напрямку. В тому числі – вздовж і проти потоку, що рухається. Чиста повздовжня дифузія відбувається з області високих концентрацій в область низьких концентрацій, ступінь розмивання зростає із зростанням тривалості пересування рухомої фази. Отже, молекулярна повздовжня дифузія, яка виникає при просуванні хроматографічної зони за час  $t$  в шарі  $dx$  як попереду зони, так і після неї, призводить до розмивання переднього і заднього контурів зон речовин, внаслідок чого зони мають вигляд не прямокутний, а дзвоноподібний.

Розв'язок рівняння лінійної рівноважної хроматографії з врахуванням повздовжньої дифузії з коефіцієнтом молекулярної дифузії  $D$  призводить до гаусівського розподілу концентрацій по шару:

$$C = C_{\max} \cdot e^{-\frac{(X-X_0)^2 \Gamma}{4Dt}}, \quad (2.13)$$

де  $C_{\max}$  – максимальна концентрація в хроматографічній зоні (її центр), яка відповідає значенню абсциси  $X_0$ ;

$X$  – абсциса, яка визначає положення точки з концентрацією  $C$  по відношенню до центру хроматографічної зони;

$t$  – час від моменту введення проби.

Отже, в умовах лінійної ідеальної газової хроматографії з врахуванням існуючої повздовжньої дифузії розподіл концентрації в хроматографічній зоні підпорядковується рівнянню (2.13). Швидкість руху центра хроматографічної зони, якому відповідає максимальна концентрація, постійна для даної речовини по всій довжині шару і визначається рівнянням (2.12). Картина розподілу відповідає хроматограмі на рис. 5, в.

Розглянемо тепер *нелінійну ідеальну* хроматографію. У випадку ізотерми Ленгмюра, яка має вигляд випуклої кривої, кут нахилу ізотерми зменшується зі збільшенням кількості розчиненого компонента. Тому сегменти передньої частини зони (фронту) речовини, в якій концентрація компонента мала, рухаються зі сталою швидкістю. Однак у міру наближення до максимуму зони кут нахилу ізотерми змінюється – зменшується з кожним наступним сегментом. Швидкість руху сегмента тим вища, чим ближче він знаходиться до максимуму зони. Результатом такої ситуації є загострення фронту піка. Задня частина (тил) зони розтягується, через те що сегменти за максимумом зони мають меншу концентрацію і рухаються повільніше, ніж сегменти у максимумі. Це призводить до того, що тильні ділянки хроматографічних зон розтягуються і ефективність розділення відповідно погіршується. У випадку нелінійної ізотерми сорбції форма піків стає несиметричною (рис. 5, б і г).

Практичний аспект цього дуже важливий. Ізотерма Ленгмюра вказує на сильну адсорбцію. Тому введення великих кількостей досліджуваних речовин може призвести до їх необоротної адсорбції і відсутності піків на хроматограмі. Зі збільшенням кількості речовини, яка вводиться в колонку, форма піка змінюється і тил розтягується. Наслідком цього є постійний зсув максимуму піка, що призводить до похибки вимірювання характеристик утримування.

### 2.2.3. Теорія неідеальної хроматографії

Теорія неідеальної (нерівноважної) хроматографії розглядає реально здійснюваний процес, в якому швидкість встановлення міжфазової рівноваги визначена і враховуються всі процеси дифузії і масообміну.

Одне з головних завдань теорії нерівноважної хроматографії – вивчити і пояснити причини розмивання хроматографічних піків.

У реальному процесі акт сорбції речовини в газовій фазі поверхнею нерухомої фази складається з двох стадій масообміну:

- 1) доставка речовини з об'єму газової фази до поверхні сорбента – стадія *зовнішньої дифузії*, пов'язана з швидкістю дифузії речовини в газі;
- 2) проникнення речовини з поверхні всередину сорбента – стадія *внутрішньої дифузії*, пов'язана з дифузійною масопередачею всередині твердого або рідкого сорбента.

Швидкість цих стадій масообміну є обмеженою, що призводить до уповільнення встановлення рівноваги і розмивання хроматографічних піків. Розмивання хроматографічної зони, яке викликане малою швидкістю масообміну, можна характеризувати за допомогою ефективного коефіцієнта дифузії  $D_{ef}$ , який враховує як зовнішню, так і внутрішню масопередачу в хроматографічній колонці.

Отже, в лінійній нерівноважній хроматографії розмивання хроматографічної зони відбувається не тільки за рахунок повздовжньої



дифузії, але і внаслідок повільних процесів масопередачі речовини між фазами.

Крім цього, додаткове розмивання хроматографічних піків зумовлюється ще деякими процесами.

1. **Вихрова дифузія** – викликана тим, що молекули речовини і газу-носія, просуваючись крізь шар зерен сорбенту, рухаються не паралельно осі колонки, а складними траєкторіями різної довжини, обминаючи зерна, і зумовлюючи ефект завихрювання через різні швидкості руху. Молекули виходять із колонки в різний час, внаслідок чого відбувається розмивання смуги. Вихрова дифузія не залежить від швидкості потоку рухомої фази, але залежить від розміру часточок сорбенту та щільності їх упакування. Характерна тільки для набивних колонок (заповнених зернами сорбента).

2. **Динамічна дифузія** – зумовлена різною швидкістю потоку газу біля стінки колонки і в її центрі (стіночний ефект). Це викликає поперечний дифузійний потік і розмивання піку.

3. **Дифузія речовини в непродувні пустоти між зернами сорбенту.**

Вплив цих ефектів на розмивання піків залежить від швидкості газу-носія, коефіцієнта дифузії в газі, коефіцієнта дифузії в рідкому сорбенті, товщини рідкої фази на поверхні твердого носія, діаметра зерна сорбенту, діаметра колонки.

Отже, при описанні процесів, які реально відбуваються в хроматографічній колонці, вплив всіх факторів, які викликають розмивання хроматографічної зони, можна врахувати за допомогою *ефективного коефіцієнта дифузії* ( $D_{ef}$ ), який є сумою ефектів, зумовлених переліченими вище факторами. Таким чином, форма хроматографічного піка з врахуванням нерівноважності може бути розрахована за формулою (2.13) при підстановці  $D_{ef}$  замість  $D$ :

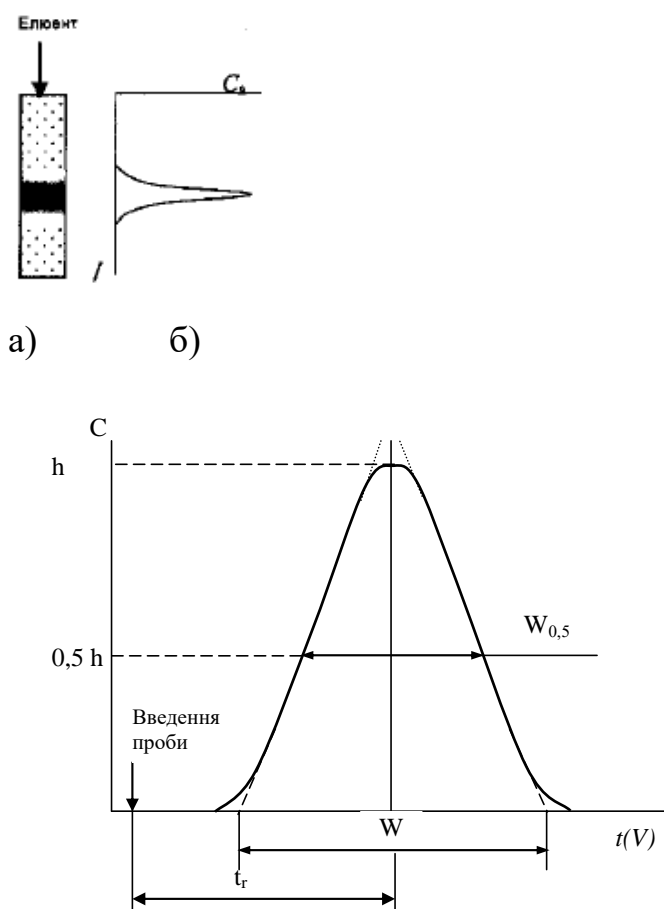
$$C = C_{\max} \cdot e^{-\frac{(X-X_0)^2 \Gamma}{4D_{ef}t}}. \quad (2.14)$$

#### 2.2.4. Теорія тарілок

Ефективність розділення речовин за *лінійної неідеальної* хроматографії залежить від багатьох факторів, зокрема від термодинамічних (коефіцієнти розподілу), кінетичних (дифузія молекул у рухомій та нерухомій фазах), динамічних (швидкість потоку рухомої фази, розмір зерен сорбенту та щільність його упакування, розміри колонки тощо). Задовільний опис процесу хроматографічного розділення речовин у цьому разі можна отримати, поєднавши окремі положення теорії еквівалентних тарілок А.Мартіна, дифузної теорії Ван Деємтера та критерій розділення А.Жуховицького і Н.Туркельтауба.

Теорія тарілок, запропонована Мартіном та Сінджем, є однією з перших теорій розмивання хроматографічного піка. Теорія еквівалентних тарілок включає загальний опис багатостадійних процесів розділення. Розглядаючи хроматографічний процес аналогічно процесу ректифікації, колонку умовно розділяють на окремі послідовні ступені – *тарілки*, крізь які рухома фаза проходить переривчастими порціями. При цьому припускають, що під час кожного "поштовху" *на відповідній тарілці встановлюється рівновага розподілу адсорбату між нерухомою і рухомою фазами*. Кожна нова порція рухомої фази, яка потрапляє на тарілку, призводить до перерозподілу адсорбату між фазами, внаслідок чого адсорбат з однієї тарілки частково переходить у рухому фазу і переноситься нею на іншу тарілку, де знову розподіляється між двома фазами, і т. д. При цьому кількість адсорбату на початкових тарілках зменшується, а на наступних – відповідно зростає. У результаті такого переміщення і перерозподілу адсорбат опиняється на декількох тарілках із максимальною концентрацією на середніх із них. Відбувається "розмивання" адсорбату на декількох тарілках, і розподіл його концентрації на виході з колонки набуває вигляду кривої розподілу Гауса. На рис. 7 наведено: схему зони компонента, його концентраційний профіль при

просуванні вздовж колонки і форму кривої елюювання згідно з теорією еквівалентних тарілок.



**Рис.7.** Схема зони компонента в колонці (а), його концентраційний профіль при просуванні вздовж колонки (б) і форма хроматографічного піку за теорією тарілок

Отже, шар сорбента, необхідний для встановлення рівноваги між речовиною в рухомій газовій і нерухомій твердій чи рідкій фазі, називається *теоретичною тарілкою*, а висота цього шару ( $H$ ) називається *висотою, еквівалентною теоретичній тарілці (BETT)*, її виражають найчастіше в мм. Якщо загальна довжина колонки  $l$ , то вона складається з  $n$  теоретичних тарілок:

$$n = \frac{l}{H}. \quad (2.15)$$

Число теоретичних тарілок  $n$  і *BETT* ( $H$ ) – величини, які кількісно характеризують процес розмивання хроматографічної зони певної речовини, тобто ефективність роботи хроматографічної колонки. При однаковій довжині

колонок  $l$  ефективнішою є та, яка має більше тарілок  $n$  і, відповідно, меншу величину  $H$ .

Згідно з теорією еквівалентних тарілок названі параметри можна розраховувати за рівняннями:

$$n = 5,55 \left( \frac{V_r}{W_{0,5}} \right)^2 \qquad n = 16 \left( \frac{V_r}{W} \right)^2 \qquad (2.16)$$

де  $V_r$  – об’єм утримування, мл,  $W$  – ширина кривої елюювання в нижній частині, в основі, також виражена відповідно в мл,  $W_{0,5}$  – ширина кривої елюювання на половині висоти, мл.

Якщо крива елюювання зареєстрована в координатах або “С – t”, то рівняння набувають вигляду:

$$n = 5,55 \left( \frac{t_r}{W_{0,5}} \right)^2 \qquad n = 16 \left( \frac{t_r}{W} \right)^2 \qquad (2.17)$$

Якщо крива елюювання зареєстрована в координатах “С – l”, то рівняння набувають вигляду:

$$n = 5,55 \left( \frac{l_r}{W_{0,5}} \right)^2 \qquad n = 16 \left( \frac{l_r}{W} \right)^2 \qquad (2.18)$$

де  $l_r$  – відстань утримування, мм або см,  $W$  також виражена відповідно у мм або см.

Роздільна здатність хроматографічної колонки збільшується зі зменшенням ВЕТТ.

Слід зазначити, що висота  $H$ , еквівалентна теоретичній тарілці (ВЕТТ), мало залежить від значень коефіцієнтів Генрі (коефіцієнтів розподілу), але значно залежить від фізичних умов хроматографування, зокрема від температури, розміру зерен сорбенту та щільності його упакування в колонці, коефіцієнтів дифузії сорбату в розчині та у фазі сорбенту, швидкості потоку

рухомої фази тощо. Тому величину  $H$  для даної колонки можна визначити на підставі кривої елюювання практично будь-якої речовини за умови  $V_r > V_0$ .

$BETT$  може змінюватися в широких межах. Наприклад, для звичайних колонок, які заповнені твердим адсорбентом і працюють за атмосферного тиску,  $BETT$  становить декілька міліметрів. Мікроколони для рідинної хроматографії, в яких адсорбент щільно упакований і які працюють в умовах підвищеного тиску, характеризуються величинами  $BETT$  порядку 0,1 мм і менше. Такі колонки використовують у високоефективній рідинній хроматографії.

Величинам  $H$  і  $n$  не можна надавати якого-небудь фізичного сенсу. Це умовні параметри, хоча за їх допомогою зручно описувати ефективність колонки.

При достатньо великій кількості тарілок ( $n > 100$ ), розподіл концентрації речовини по довжині колонки з врахуванням факторів розмивання і при умові лінійної ізотерми сорбції призводить до рівняння Гауса:

$$C = C_{\max} \cdot e^{-\frac{(X-X_0)^2}{2lH}}, \quad (2.19)$$

де  $X$  – довжина колонки з концентрацією речовини  $C$ ;

$X_0$  – довжина колонки з концентрацією речовини  $C_{\max}$ .

Це рівняння дозволяє визначити концентрацію речовини в будь-якій точці хроматографічної зони.

### 2.2.5. Дифузійна (кінетична) теорія

У теорії еквівалентних тарілок прийнято, що під час елюювання на кожній тарілці встановлюється рівновага розподілу сорбату між рухомою і нерухомою фазами. Однак у динамічних умовах рівновага розподілу сорбату між фазами не встановлюється, і на розмивання хроматографічної зони впливає також дифузія молекул сорбату в рухомій фазі, у порах сорбенту та інші складні процеси масообміну. Врахувавши ці фактори, *Ван Деємтер* запропонував

рівняння, яке пов'язує *BETT* ( $H$ ) з лінійною швидкістю ( $u_r$ ) потоку рухомої фази:

Для виведення рівняння, що зв'язує ефективність хроматографічної колонки і умови проведення хроматографічного дослідження, порівняємо останнє рівняння (2.19) з рівнянням розподілу концентрацій в хроматографічній зоні в лінійній рівноважній хроматографії, вони подібні:

$$C_{\max} \cdot e^{-\frac{(X-X_0)^2}{2lH}} = C_{\max} \cdot e^{-\frac{(X-X_0)^2 \cdot \Gamma}{4Dt}}. \quad (2.20)$$

Звідси випливає, що:

$$4Dt = 2lH\Gamma. \quad (2.21)$$

Замінивши коефіцієнт молекулярної дифузії  $D$  на ефективний коефіцієнт дифузії  $D_{ef}$  та врахувавши, що лінійна швидкість руху зони  $u_i = l/t$  і  $u_i = \frac{u_r}{\Gamma}$ , одержимо:

$$H = \frac{2D_{ef}}{u_r}. \quad (2.22)$$

Це рівняння зв'язує ефективний коефіцієнт дифузії  $D_{ef}$ , виведений на основі теорії швидкостей, і  $H$  – висоту, еквівалентну теоретичній тарілці. Провівши деякі перетворення і включивши всі фактори розмивання зони у відповідні коефіцієнти, отримаємо рівняння Ван-Деемтера, яке зв'язує ефективність колонки ( $H$ ) з умовами проведення дослідження, в першу чергу з лінійною швидкістю потоку газу-носія:

$$H = A + \frac{B}{u_r} + C \cdot u_r, \quad (2.23)$$

де  $A$  – складник, який враховує вихрову дифузію; при збільшенні діаметра зерна нерухомої фази цей складник збільшується;

$B$  – коефіцієнт, який відображає вплив повздовжньої дифузії, він залежить від природи газу-носія і пропорційний коефіцієнту молекулярної дифузії. Якщо

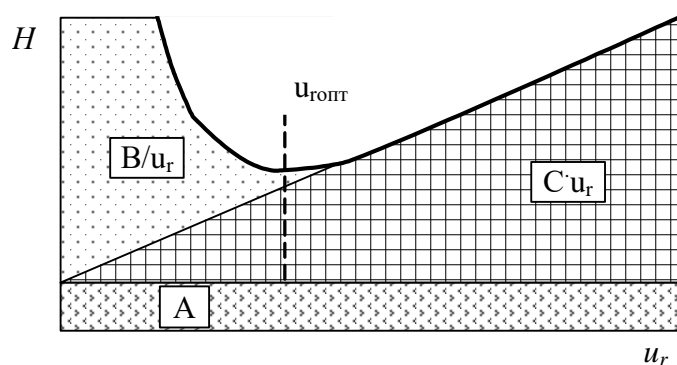
деякий компонент певної концентрації ввести всередину довгої трубки, заповненої рідиною або газом, то він повільно дифундуватиме у напрямку обох кінців трубки. Внаслідок дифузії через певний проміжок часу компонент рівномірно розподілиться по всій довжині трубки. Цей останній ефект у хроматографії ніколи не реалізується, однак початкова стадія дифузного розмивання смуг у рухомій фазі має місце. Це розмивання пропорційне часу перебування компонента у рухомій фазі. Розширення смуги обернено пропорційне швидкості. Зниження швидкості потоку призводить до розмивання. Така дифузія має більше значення, якщо рухома фаза – газ, оскільки швидкість дифузії у газах на декілька порядків вища, ніж у рідинах;

$C$  – коефіцієнт, який відображає вплив *опору масопередачі* у двох фазах дифузійної масопередачі і динамічної дифузії, він залежить від в'язкості, коефіцієнта дифузії рідкої нерухомої фази, діаметра зерна і діаметра колонки; У процесі руху зони компонента крізь колонку його молекули безперервно переносяться з рухомої фази в нерухому і назад. Цей процес відбувається не миттєво, оскільки для переносу молекул крізь рухому фазу до поверхні нерухомої фази і навпаки необхідний деякий час. Молекули, що знаходяться близько від поверхні нерухомої фази, можуть проникнути до неї майже відразу, тоді як ті з них, що знаходяться на великій відстані, можуть потрапити до нерухомої фази за значно триваліший час, тобто далі за напрямком руху рухомої фази. У результаті такого уповільненого переносу частини молекул крізь нерухому фазу відбувається розмивання зони, яке називають розмиванням через опір масопередачі у рухомій фазі. Молекули, які дифундують у рухомій фазі на більшу відстань, випереджують молекули, які не відходять від поверхні нерухомої фази. Опір масопередачі спостерігається в обох фазах і пов'язаний зі швидкістю рухомої фази прямо пропорційно. Чим повільніше переміщується рухома фаза, тим більше молекул встигає сорбуватися на вузькій ділянці сорбенту, тим менше розмивання. Чим менший

діаметр зерна сорбенту або менша товщина плівки рідкої нерухомої фази, тим менший опір масопередачі у ній, тим менше розмивання;

$u_r$  – лінійна швидкість газу-носія.

Графічне зображення рівняння Ван-Деемтера представлено на рис.8, з якого видно, що існує оптимальна швидкість потоку рухомої фази, за якої встановлюється мінімальне значення ВЕТТ, тобто максимальна ефективність хроматографічної колонки. Параметри, об'єднані в коефіцієнтах  $A$ ,  $B$  і  $C$ , визначити експериментально або обчислити теоретично важко, а іноді практично неможливо. Тому оптимальну швидкість потоку рухомої фази знаходять на підставі визначення залежності  $H$  від  $u_r$  на даній колонці для будь-якої системи "сорбент-сорбат" (нагадаємо, що  $n$  і  $H$  мало залежать від природи взаємодії між сорбентом і сорбатом).



**Рис. 8.** Графік залежності висоти, еквівалентної теоретичній тарілці  $H$ , від лінійної швидкості руху газу-носія  $u_r$ .

У капілярних колонках, де нерухома фаза нанесена тонким шаром або закріплена на внутрішніх стінках капіляру, вихрова дифузія відсутня, внаслідок чого капілярні колонки ефективніші за набивні.

Слід зазначити, що за великих швидкостей потоку рухомої фази в рідинній адсорбційній хроматографії ("високошвидкісна хроматографія") величина  $H$  залежить в основному від доданків  $A$  та  $C \cdot u_r$  в рівнянні (2.23), тому підвищення  $u_r$  призводить до безперервного збільшення  $H$ , тобто до зменшення ефективності роботи хроматографічної колонки.



### 2.2.6. Роздільна здатність хроматографічної колонки.

Для успішного якісного і кількісного хроматографічного аналізу потрібне таке розділення, яке б дозволило з необхідною точністю вимірювати якісні і кількісні параметри хроматографічних піків, тобто параметри утримування і площі піків. Тому одне з основних завдань хроматографії полягає в тому, щоб отримати чітке розділення суміші компонентів. Про якість розділення судять за числом піків і за відстанню, на якій вони знаходяться один від іншого.

Необхідною умовою хроматографічного розділення речовин є відмінність їх сорбційних властивостей ( $\Gamma$ ), яка при постійності умов хроматографування приводить до відмінності параметрів утримування компонентів ( $V'_r$ ,  $V_r$ ,  $t'_r$ ,  $t_r$ ). Але виконання цієї умови ще не достатньо через розмивання хроматографічних піків, яке може призвести до повного або часткового перекривання піків і неможливості точного вимірювання якісних і кількісних параметрів піків.

Роздільна здатність хроматографічної колонки залежить від селективності та ефективності колонки (рис. 9).

*Селективність* є мірою взаємного розподілу двох або більше визначуваних речовин у ході хроматографічного процесу. Селективність можна подати як відстань між піками (ступінь розділення):

$$\Delta V'_R = V'_{R(2)} - V'_{R(1)} = V_a(\Gamma_2 - \Gamma_1) \quad (2.24)$$

З цього рівняння видно, що селективність залежить від різниці коефіцієнтів розподілу визначуваних компонентів і кількості нерухомої фази. Якщо  $\Gamma_2 = \Gamma_1$ , то розділення на даному сорбенті неможливе, речовини елююватимуться одним піком.

Найпоширенішим способом підвищення селективності є збільшення  $V_a$  за рахунок збільшення довжини хроматографічної колонки, однак це призводить до розмивання хроматографічних піків.

Інший спосіб вираження селективності через міру відносного утримування двох речовин – *коефіцієнт селективності (фактор розділення)  $\alpha$* :

$$\alpha = \frac{\Gamma_2}{\Gamma_1} \quad (2.25)$$

У цьому рівнянні має задовольнятися умова  $\Gamma_2 > \Gamma_1$ .

Навіть якщо  $\Gamma_2 \gg \Gamma_1$ , не можна заздалегідь сказати, що розділення буде повним, тобто основи піків розділяться. Для цього треба знати ефективність розділення.

Необхідно також розрізняти селективність колонки і селективність сорбента. *Селективність* сорбента – це його вибірковість до компонентів, яка залежить від природи та структури сорбенту та природи сорбату.

*Ефективність* – це здатність системи опиратися розмиванню хроматографічних піків. Вона характеризує якість колонки. Мірою ефективності роботи колонки є  $N$  (ВЕТТ). Чим менша ВЕТТ, тим менше розмивання піка і тим вища ефективність розділення.

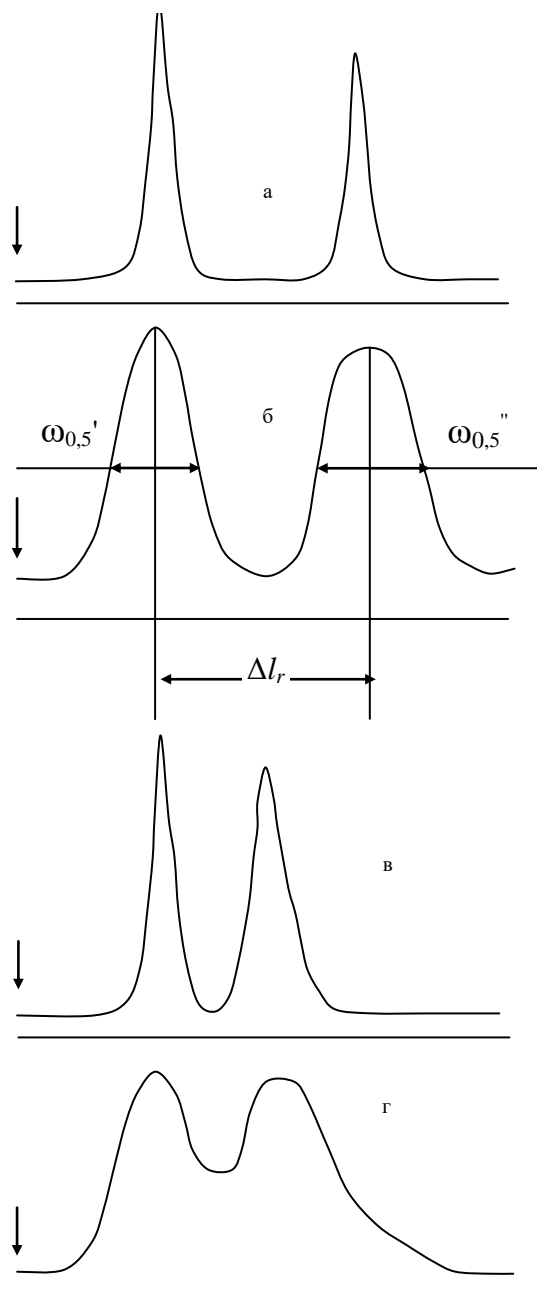
Враховавши теорію еквівалентних тарілок і дифузійну теорію, можна дійти висновку, що ефективність тим вища, чим менший діаметр зерна сорбенту, щільніше його упакування в колонці, чим менша товщина плівки рідкої нерухомої фази (при цьому зменшується вихрова дифузія, менший опір масопередачі у нерухомій фазі), менші коефіцієнти дифузії сорбату в рухомій фазі, тобто менша в'язкість (менший опір масопередачі у рухомій фазі).

На рис. 9 наведено залежність степеня розділення двох речовин від ефективності колонки і селективності сорбента. Як видно, достатньо повного розділення можна досягти лише при поєднанні високої ефективності з доброю селективністю. Селективність впливає на якість розділення може навіть більше, ніж ефективність. Тому необхідно знайти залежності, які зв'язують ці обидві основні характеристики колонки.

У випадку, зображеному на рис. 9, б, обрано достатньо селективний сорбент, тому  $\Delta V'_R$  має відносно велике значення. Проте піки розмиті і перекриваються, тобто ця колонка низько ефективна, можливо через великий діаметр зерен сорбенту і нещільне й нерівномірне його упакування. Все це призводить до подовження тривалості розділення і збільшення кількості рухомої фази, необхідної для елюювання речовин із колонки. У випадку, який ілюструє рис. 9, в, обрано неселективний сорбент для даних сполук. Тому

незважаючи на вузькі піки, тобто високу ефективність, яка спричинена високою дисперсністю сорбенту і його щільним упакуванням у колонці, розділення не відбувається, оскільки  $\Delta V'_R$  малий.

У випадку, наведеному на рис. 9, а, обрано селективний сорбент, щільно і рівномірно упакований у колонку, ефективність розділення висока. Це забезпечує повне розділення речовин за прийнятний проміжок часу й економну витрату елюенту.



**Рис.9.** Чіткість розділення компонентів при різних селективностях нерухомої фази і ефективності хроматографічної колонки:

- а) – велика селективність і велика ефективність;
- б) – велика селективність і низька ефективність;
- в) – низька селективність і велика ефективність;
- г) – низька селективність і низька ефективність.

**Критерій розділення.** Для кількісної оцінки чіткості розділення в хроматографічному аналізі використовується комплексний параметр, який характеризує дію на розділення двох компонентів як ефективності колонки, так і селективності – *критерій розділення*  $R_s$ . В той час як селективність характеризує розділення максимумів піків, критерій розділення є характеристикою розділення самих хроматографічних піків.

В основу критерію покладені елюційні характеристики, які визначаються за хроматограмою:

$$R_s = \frac{\Delta l_r}{\omega_{0,5}^{(1)} + \omega_{0,5}^{(2)}} = \frac{\Delta V_r}{\omega_{0,5}^{(1)} + \omega_{0,5}^{(2)}} \quad (2.26)$$

$$R_s = \frac{2\Delta V_r}{\omega^{(1)} + \omega^{(2)}}$$

де  $\Delta l_r$  – відстань між висотами двох хроматографічних піків, см або мм,

$\Delta V_r$  – різниця об'ємів утримання, об'ємні одиниці,

$\omega_{0,5}$  – ширина піка на рівні половини його висоти, лінійні або об'ємні одиниці,

$\omega$  – ширина піка в основі, лінійні або об'ємні одиниці.

У хроматографії прагнуть не до найбільшого, а до оптимального розділення, тобто піки мають знаходитись тільки на певній відстані один від одного. Для кількісного аналізу можна задавати критерій розділення 1,0. Якщо треба, щоб піки розділилися до нульової лінії, необхідний критерій розділення 1,5. Якщо  $R_s < 1$ , відбувається перекривання піків, і точне визначення параметрів, особливо кількісних, стає неможливим. За однакового сорбенту у колонках, розділення можна поліпшити подовженням колонки, тобто збільшенням числа теоретичних тарілок.

Крім того, важливим параметром, що характеризує повноту використання нерухомої фази і впливає на ефективність розділення, є коефіцієнт ємності (фактор утримування)  $k'$ :

$$k' = \frac{V_R - V_0}{V_0} = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (2.27)$$

Невеликі значення  $k'$  засвідчують те, що компоненти суміші, які розділяють, слабо утримуються в колонці. Отже, спостерігається погане розділення, оскільки нерухома фаза використовується недостатньо ефективно. За великих значень  $k'$  розділення поліпшується, однак при цьому занадто збільшується тривалість аналізу і криві елюювання розмиваються. У рідинній хроматографії оптимальні значення  $k'$  знаходяться в межах 1,5-4,0, а в газовій – 30-50.

Поєднавши попередні рівняння отримаємо вираз, який зв'язує критерій розділення  $R_s$  з ефективністю  $n$ , селективністю  $\alpha$  та коефіцієнтом ємності  $k'$  колонки:

$$R_s = \frac{\sqrt{n}}{4} \left( \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left( \frac{k'}{k' + 1} \right) \quad (2.28)$$

Це рівняння дає змогу обчислювати залежність між ефективністю  $n$  та селективністю для випадків повного розділення ( $R_s=1$ ) за різних значень коефіцієнта ємності  $k'$ . Слід також зазначити, що для розрахунків використовують мінімальну величину  $k'$ , обчислену за значеннями  $V_R$  речовини, яка сорбується найгірше, тобто має найменше значення  $\Gamma(D)$  серед усіх речовин, які потрібно розділити.

Існують методи обробки неповністю розділених хроматографічних піків, які дозволяють приблизно визначати параметри піків.

### 2.2.7. Якісний хроматографічний аналіз

Функція хроматографічної колонки зводиться до розділення складної суміші на бінарні суміші індивідуальних компонентів з газом-носієм. Встановлення якісного і кількісного складу суміші виконується на основі хроматограми за межами колонки з використанням різних методів.

Найчастіше використовують *ідентифікацію за допомогою еталонів* та *ідентифікацію з використанням довідникових даних*.

Згідно з *першим методом* ідентифікацію можна проводити двома прийомами. У разі *першого* прийому параметри утримування кожного піка хроматограми досліджуваної суміші порівнюють із параметрами піків речовин-еталонів, хроматограми яких отримують окремо при тих же умовах хроматографування. Як еталони беруть речовини, присутність яких передбачається у складі досліджуваної суміші. Відсутність серед параметрів утримування піків суміші параметрів утримування чистої речовини однозначно свідчить про відсутність цієї речовини в суміші. Наявність в хроматограмі суміші піка з параметром утримування, який має пік якоїсь чистої речовини, може свідчити про можливість наявності цієї речовини в суміші, але не виключена наявність іншої речовини з рівним або близьким параметром утримування.

У разі *другого прийому* речовину-еталон вводять у досліджувану суміш. Якщо висота відповідного піка збільшується, а він не розширюється, то природа визначуваного компонента ідентична речовині-еталону. Якщо ж на хроматограмі досліджуваної суміші спостерігається зміна ширини на половині висоти піка або виникає новий пік, то введено еталон іншої природи.

Для підтвердження наявності чи відсутності досліджуваного компонента у суміші аналіз проводять не на одній колонці (або тонкошаровій пластинці), а на трьох колонках, заповнених сорбентами з різною полярністю. Якщо на всіх

трьох сорбентах підтверджуються отримані результати, то це вже досить переконливо засвідчує наявність саме цього компонента у суміші.

Еталонний метод ідентифікації речовини часто застосовують у хімічній технології, фармацевтиці, коли треба перевірити чистоту розчинника, підтвердити достеменність сировини, визначити наявність одного-двох компонентів у складній суміші.

За *другим методом* речовини найчастіше ідентифікують за такими показниками:

- відносний об'єм утримування або відносний час утримування;
- індекс утримування Ковача.

За *першого варіанту* в однакових умовах отримують дві хроматограми – досліджуваної суміші і стандарту. Оскільки параметри утримування залежать не тільки від характеру речовини, а й від конструктивних особливостей і режиму роботи хроматографа, то для якісного аналізу використовуються не абсолютні, а відносні параметри утримування. Це дозволяє в значній мірі виключити дію випадкових факторів, наприклад, коливання температури. При цьому виправлений об'єм утримування  $V'_r$  або виправлений час утримування  $t'_r$  відносять до виправленого об'єму утримування  $V'_{ст.}$  або виправленого часу утримування  $t'_{ст.}$  речовини, прийнятої за стандарт. Це може бути, наприклад, нонан – один стандарт для всіх розділюваних речовин або окремі представники для різних класів розділюваних сполук, наприклад, пентан – для гомологічного ряду алканів, масляна кислота – для класу жирних кислот. Обчислені відносні часи утримування окремих компонентів порівнюють із табличними даними, здобутими за тих самих умов (однакові адсорбент і температура колонки), і за результатами порівняння роблять висновок про якісний склад аналізованої проби.

Значно зручнішими для ідентифікації речовин виявилися *індекси утримування*, введені чеським вченим Ковачем. Експериментально було встановлено, що в разі елюювання гомологічного ряду насичених ациклічних

вуглеводнів (алканів) спостерігається лінійна залежність між виправленим часом утримання  $t'_r$  (виправленим об'ємом утримання  $V'_r$ ) та числом атомів Карбону в молекулах алканів. Запропоновано вважати, що для алканів індекс утримування дорівнює числу атомів Карбону в молекулі алкану, помноженому на коефіцієнт 100. Наприклад, індекси утримування метану, етану, пропану тощо дорівнюють відповідно 100, 200, 300 і т. д.

За системою Ковача будь-якій сполуці ставиться у відповідність гіпотетичний вуглеводень нормальної будови, що має аналогічні хроматографічні властивості і містить деяке проміжне число атомів Карбону. Індекс утримування Ковача для невідомої речовини  $x$  обчислюють за формулою:

$$I = \left( \frac{\lg t'_{r,x} - \lg t'_{r,z}}{\lg t'_{r,(z+1)} - \lg t'_{r,z}} + z \right) \cdot 100, \quad (2.29)$$

де  $z$  – число атомів Карбону в молекулі алкану,  $t'_{r,z}$  та  $t'_{r,(z+1)}$  – виправлений час утримування алканів з відповідним числом атомів Карбону,  $t'_r$  – виправлений час утримування невідомої речовини  $x$ .

Вибирають таке  $z$ , щоб пік речовини виходив між піками нормальних вуглеводнів з  $z$  і  $z+1$  атомами Карбону.

Індекси Ковача, одержані при хроматографуванні різних речовин на певних нерухомих фазах і при певних температурах, наведені у довідниках. Співпадання визначених індексів утримування невідомої речовини з табличними даними для відомих речовин дозволяє провести їх ідентифікацію. Для більшої надійності якісного аналізу проводять порівняння індексів Ковача, одержаних на різних за полярністю нерухомих фазах.

На основі експериментальних даних можна говорити про наступні властивості індексів утримування:

1. При переході від одного члена гомологічного ряду до іншого в будь-якому гомологічному ряді індекс утримування збільшується близько на 100 одиниць.



2. Речовини, близькі за будовою, при введенні в їх молекули однакових функціональних груп збільшують індекс утримування приблизно на одну й ту ж величину.

3. Для неполярної нерухомої фази різниця значень індексів утримування  $\Delta I$  двох ізомерних сполук приблизно дорівнює різниці їх температур кипіння, помноженої на 5, тобто  $\Delta I \approx 5 \cdot \Delta T_{\text{кип.}}$ .

4. Різниця індексів утримування двох речовин А і В, отриманих на одній і тій ж нерухомій фазі і при однаковій температурі –  $\Delta I_{AB}$  – відображає вплив структурних відмінностей чи функціональних груп цих сполук, і називається *гомоморфним фактором*. Речовини називаються гомоморфними по відношенню одна до другої, якщо їх молекули відрізняються одним чи двома структурними елементами: н-парафіни, наприклад, гомоморфні їх функціональним похідним (спиртам, галогенопохідним).

Перевага індексів Ковача в тому, що вони мають адитивні властивості відносно будови досліджуваної речовини, їх можна отримати шляхом складання структурних інкрементів індексів утримування:

$$I = \sum n_i I_i, \quad (2.30)$$

де  $n_i$  – кількість структурних груп в молекулі речовини,

$I_i$  – структурний інкремент індекса утримування, можна знайти за різницею гомоморфних факторів при полярній і неполярній нерухомій фазі.

Користуючись цими властивостями індексів утримування можна легко ідентифікувати компоненти суміші, розрахувати гомоморфний фактор, перевірити кореляцію індексів утримування з будовою молекули (числом вуглеводневих атомів в молекулах гомологів) чи фізико-хімічними властивостями відповідних сполук (температурами кипіння, молекулярними масами і т.д.).

Російський вчений М.С.Вігдергауз запропонував для якісного аналізу використовувати лінійні індекси утримування:

$$J = \frac{t'_{r,x} - t'_{r,z}}{t'_{r,z+1} - t'_{r,z}} + z \quad (2.31)$$

Вони визначаються із відношень відстаней між ординатами максимумів відповідних піків. Індекс утримування метану становить 1, етану – 2, пропану – 3 і т.д. Індeksi Вігдергауза використовуються так само, як і індeksi Ковача.

Існують й інші *методи ідентифікації*. У разі відсутності індeksiв утримування у довідниковій літературі, хроматограф може використовуватися для виділення невідомої речовини у чистому вигляді з елюату під час виходу хроматографічного піка з наступним дослідженням її за допомогою інших фізико-хімічних чи хімічних методів аналізу. Великі можливості для якісного аналізу має гібридний метод хроматографічного розділення з використанням ІЧ- або мас-спектрального детектування. Ефективним є поєднання рідинного хроматографа зі спектрофотометричним детектором, який дає змогу записувати спектри поглинання компонентів досліджуваної суміші. Отримані спектри порівнюють з наявними у каталогах або пам'яті комп'ютера і на цій підставі ідентифікують компоненти суміші.

Із всіх можливих методів ідентифікації суміші отримали розповсюдження тільки ті, які, володіючи високою чутливістю, потребують дуже малих кількостей речовини для аналізу.

### 2.2.8. Кількісний хроматографічний аналіз

Основою кількісного аналізу є залежність між кількісними характеристиками хроматографічних піків та концентрацією або кількістю речовини, яка введена в хроматограф.

*Кількісними параметрами* хроматографічного піку ( $P$ ) є:

1) *площа* хроматографічного піка  $S$  – площа фігури, обмежена контуром піку і продовженням нульової (базової) лінії. Площа піку приблизно дорівнює площі рівнобедреного трикутника і обчислюється як добуток висоти на ширину піку, виміряну на рівні половини його висоти:

$$S = \omega_{0,5} \cdot h \quad (2.32)$$

2) його висота  $h$  – дорівнює величині перпендикуляру, опущеного з вершини піку на базову лінію;

3) добуток висоти  $h$  на час утримування  $t_r$  відповідного компонента або на пропорційну йому відстань  $l_r$  на хроматограмі від моменту введення проби до реєстрації максимуму піку, тобто  $h \cdot t_r$  та  $h \cdot l_r$ .

Вибір того чи іншого параметра найчастіше визначається видом хроматографічних піків.

Найточніші результати отримують при використанні як кількісного параметру площі хроматографічного піка, оскільки площі піків найменше залежать від умов експерименту.

Якщо піки на хроматограмі мають однакову ширину, замість площ в кількісному аналізі можна використовувати висоти піків  $h$ . Висоту піків виміряти просто і швидше. Для вимірювання ж площі піків необхідно застосовувати спеціальні засоби (планіметр) або реєстратори з інтеграторами, але залежність площі піків від маси речовини має більший діапазон лінійного зв'язку, ніж висота, і вимір площі дає більшу точність.

Аналізуючи суміші однотипних сполук, для яких ефективність колонки однакова, або використовуючи для аналізу не повністю розділені хроматографічні піки, можна використовувати в якості сигналу добуток висоти на час утримування  $t_r$  відповідного компонента або на пропорційну йому відстань  $l_r$  на хроматограмі від моменту введення проби до реєстрації максимуму піку, тобто,  $h \cdot t_r$  або  $h \cdot l_r$ .

Висоту піка  $h$ , добутки  $h \cdot t_r$  та  $h \cdot l_r$  не застосовують при визначенні кількості речовини за допомогою потокового детектора, а також при незадовільному контролі швидкості потоку газу-носія.

В основу кількісних методів газової хроматографії покладено два припущення:

1) введена в хроматограф проба має той же склад, що і аналізований розчин, тобто концентрація будь-якого компонента в пробі і аналізованому розчині  $C_i$  однакова і дорівнює

$$c_i = \frac{Q_i}{Q_{\pi}} = \frac{q_i}{q_{\pi}} \quad (2.33)$$

де  $Q_i$  – кількість  $i$ -того визначуваного компонента в аналізованому розчині;  $q_i$  – кількість  $i$ -того визначуваного компонента в аналізованій пробі;  $Q_{\pi}$  – кількість аналізованого розчину;  $q_{\pi}$  – розмір проби;

2) кількість  $i$ -того компонента в пробі пропорційна кількісному параметру піку  $P_i$  цього компонента на хроматограмі:

$$q_i = k \cdot P_i, \quad (2.34)$$

де  $k$  – коефіцієнт пропорційності, який залежить від чутливості детектора до різних коефіцієнтів аналізованої проби, враховує умови аналізу і не залежить від вмісту компонента в пробі та наявності інших компонентів; з введенням цих коефіцієнтів кількісний параметр в умовах експерименту стає пропорційним тільки кількості відповідної сполуки;

$q_i$  – кількість  $i$ -того визначуваного компоненту, введеного в хроматограф з пробєю.

З цих двох припущень прямо впливає основне рівняння кількісної газової хроматографії, що зв'язує концентрацію речовини в аналізованому розчині  $C_i$  з величиною параметра його піку на хроматограмі  $P_i$ :

$$c_i = \frac{k_i \cdot P_i}{q_n} \quad (2.35)$$

Залежно від природи, складу досліджуваної суміші, а також мети та умов визначення розрізняють *три методи обробки* результатів аналізу: *метод абсолютного калібрування* або калібрувальних коефіцієнтів, *метод внутрішньої нормалізації*, *метод відносного калібрування* або внутрішнього стандарту.

Якщо у хроматограф вводити кожен раз абсолютно однакову кількість проби, то кількість кожного компонента буде пропорційною концентрації  $C_i$  цього компонента в суміші, тобто:

$$C_i = k_i \cdot P_i \quad (2.36)$$

Метод кількісного аналізу, який використовує цю залежність, називається *методом абсолютного калібрування*, і застосовується для аналізу сумішей газоподібних речовин, оскільки хроматографи зазвичай комплектуються дозаторами газових проб, які дають можливість вводити постійний об'єм (1 – 10 мл).

*Метод абсолютного калібрування* полягає в використанні залежності однієї з кількісних характеристик хроматографічного піку (висоти, площі чи добутку висоти на час утримування) від кількості аналізованої речовини, введеної з пробой в хроматограф.

В рамках методу абсолютного калібрування можливі різні варіанти, однак найчастіше використовують: 1) визначення за графічною залежністю; 2) визначення із застосуванням калібрувальних коефіцієнтів.

*Перший варіант* полягає у приготуванні штучних газових сумішей з відомою концентрацією аналізованого компонента і побудові графічної залежності кількісного параметру хроматографічного піку ( $P$ ) від концентрації ( $C$ ) при постійній величині проби за результатами їх хроматографування. Далі визначають характеристики піку речовини в суміші, що аналізується, і за графічною залежністю знаходять концентрацію аналізованої речовини.

Хроматографісти зазвичай використовують *другий варіант*. Коли залежність сигналу детектора від концентрації *лінійна* і проходить через початок координат, можна розрахувати *калібрувальний коефіцієнт* ( $k$ ) при хроматографуванні суміші відомого складу безпосередньо перед аналізом досліджуваної суміші:

$$k_i = \frac{C_i}{P_i} , \quad (2.37)$$

де  $P_i$  – висота або площа піку при хроматографуванні калібрувальної суміші з концентрацією  $C_i$  для визначуваного  $i$ -того компоненту. Величина  $k_i$  залежить від властивостей речовини, конструкції і режиму роботи хроматографа, тому методом абсолютного калібрування можна користуватися при можливості

підтримування стабільного режиму роботи хроматографа і введення однакового об'єму проби та калібрувальних сумішей.

Невідому *концентрацію* компонента можна визначити за формулою:

$$C_i = k_i \cdot P_i . \quad (2.38)$$

Якщо залежність кількісного параметра від концентрації компонента нелінійна, то необхідно будувати калібрувальний графік.

Найважливішими *вимогами* до виконання кількісного аналізу за методом абсолютного калібрування є точність і відтворення дозування проби та дотримання постійності умов хроматографування при калібруванні приладу і при аналізі.

Цей простий і точний метод не вимагає розділення всіх компонентів суміші і може обмежуватись лишень тими, визначення яких необхідне в конкретному випадку. Метод використовується в основному в тих випадках, коли проводяться серійні аналізи однотипних проб по незмінній методиці, причому потрібно визначати не всі, а лише деякі компоненти проби. Він є основним методом хроматографічного визначення мікродомішок, що є нормованими в рутинному аналізі об'єктів навколишнього середовища. Застосовується також для хроматографічного контролю технологічних процесів, коли постійно потрібно визначати вміст небагатьох речовин (цільового продукту і інших реагентів). Недоліком цього методу є тривалість попередньої підготовки до виконання аналізів.

При аналізі *сумішей рідин* чи *твердих* зразків, коли практично неможливо ввести двічі однакову кількість проби мікрошприцем, використовують непрямі (відносні) методи калібрування: *метод внутрішнього стандарту і метод внутрішньої нормалізації*.

Рідкі проби об'ємом 1-10 мкл вводяться мікрошприцами, які не забезпечують постійності об'єму проб, тому метод абсолютного калібрування для точного аналізу рідин не використовується. У цьому випадку користуються *методом відносного калібрування (внутрішнього стандарту)*. Метод

внутрішнього стандарту використовують в тих випадках, коли потрібно визначити тільки деякі компоненти багатокомпонентної суміші. Метод дає правильні результати навіть при аналізі проб, які випаровуються тільки частково, а також при використанні селективних детекторів, коли деякі компоненти проби не реєструються детектором.

Цей метод передбачає додавання до визначеної кількості  $m_{np}$  аналізованої суміші відомої кількості  $m_{cm}$  *внутрішнього стандарту (мітки)* – речовини, яка не міститься в досліджуваному зразку. *Принцип методу* полягає у співставленні деякого параметру хроматографічного піку  $P$  (площі, висоти піку чи добутку висоти на час утримання) визначуваного компоненту з аналогічним параметром  $P_{ст.}$  стандартної сполуки (мітки), яка додається у відомій кількості до проби.

При аналізі суміші масою ( $m_{np}$ ) невідомого складу, до якої додають відому кількість стандартної речовини ( $m_{cm}$ ) і хроматографують, масові частки компонентів проби розраховують за формулою:

$$\omega_i = \frac{k_i P_i m_{cm}}{P_{cm} m_{np}} \cdot 100\% , \quad (2.39)$$

де  $P_i, P_{cm}$  – кількісні параметри піків  $i$ -го компонента та речовини стандарту,

$k_i$  – нормувальний коефіцієнт, який дорівнює відношенню чутливостей хроматографа до компонента і речовини стандарту.

*Нормувальний коефіцієнт* розраховують з хроматограми модельної суміші, яка містить відомі концентрації компонентів ( $\omega_i$ ) та речовини стандарту ( $\omega_{cm}$ , % мас):

$$k_i = \frac{\omega_i P_{cm}}{P_i \omega_{cm}} . \quad (2.40)$$

Стандартна речовина повинна відповідати таким вимогам:

- 1) повинна добре змішуватися з пробною;

- 2) повинна бути абсолютно інертною;
- 3) не повинна містити багато домішок ( не більше 1-2%);
- 4) повинна бути індивідуальною сполукою. Зазвичай її вибирають з числа сполук, близьких до досліджуваної за структурою і леткістю. Це виключає неоднаковий вплив умов досліду на параметри піків стандарту і визначуваних речовин. Пік стандартного компонента має повністю відділятися від піків усіх інших компонентів.

Переваги методу безсумнівні:

- не потрібне точне дозування проби при її введенні в хроматограф;
- не потрібне дотримання постійності умов хроматографування;
- не потрібна попередня ідентифікація всіх компонентів проби;
- отримувані результати мають високу точність.

Однак використання методу в деяких випадках затруднене або неможливе.

Інші методи використовують, якщо:

- детектор дає нелінійний відгук;
- потрібно визначати всі компоненти складної проби;
- небажані затрати часу на підготовку проби і попередній розрахунок калібрувальних коефіцієнтів.

Метод *внутрішньої нормалізації* використовується за умови, коли всі компоненти аналізованої проби розділяються, потрапляють в детектор і дають там електричний сигнал. У методі сума площ всіх хроматографічних піків аналізованої суміші прирівнюється до 100% і за величинами площ окремих компонентів визначають їх відсотковий вміст у аналізованій суміші. Таким чином, цей метод дозволяє встановити лише відносний вміст компонентів в суміші. Сума концентрацій всіх компонентів проби дорівнює 100 %. Для  $n$ -компонентної суміші можна записати:

$$\sum_{i=1}^n C_i = 100\% . \quad (2.41)$$

З врахуванням рівняння  $C_i = k_i \cdot P_i$  , одержимо:



$$k_1P_1 + k_2P_2 + k_3P_3 + \dots + k_nP_n = 100\% . \quad (2.42)$$

Концентрація  $i$ -того компоненту визначається за формулою:

$$C_i = \frac{k_iP_i}{k_1P_1 + k_2P_2 + \dots + k_nP_n} \cdot 100\% . \quad (2.43)$$

Розділивши чисельник і знаменник дробу на калібрувальний коефіцієнт однієї з речовин, яку приймають за стандарт, одержимо:

$$C_i = \frac{\frac{k_i}{k_{cm}} \cdot P_i}{\frac{k_1P_1 + k_2P_2 + \dots + k_nP_n}{k_{cm}}} \cdot 100\% . \quad (2.44)$$

Множники перед величиною піків окремих компонентів називаються *нормувальними*. Вони відображають різну чутливість детектора до цих речовин в порівнянні зі стандартом, тобто:

$$f_i = \frac{k_i}{k_{cm}} . \quad (2.45)$$

Нормувальний множник речовини, вибраної як стандарт, дорівнює 1.

Концентрацію будь-якого компонента аналізованої суміші визначають за формулою:

$$C_i^x = \frac{f_iP_i^x}{f_1P_1^x + f_2P_2^x + \dots + f_nP_n^x} \cdot 100\% . \quad (2.46)$$

Нормувальні множники речовин відносно стандартної речовини знаходять експериментально, хроматографуючи модельні суміші з відомими концентраціями компонентів, за формулою:

$$f_i = \frac{C_i \cdot P_{cm}}{C_{cm} \cdot P_i} \quad (2.47)$$

Метод внутрішньої нормалізації дає вірні результати тільки при виконанні певних умов:

- 1) проба повністю випаровується в дозувальному пристрої;
- 2) всі компоненти проби повністю елюють із розділювальної колонки;
- 3) всі компоненти реєструються детектором;
- 4) піки на хроматограмі добре розділені;

- 5) всі компоненти хроматограми наперед ідентифіковані, тобто відомо, якій сполуці відповідає кожний пік на хроматограмі;
- 6) для всіх компонентів відомі специфічні коефіцієнти, які враховують чутливість детектора до різних речовин.

*Перевага* методу внутрішньої нормалізації полягає у виключенні необхідності точного дозування проби. *Недоліком* методу є те, що всі компоненти суміші повинні розділятися, і для них всіх треба визначити нормувальні множники.

Метод внутрішньої нормалізації широко використовується в хроматографічному аналізі багатокомпонентних сумішей; зазвичай ним користуються, коли необхідно дізнатись повний склад суміші. При визначенні одиничних компонентів проби краще використовувати інші методи кількісного аналізу (внутрішнього стандарту, абсолютного калібрування).

### **Контрольні запитання і задачі**

1. Які аналітичні задачі розв'язують на основі теорії хроматографічного аналізу?
2. Поясніть суть лінійної, нелінійної, ідеальної та неідеальної хроматографії. Що таке "лінійна неідеальна хроматографія"?
3. Наведіть основне рівняння лінійної ідеальної хроматографії та поясніть фізичний зміст величин, які до нього входять.
4. Від яких параметрів і як залежить лінійна швидкість переміщення речовини в хроматографічній колонці згідно з положеннями лінійно- ідеальної хроматографії? Яким рівнянням виражають відносну швидкість переміщення речовини в хроматографічній колонці та від яких параметрів вона залежить? Як пов'язані відносні швидкості переміщення двох речовин з їх коефіцієнтами Генрі (розподілу)?

5. Від яких параметрів залежать утримуваний об'єм та час утримування  $t_r$ ? Як пов'язані між собою виправлені об'єми утримування та коефіцієнти Генрі (розподілу) двох речовин?

6. Розгляньте зв'язок між типом ізотерми адсорбції та формою кривої елюювання. За якого типу ізотерми адсорбції розділення речовин є найефективнішим?

7. Чому у хроматографічну колонку можна вводити лише малі кількості речовини? На які параметри хроматограми впливає введення у колонку великої кількості речовини?

8. У чому полягає суть теорії еквівалентних тарілок? Як розраховують число теоретичних тарілок  $n$  та висоту  $H$ , еквівалентну теоретичній тарілці (BETT)?

9. Від яких факторів залежать величини  $n$  і  $H$ ? Поясніть, чому в разі послідовного елюювання речовин із колонки в міру збільшення утримуваного об'єму  $V_R$  (або часу утримування  $t_r$ ) відбувається розмивання кривих елюювання?

10. Яка причина розмивання хроматографічного піка найважливіша?

11. Чи залежить величина  $H$  даної колонки від хімічної природи адсорбату?

12. У чому суть дифузійної (кінетичної) теорії? Яку залежність описує рівняння Ван Деемтера?

13. Вплив яких параметрів на ефективність колонки враховує дифузійна теорія на відміну від теорії теоретичних тарілок?

14. За якого виду хроматографії поздовжня дифузія має найбільше значення і чому?

15. Як визначають критерій розділення  $R_s$ , селективність  $\alpha$  та коефіцієнт ємності колонки  $k'$ ? Напишіть рівняння, що пов'язує ці величини. За яких значень  $R_s$  розділення двох речовин є повним?

16. Якими основними величинами визначається роздільна здатність хроматографічної колонки?

17. Якими параметрами характеризують селективність розділення?

18. Якими параметрами характеризують ефективність хроматографічної колонки?

19. Наведіть рівняння для розрахунку оптимальної довжини хроматографічної колонки, що забезпечує повноту розділення речовин. Які з величин, що входять у це рівняння, найбільше впливають на ефективність розділення?

20. Розрахуйте утримувані об'єми речовин А і В з коефіцієнтами Генрі 12,5 і 22,3 відповідно на хроматографічній колонці з вільним об'ємом 0,8 мл та об'ємом адсорбенту 6,0 мл. Відповідь:  $V_R(A) - 75,8 \text{ мл}$ ;  $V_R(B) - 134,6 \text{ мл}$ .

21. На хроматографічній колонці дві речовини мають коефіцієнти розподілу 10 і 15. Об'єм нерухомої фази – 0,5 мл, рухомої – 1,5 мл, швидкість подачі рухомої фази – 0,5 мм/хв. Обчисліть утримувані об'єми і часи утримування цих речовин. Відповідь: 6,5 мл; 9,0 мл; 13 хв; 18 хв.

22. На колонці довжиною 15 см для речовини А отримано криву елюювання з такими параметрами: час утримування 3,40 хв, ширина кривої на половині її висоти 0,80 хв. Розрахуйте число теоретичних тарілок і висоту, еквівалентну теоретичній тарілці. Відповідь: 100; 0,15 см.

23. На колонці довжиною 10 см, для якої висота, еквівалентна теоретичній тарілці, дорівнює 0,5 см, утримувані об'єми двох речовин дорівнюють відповідно 3,0 і 15,0 мл. Знайдіть критерій розділення  $R_s$  і зробіть висновок про повноту розділення цих речовин. Відповідь: 0,68; неповне розділення.

24. Максимуми на кривих елюювання двох речовин із колонки довжиною 20 см і висотою, еквівалентною теоретичній тарілці, 0,20 см становлять 2,0 і 4,0 хв. Обчисліть критерій розділення  $R_s$  і зробіть висновок про повноту розділення цих речовин. Відповідь: 1,67; розділення повне.

25. З колонки з вільним об'ємом 2,6 мл елюювали речовину А і знайшли, що величина утримуваного об'єму становить 13,5 мл. Обчисліть коефіцієнт ємності колонки. Відповідь: 4,19.

26. Чи буде повним розділення двох речовин із коефіцієнтами розподілу 6,8 і 10,2 на колонці з числом теоретичних тарілок 80 і коефіцієнтом ємності 35? Відповідь: розділення буде неповним ( $R_s=0,72$ ).

### **2.3. Газова хроматографія**

*Газова хроматографія* об'єднує всі хроматографічні методи аналізу, в яких рухомою фазою є газ, а компоненти суміші, що аналізується, подаються на колонку в газо- або пароподібному агрегатному стані. При цьому розподіл молекул речовини між нерухомою фазою сорбенту та газуватою рухомою фазою може ґрунтуватися на їх адсорбції на поверхні твердого сорбенту або розчиненні в рідкій нерухомій фазі, закріпленій на пористому твердому носії. У першому випадку йдеться про газоадсорбційну хроматографію, в другому – про газорідинну.

Основоположними роботами з газової хроматографії були: розробка у 1951 р. радянськими вченими під керівництвом А.А.Жуховицького і К.О.Гольберта методу хроматермографії, що ґрунтується на різній зміні здатності газів до сорбції зі зміною температури; розробка газорідинної хроматографії у 1952 р. англійськими вченими А.Джеймсом і А.Мартіном. А.Мартін та Р.Сінг ще у 1942 р. передбачили можливість використання газу як рухомої фази.

#### **2.3.1. Загальні положення. Рухома фаза у газовій хроматографії**

Газова хроматографія є одним із найефективніших і найпоширеніших методів розділення та визначення хімічних сполук, особливо органічних, які можуть перебувати в газо- або пароподібному стані за температури до 300-400 °С.

Успішне використання газової хроматографії пояснюється її значними перевагами перед іншими методами аналізу. Передусім газовій хроматографії притаманна висока роздільна здатність, зумовлена можливістю використання капілярних колонок довжиною до декількох десятків метрів і діаметром 0,2-1 мм, а також можливість проведення аналізу як в ізотермічному, так і в програмованому термічному режимах. Використання щільно упакованих набивних колонок малого діаметру, а також капілярних колонок із тонким шаром нерухомої рідкої фази, тобто невеликих об'ємів  $V_a$  і  $V_0$  значно прискорює аналіз. За експресністю аналізу багатокомпонентних сумішей газова хроматографія поза конкуренцією. Наприклад, жодним іншим методом неможливо протягом 1 год проаналізувати нафтопродукти, що складаються з багатьох десятків компонентів. Газова хроматографія є універсальним методом аналізу, який дає змогу розділяти й кількісно визначати різні суміші, включаючи низькокиплячі газоподібні сполуки та суміші рідких і твердих речовин. До них належить надзвичайно багато органічних речовин, а також значна кількість простих і складних неорганічних сполук, таких як галогени, кислотні оксиди,  $\beta$ -дикетонати металів тощо. У деяких галузях промисловості, наприклад у нафтохімічній і газовій, до 90-100 % хімічних аналізів виконують газохроматографічним методом.

Нарешті, потрібно зазначити високу чутливість газохроматографічного аналізу ( $10^{-9}$  -  $10^{-12}$  г/см<sup>3</sup>), потребу малої кількості проби для аналізу (0,1 мг і менше), хорошу відносну точність (0,1-1 %) та можливість автоматизації.

До речовин, які можна визначати методом газової хроматографії, ставлять такі вимоги:

- мають бути леткими; зазвичай це сполуки з молекулярною масою не більше 400-500;
- мають бути термостійкими, тобто при переведенні в газоподібний стан вони не повинні руйнуватися.

*Рухома фаза.* Рухому фазу у газовій хроматографії інакше називають *газ-носієм*, чим підкреслюють не тільки хімічну, а й адсорбційну інертність рухомої фази, тобто відсутність з її боку впливу на селективність розділення.

Вибір газу-носія зумовлений двома важливими факторами: ефективністю і чутливістю колонки, а також принципом детектування. Можливість застосування газу як газу-носія визначається його фізичними і хімічними властивостями: хімічною інертністю, сорбційними властивостями, коефіцієнтом дифузії, в'язкістю.

До газу-носія ставляться такі основні вимоги:

1. Повинен забезпечувати необхідні дифузійні характеристики, які визначають ефективність колонки.
2. Відповідати необхідній чутливості і принципу дії детектора.
3. Бути інертним по відношенню до нерухомої фази, речовин, що аналізуються та матеріалу колонки і детектора.
4. Володіти якнайменшою здатністю до сорбції.
5. Бути достатньо чистим, легко доступним і мати невисоку вартість.
6. Мати якомога меншу в'язкість, щоб підтримувати невеликий градієнт тиску в колонці; вибухобезпечність.

Це достатньо жорсткі вимоги, тому в якості *газів-носіїв* використовують досить обмежений асортимент газів: гелій, азот, водень, аргон, оксид (IV) вуглецю, рідше повітря, неон, криптон, метан, і в останній час – водяну пару. Газ-носії вибирають залежно від класу органічних сполук, які мають розділяти, і застосовуваного детектора. Наприклад, недоцільно вибирати азот або повітря у випадку детектора за теплопровідністю, оскільки ці гази мають низьку теплопровідність і чутливість детектора буде невисокою. В цьому детекторі як газ-носії можна застосувати гелій, найкраще водень, тому що він має найвищу теплопровідність.

Водень має малу в'язкість, що дає змогу використовувати його під час роботи з довгими колонками, оскільки гідравлічний опір тут буде значно

нижчим, ніж у разі застосування інших газів. При роботі з воднем треба пам'ятати, що цей газ є вибухонебезпечним, і дотримуватись правил техніки безпеки, зазначених в інструкції до газового хроматографа.

Не можна елюювати ненасичені вуглеводні воднем в умовах, які допускають можливість гідрування, так як це призводить до неправильних результатів аналізу.

Найдорожчим із перелічених газів є гелій, дешевими – азот і повітря.

### **2.3.2. Вплив різних факторів на хроматографічне розділення суміші речовин**

*Селективність і тривалість розділення у газовій хроматографії.* Як уже зазначалось, впливом рухомої фази на селективність розділення речовин, тобто на значення характеристик утримування, у газовій хроматографії можна нехтувати. Впливати на селективність можна добором селективного сорбенту, або для певної колонки, зміною її температури під час аналізу, тобто застосуванням режиму програмування температури.

Тривалість розділення речовин (значення часів утримування) у газовій хроматографії залежить від температури і площі поверхні сорбенту. Відомо, що адсорбція тим більша, чим більша площа поверхні сорбенту. Отже, зменшивши площу поверхні, можна зменшити адсорбцію на вузькій ділянці нерухомої фази. Це призведе до прискорення проходження компонента суміші крізь сорбент, а отже до скорочення тривалості аналізу.

З підвищенням температури адсорбція зменшується. При цьому зменшується коефіцієнт розподілу речовини і виправлений час утримування. Отже, зменшити утримувані об'єми речовин, які сильно адсорбуються, можна підвищенням температури колонки або /і зменшенням питомої поверхні сорбенту.



*Вплив швидкості потоку і тиску газу-носія на ефективність розділення.* З раніше виведених залежностей відомо, що ефективність колонки має складну залежність від *швидкості потоку* газу-носія, і що існує оптимальна швидкість, яка відповідає мінімальному значенню  $H$  – *BETT*. Тому для успішного проведення експерименту з розділення суміші речовин необхідно вибрати швидкість потоку, яка відповідає мінімуму значення  $H$ . Оптимальна швидкість газу-носія встановлюється експериментально.

Звичайний хроматографічний дослід проводиться при середньому тиску, який трохи перевищує атмосферний. Підвищення тиску приводить до зменшення  $H$ , і відповідно, сприяє покращенню ефективності колонки. Підвищення тиску викликає додатковий ефект, зв'язаний з міжмолекулярною взаємодією речовин суміші з газом-носієм, і газ-носії не тільки переносять речовину, а й впливає на коефіцієнт Генрі і величину об'єму утримання. Підвищуючи тиск, можна підібрати такі умови дослідів, які збільшать селективність нерухомої фази за рахунок зміни коефіцієнта Генрі. Застосування вакууму також сприяє в певних умовах кращому розділенню суміші речовин. Тому можливість *зміни тиску газу-носія* в широких межах, від вакууму до тиску в декілька сотень і навіть тисяч атмосфер, дозволяє вибрати оптимальні умови проведення дослідів.

*Хроматографія з програмуванням температури.* Температура – один з основних факторів у газовій хроматографії, який визначає тривалість розділення, селективність колонки, розмиття смуг. Для речовин із близькою полярністю послідовність елюювання корелює з їхніми температурами кипіння.

Кожна пара речовин добре розділяється за деякої певної температури. Суміш речовин, які киплять у широкому діапазоні температур, розділити за сталої температури колонки складно, а часом неможливо. Наприклад, за низьких температур добре розділяються легкі компоненти, однак час елюювання сполук гомологічного ряду експоненціально зростає і загальна

тривалість аналізу стає значною. В міру підвищення температури, коли важкі компоненти елюються відносно швидко, розділення легких компонентів погіршується (особливо за суттєвої інерційності детектора). Легкі компоненти можуть взагалі не розділитися. Цей недолік можна усунути зміною сорбційної ємності в ході розділення за допомогою підвищення температури колонки за заданим законом.

Температура суттєво впливає як на коефіцієнт Генрі, відповідно на селективність сорбента, так і на коефіцієнт дифузії. З підвищенням температури зростає швидкість дифузійних процесів, які, залежно від визначальних стадій, можуть як збільшувати, так і зменшувати ефективність колонки. Зниження температури збільшує сорбційні здатності компонентів, тобто степінь розділення, але також збільшує тривалість аналізу. Тому оптимальна температура вибирається експериментально для кожної суміші компонентів, і повинна забезпечувати відсутність конденсації пари всіх компонентів та необхідне значення критерію розділення.

Хроматографічне розділення у більшості випадків проводиться в *ізотермічному режимі* – при постійній температурі впродовж всього дослідження і по всій довжині колонки. В газових хроматографах для забезпечення ізотермічного процесу колонку поміщають в термостат.

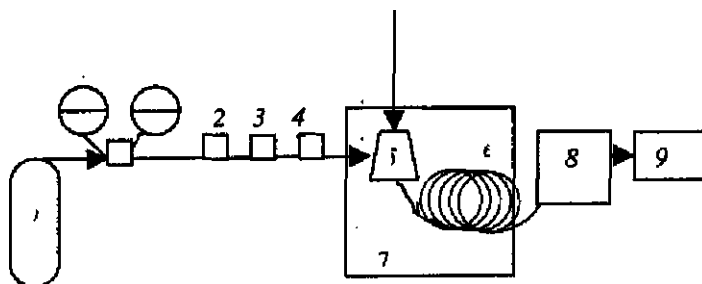
У випадку аналізу сумішей, температури кипіння компонентів яких знаходяться в широкому діапазоні, найдоцільніше проводити розділення при поступовій зміні температури за певною програмою – у *програмованому режимі*.

Якщо процес починається при порівняно низьких температурах, то сорбованість більшості компонентів велика і швидкість їх хроматографічних зон в шарі сорбента мала. Із збільшенням температури внаслідок зменшення сорбованості і, відповідно, збільшення швидкості зон із колонки будуть виходити все більш важкі компоненти суміші.

Однак у хроматографії з програмуванням температури вибір нерухомих рідких фаз із необхідною термічною стійкістю є обмеженим через застосування високих температур.

### 2.3.3. Основні блоки газового хроматографа

Прилади, за допомогою яких виконується колонкове хроматографічне розділення сумішей і їх аналіз, називаються *хроматографами*.



**Рис. 10.** Схема газового хроматографа: 1 – балон зі стисненим газом; 2 – регулятор витрати газу; 3 – вимірювач витрати газу; 4 – фільтр; 5 – дозатор-випарник; 6 – хроматографічна колонка; 7 – термостат; 8 – детектор; 9 – пастка.

Інертний газ-носіє (рухома фаза) з балона 1 через регулятор тиску 2, вимірювач витрат (швидкості подачі) газу 3 та фільтр 4 потрапляє в дозатор-випарник (інжектор) 5, куди вводиться за допомогою шприца рідка або газоподібна проба. У дозаторі-випарнику створюється така температура, за якої компоненти проби, що аналізується, перебувають в газоподібному або пароподібному стані. Далі під дією газу-носія компоненти проби переносяться у хроматографічну колонку 6, яка знаходиться в термостаті 7 і безперервно "промивається" потоком газу-носія з оптимальною швидкістю. Після розділення в колонці компоненти проби потрапляють у детектор 8. Усіма блоками сучасного хроматографа керує спеціальне програмне забезпечення, встановлене у комп'ютері. На виході з хроматографічної колонки іноді прилаштовують поглинач газів – "пастку" 9.

Конструкція газових хроматографів забезпечує етапу швидкості подачі газу-носія та сталу або змінну за певною програмою температуру колонки.

Для виконання газохроматографічного аналізу хроматограф спочатку виводять на сталий режим роботи, створенням сталої швидкості подачі газу-носія в колонку, певної її температури, а також стабільності подачі необхідних газів у *детектор*. Потім за допомогою шприца вводять пробу. При цьому температура дозатора-випарника має забезпечувати практично миттєвий перехід проби з рідкого стану в пароподібний. При проходженні газу-носія крізь колонку компоненти проби у вигляді окремих зон потрапляють в елюат і на екрані комп'ютера реєструються відповідні криві елюювання. Якісний і кількісний аналіз виконують на основі кривих елюювання.

*Введення проби, дозатори.* Пробу можна вводити вручну за допомогою шприца у *дозатор-випарник* шляхом "проколу" гумової або іншої еластичної прокладки або *пробовідбірником* (автосамплером) – пристроєм, який сам відбирає і вводить пробу. Введення проби автосамплером забезпечує вищу ефективність (нерозмивання проби на вході в колонку) і автоматизацію аналізу. Дозатор (інжектор) – посудина з мембраною, з'єднана з початком колонки.

Газоподібна (1-6 см<sup>3</sup>) або рідка (0,5-20 мкл) проба вводиться за допомогою шприца чи дозатора спеціальної конструкції – багатоходового крана з "петлею", який дозує пробу відповідно до об'єму "петлі". Дозатор-випарник нагрівається до температури, при якій рідка проба повністю випаровується. Тому температура дозатора перевищує температуру колонки. Дозатори спеціальних конструкцій забезпечують випарювання твердих проб. Радіоактивні речовини вводять у запаєних ампулах, які розбиваються в дозаторі.

У разі роботи з капілярною колонкою, коли проба має бути дуже малою, до дозатора приєднують дільник потоку, за допомогою якого значна частина проби викидається в атмосферу.

*Розмір проби.* Кількість проби для аналізу зв'язана з продуктивністю і ефективністю колонки, а також з чутливістю детектора. Чим більша маса або об'єм проби, тим більший сигнал детектора і тим більша чутливість

хроматографа, але дуже велика проба викликає перевантаження колонки, спотворення форми піків і зменшує ефективність розділення. Величина проби повинна бути такою, щоб компоненти, які необхідно розділити, вміщалися на одній теоретичній тарілці колонки. В основному об'єм газової проби складає 0,1-10 мл, об'єм рідкої проби – 0,0005-0,1 мл.

*Хроматографічні колонки.* Призначені для розділення багатокомпонентної суміші на бінарні суміші газу-носія з розділеними компонентами аналізованої суміші. Колонки характеризуються наступними параметрами:

$L$  – довжина колонки чи довжина шару сорбента, см;

$S$  – площа поперечного перерізу,  $\text{см}^2$ ,

$\chi$  – частка вільного об'єму колонки (об'єм, що займає газ-носії і об'єм пор твердої фази);

$\chi_1$  – частка об'єму, який займає сорбент (рідка фаза для газорідинної хроматографії і тверда фаза – для газоадсорбційної);

$V_p$  – об'єм нерухомої рідкої фази,  $\text{см}^3$ ,  $V_p = \chi_1 \cdot L \cdot S$ ;

$V_g$  – об'єм газової фази,  $\text{см}^3$ ,  $V_g = \chi \cdot L \cdot S$ ;

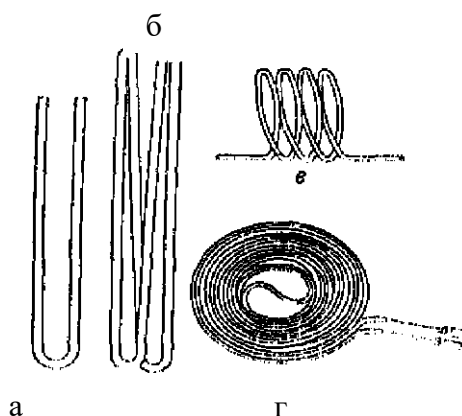
$V_{\text{тв.}}$  – об'єм твердого носія (адсорбента),  $\text{см}^3$ .

Інколи розділення компонентів повинно проходити при підвищених температурах. У цьому випадку блок хроматографічних колонок комплектується системою термостатування.

*Матеріал, розміри і форма колонок.* Матеріал колонок має бути інертний до речовин, з яких складається проба. Найчастіше їх виготовляють з нержавіючої сталі, міді, алюмінію, латуні, скла, кварца і тефлона.

Хроматографічні колонки різних довжин і діаметрів (рис. 11) виготовляють із матеріалів, які не взаємодіють з газом-носієм і компонентами проби. Наповнюють колонки твердими адсорбентами або нерухомими рідкими фазами, адсорбованими на твердих носіях, у заводських умовах із забезпеченням максимальної щільності й рівномірності їх упакування. Колонки застосовують *набивні аналітичні* (довжиною 20 см-20 м, внутрішнім діаметром

3-6 мм, кількістю теоретичних тарілок 500-20 000) і *препаративні* (довжиною 1-20 м, внутрішнім діаметром 10-100 мм, кількістю теоретичних тарілок 500-10 000), *капілярні* (довжиною 20-150 м, внутрішнім діаметром 0,25-0,5 мм, кількістю теоретичних тарілок до 1000000). Довжина колонки повинна бути такою, щоб забезпечити необхідне розділення компонентів, і вибирається експериментально. В основному буває достатньо 1-3 м. *Термостат* колонок може підтримувати температуру від -60 до 450 °С і змінювати її при програмуванні зі швидкістю 1-120 °С/хв.



**Рис. 11.** Газохроматографічні колонки: *а* – U-подібна; *б* – W-подібна; *в* – спіральна; *г* – плоскоспіральна.

Зручною формою хроматографічної колонки є спіральна, бо дозволяє найкомпактніше розмістити її у термостаті. Однак треба мати на увазі, що для досягнення високої ефективності, діаметр спіралі не повинен бути меншим

певної величини, яка пов'язана з внутрішнім діаметром колонки :  $\frac{d_{\text{спір.}}}{d_{\text{кол.}}} \geq \frac{d_{\text{кол.}}}{d_{\text{зерна}}}$

Діаметр зерен нерухомої фази повинен бути в 8-10 разів менший ніж діаметр колонки.

Спіральні колонки при заповненні сорбентом для однорідності упаковки рекомендується випрямляти.

*Детектори.* Одним із найважливіших блоків хроматографічної колонки є *детектор* – прилад, функція якого полягає в безперервній фіксації залежності концентрації, потоку чи кількості речовини на виході з колонки від часу.

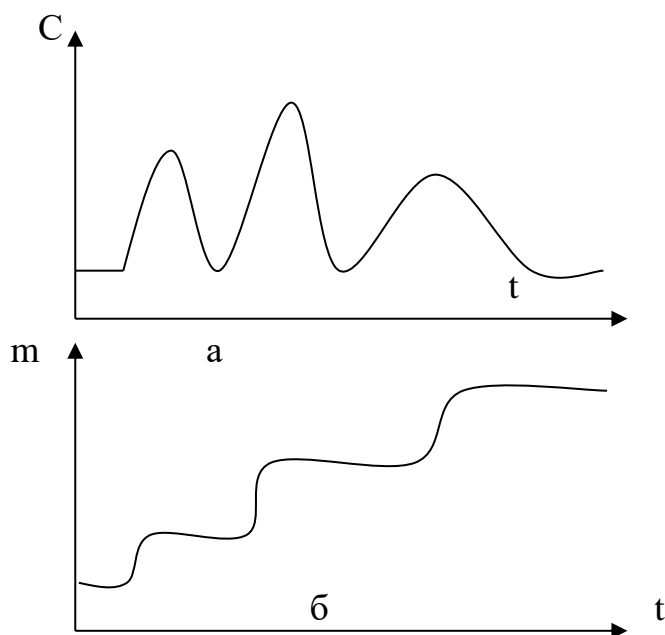
Найпоширенішою є класифікація детекторів на 2 типи:

1. Диференційні – передають миттєво значення концентрації чи потоку в часі. Їх поділяють в свою чергу на:

а) *потокові* – фіксують добуток концентрації на швидкість потоку. *Потокові* детектори є деструктивними, молекули в них реагують і перетворюються на іони. Сигнал детектора пропорційний кількості молекул, яка досягла вимірювального елемента детектора за одиницю часу. Межа визначення виражається в одиницях маса/час (г/с);

б) *концентраційні* – фіксують зміну концентрації на виході з колонки. *Концентраційні* детектори не деструктивні, їх сигнал пропорційний концентрації речовини в детекторі. Межа визначення виражається в одиницях маса/об'єм (г/дм<sup>3</sup>, г/см<sup>3</sup>).

2. Інтегральні – сумують кількість речовини за певний проміжок часу, передають загальну кількість речовини, що пройшла через детектор.



**Рис. 12.** Хроматограми: а – диференційна, б – інтегральна.

На рис. 12 показані форми запису величини сигналів в диференційному (а) і інтегральному детекторі (б) в координатах час – величина сигналу. В інтегральному детекторі – це ступенева крива, в якій висота ступені

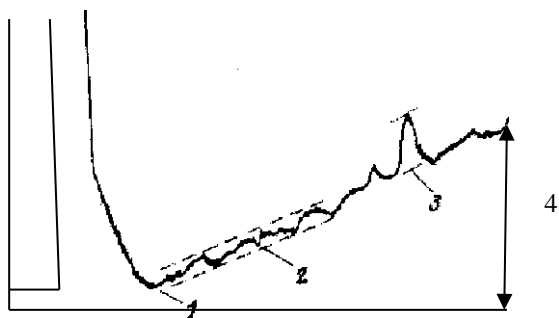
пропорційна масі речовини, що виходить з хроматографічної колонки за одиницю часу. В диференційному – крива у вигляді хроматографічного піку, кількість речовини, що виходить з хроматографічної колонки за одиницю часу, пропорційна площі хроматографічного піку.

При кількісних вимірах за хроматограмами необхідно враховувати належність диференційного детектора до певного типу. Належність диференційного детектора до концентраційного чи потокового типу встановлюють, вимірюючи залежність його показів від швидкості газу-носія. В концентраційному детекторі площа хроматографічного піку залежить від швидкості газу-носія, а в потоковому – не залежить. Тому в концентраційних детекторах концентрацію речовини треба розраховувати за висотою хроматографічного піку, а в потоковому – за площею піку.

Детектори поділяють також на універсальні і селективні. *Універсальні* детектори реєструють властивість, яку мають усі речовини, *селективні* – вимірюють властивість, притаманну певному виду молекул.

*Характеристики детектора.* Для практичного використання найважливішими характеристиками детектора є межа визначення, чутливість, лінійний динамічний діапазон.

Рис. 13 ілюструє сенс чотирьох параметрів, від яких залежать точність і чутливість визначення: швидкість коливання нульової лінії (високочастотний шум), "блукання" (низькочастотний шум), дрейф і межа визначення.



**Рис. 13.** Параметри, які характеризують стабільність нульової лінії: 1 – шум; 2 – низькочастотний шум; 3 – межа визначення; 4 – дрейф



*Високочастотним* називають шум (рис. 13, 1), частота якого набагато більша за частоту зміни параметра, що вимірюється. Такий шум зазвичай можна усунути за допомогою відповідних фільтрів. Низькочастотним шумом (рис. 13, 2) або "*блуканням*" називають зміни сигналу, що відбуваються за час, зіставний з часом вимірюваної події (в цьому разі з часом виходу хроматографічного піка). Величина такого шуму дорівнює середній відстані між верхнім і нижнім максимальними відхиленнями нульової лінії на відрізку, який дорівнює ширині піка.

*Дрейф* (рис. 13, 4) – це спрямоване в один бік повільне зміщення нульової лінії, що відбувається протягом тривалого часу. Дрейф ускладнює кількісні вимірювання, але зазвичай його можна контролювати, оскільки він пов'язаний з режимом роботи хроматографа. Причинами дрейфу як правило є зміни температури блока введення проби, колонки або детектора або повільні зміни складу рухомої фази, наприклад у результаті виділення летких речовин з гумової мембрани блоку введення проби, іншою причиною дрейфу, особливо під час роботи з високочутливими детекторами типу ЕЗД, може бути насичення поглинаючого патрона в системі очищення газу-носія. При роботі за високої чутливості часто спостерігається низькочастотний шум, що є хаотичним коливанням нульової лінії з періодом такого ж порядку, як і ширина піка. Причиною цього явища можуть бути теча в ущільниках колонки, коливання напруги у мережі, тощо.

Отже, коливання сигнал/шум залежать від способу їх вимірювання, а також від форми хроматографічного піка та ефективності розділення.

Кожний детектор характеризується такими *основними величинами*:

1) *чутливість*:

$$S_{\text{чутл.}} = \frac{R_c}{\varphi}, \quad (2.48)$$

де  $R_c$  – вихідний сигнал, виникаюча в реєстраторі різниця потенціалів в мВ,

$\varphi$  – вимірювана величина в різних детекторах: концентрація в г/см<sup>3</sup>, потік в мг/с, кількість речовини в мг.

2) *межа детектування* – та концентрація, потік чи кількість речовини, які викликають сигнал  $R_c$ , рівний подвоєнній величині шумів  $R_{ш}$ . Величина шумів – відстань між крайніми положеннями базової лінії на хроматограмі, які виникають внаслідок дії різних посторонніх факторів. Межа детектування рівна:

$$\varphi_0 = \frac{2R_{ш}}{S_{чутл.}} \quad (2.49)$$

Чутливість визначає нижчу межу доступної області концентрацій і точність досліду.

3) *інерційність* – проміжок часу, за який речовина проходить з об'єму камери детектора до чутливого елемента. Залежить від властивостей чутливого елемента і об'єму камери детектора та впливає на форму і висоту хроматографічного піку. Велика інерційність детектора викликає змішування компонентів розділеної в колонці суміші.

Детектор призначений для безперервного визначення концентрації речовин в елюаті, шляхом вимірювання певного фізико-хімічного або фізичного параметра, пропорційного концентрації речовини. Від детектора залежить чутливість і точність виконаного за допомогою газового хроматографа аналізу. На сьогодні для газової хроматографії запропоновано понад 50 типів детекторів, різних за принципом дії, чутливістю і практичним призначенням детектори. Розглянемо найважливіші типи детекторів.

В детектор поступають бінарні суміші компонентів проби з газом-носієм, тому принцип детектування може ґрунтуватися на вимірюванні будь-якої фізичної властивості компонентів, яка відмінна від властивостей газу-носія, або специфічних властивостей речовин. У газовій хроматографії використовуються такі основні *принципи детектування*:

1. Залежність теплопровідності газової суміші від її складу (детектор за теплопровідністю).
2. Тепловий ефект спалювання горючих компонентів на нагрітій до високої температури платиновій нитці (термохімічний детектор).
3. Іонізація органічних сполук у полум'ї водневого пальника (полум'яно-іонізаційний детектор).
4. Іонізація органічних сполук під дією зіткнення з метастабільними атомами аргону, які утворюються від впливу радіоактивного  $\beta$ -випромінювання (аргоновий детектор).
5. Захоплення електронів молекулами органічних сполук (детектор за захопленням електронів).
6. Зменшення іонізації полум'я з атомами лужних металів у присутності фосфор- і галогеновмісних сполук (термоіонний детектор).
7. Залежність густини газової суміші від її складу (детектор за густиною).
8. Специфічне випромінювання фосфор- і сірковмісних сполук у полум'ї водню (полум'яно-фотометричний детектор).
9. Залежність перепаду тиску на діафрагмі від складу газової суміші (діафрагмовий детектор).

Крім цих методів, постійно розробляються нові принципи детектування для забезпечення більшої чутливості аналізу. Найбільш розповсюдженими детекторами є детектори за теплопровідністю і полум'яно-іонізаційні детектори.

*Детектор за теплопровідністю (ДТП)* – катарометр, диференційний концентраційний детектор. Принцип дії детектора ґрунтується на тому, що нагріте тіло втрачає тепло зі швидкістю, яка залежить від теплопровідності оточуючого газу. Тому швидкість теплопередачі може використовуватись для визначення складу газу.

Теплопровідність суміші газів є адитивною функцією і сигнал детектора залежить від різниці теплопровідностей газу-носія і компонента суміші. Для

збільшення чутливості як газу-носія використовують He або  $N_2$ , які мають найбільшу теплопровідність і найбільш відрізняються за коефіцієнтом теплопровідності від компонентів суміші.

Основними елементами комірки по теплопровідності в катарометрі є металічна нитка (W, Pt), згорнута в спіраль і розміщена всередині камери детектора в металічному блоці. Катарометр має 2 камери: через одну (камеру порівняння) пропускають чистий газ-носії, через другу (вимірювальну) – газ, що виходить з колонки. При однакових складах газів в камерах сигнал на клеммах самописця дорівнює 0 і самописець пише базову лінію. При зміні складу газу змінюється характер тепловіддачі нагрітої нитки камери, внаслідок чого змінюється опір відповідного плеча моста. В результаті електрична рівновага моста порушується і на клеммах самописця виникає різниця потенціалів, яка реєструється самописцем.

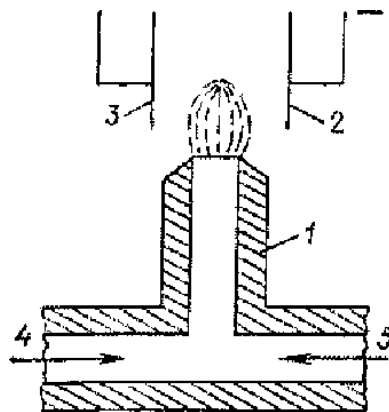
Цей детектор відрізняється простотою конструкції, надійністю і має достатню чутливість ( $10^{-3}$  % об. за пропаном при використанні He як газу-носія). Недоліком детектора є можливість корозії матеріалу провідника при підвищених температурах.

#### *Полум'яно-іонізаційний детектор (ПІД)*

Робота ПІД (рис. 14) основана на тому, що органічні речовини, попадаючи в полум'я водневого пальника, іонізуються, внаслідок чого в камері детектора, який є одночасно іонізаційною камерою, виникає струм іонізації, сила якого пропорційна кількості заряджених частинок. На виході з хроматографічної колонки суміш проходить крізь пальник і згоряє в атмосфері повітря між двома металічними електродами. До електродів прикладається постійна напруга 40-300 В. Якщо з колонки виходить тільки газ-носії (He,  $N_2$ ), полум'я слабо іонізоване і між електродами проходить струм порядку  $10^{-14}$  А. При попаданні з колонки в полум'я органічних сполук, вони іонізуються, внаслідок чого між електродами проходить струм іонізації, сила якого досягає

$10^{-10}$ - $10^{-8}$  А. Іонізаційний струм пропорційний кількості заряджених частинок, а значить і концентрації органічних сполук.

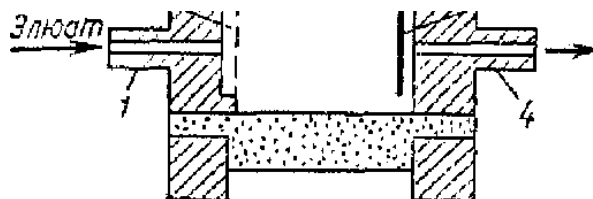
Висока чутливість ПД ( $10^{-4}$  –  $10^{-5}$  %), зробили його найрозповсюдженішим детектором для визначення мікродомішок і для роботи з капілярними колонками. Чутливість ПД пропорційна кількості атомів вуглецю в молекулі вуглеводню. Недоліком ПД є нечутливість його до неорганічних сполук, таких як повітря, оксиди вуглецю, сірки, азоту, фосфору,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , і деяких органічних сполук з карбоксильними чи карбонільними групами –  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $\text{HCOOH}$ .



**Рис. 14.** Схема полуменево-іонізаційного детектора: 1–пальник; 2–колекторний електрод; 3–потенціальний електрод; 4–введення газу з колонки; 5–подача водню

Електронозахоплювальний детектор містить комірку, вкриту радіоактивною речовиною (наприклад, Th), яка дає  $\beta$ -випромінювання (рис. 15). Крізь іонізаційну камеру тече газ-носіє (азот). Молекули азоту при стиканні з  $\beta$ -частинками іонізуються за рівнянням  $\text{N}_2 \leftrightarrow \text{N}_2^+ + e^-$ . Одна  $\beta$ -частинка ініціює до 100 електронів. Внаслідок цього через камеру проходить електричний струм певної сили. На електроди камери подають напругу в інтервалі насичення 10-100 В. Під дією напруги швидкість руху електронів знижується ( $10^5$  см/с). Коли в камеру потрапляють молекули компонента, які мають достатню спорідненість до електрона, електрони можуть захоплюватись ними, в результаті чого утворюються негативно заряджені молекулярні іони.

Струм іонізації знижується. Напруга на електродах змінюється імпульсно, що дає змогу збирати електрони, в той час як важкі іони виносяться через газовідвід з потоком газу-носія.



**Рис. 15.** Схема електронозахоплювального детектора: 1 – анод; 2 – дифузор; 3 – джерело радіоактивного випромінювання, 4 – катод

Детектор нечутливий до вуглеводнів, але чутливий до молекул зі спряженими подвійними зв'язками, до галоген-, нітровмісних сполук та сполук, що містять плюмбум. Його використовують для визначення деяких класів сполук. Застосовувати як газ-носії аргон небажано, оскільки його збуджені атоми можуть викликати побічні явища. Цей детектор високочутливий ( $10^{-14}$  г/с), лінійний діапазон –  $10^2$ .

### 2.3.5. Особливості газоадсорбційної хроматографії. Адсорбенти

Вид нерухомої фази відіграє основну роль у розділенні компонентів суміші, оскільки від його властивості залежить коефіцієнт селективності. Якщо він  $\approx 0$ , то ніяким збільшенням ефективності колонки розділення не досягнути.

У газоадсорбційній хроматографії нерухомою фазою є твердий адсорбент з великою питомою поверхнею ( $10-1000$  м<sup>2</sup>/г), а рухомою – хімічно інертний газ-носії (азот, гелій, аргон, водень тощо).

*Адсорбенти* (нерухома фаза) є тонкодисперсними неорганічними або органічними матеріалами з питомою поверхнею понад  $50$  м<sup>2</sup>/г. Грубодисперсні макропористі адсорбенти мають розміри гранул у межах  $0,01-1,0$  мм і питому площу поверхні  $400-800$  м<sup>2</sup>/г. Розміри гранул високодисперсних адсорбентів, наприклад аеросилів, виготовлених на основі кремнезему, коливаються у межах  $0,1-1,0$  мкм, їх питома поверхня –  $100-700$  м<sup>2</sup>/г. Розрізняють зовнішню і

внутрішню поверхню зерна адсорбенту, на яких відбувається адсорбція. У макропористих адсорбентах основна частка поверхні знаходиться всередині гранул. Швидкість адсорбції речовин на таких адсорбентах визначається в основному дифузією молекул у пори адсорбенту, і тому адсорбційна рівновага встановлюється повільно. Це призводить до розмивання кривих елюювання, тобто до зменшення ефективності розділення речовин. Навпаки, на високодисперсних матеріалах адсорбція відбувається переважно на зовнішній поверхні мікрогранул, і тому адсорбційна рівновага встановлюється значно швидше. Внаслідок цього криві елюювання мають гостру форму, ефективність розділення підвищується. Саме високодисперсні адсорбенти використовують у сучасній вискоефективній рідинній і газовій хроматографії, в якій необхідна швидкість потоку рухомої фази (елюенту) забезпечується підвищенням тиску в хроматографічній системі.

Адсорбенти мають виявляти такі основні властивості:

- хімічну інертність відносно компонентів суміші і рухомої фази;
- відсутність каталітичної активності;
- селективність;
- механічну стійкість;
- лінійність ізотерми адсорбції, що забезпечує сталість утримуваного об'єму за різних концентрацій адсорбату;
- доступність.

Адсорбенти різних типів виявляють неоднакову адсорбційну здатність (селективність) щодо різних хімічних сполук. Однак неможливо встановити однозначний кількісний зв'язок між хімічною будовою речовин та їх здатністю адсорбуватися на різних адсорбентах. Загальноприйнятим є розподіл адсорбентів на дві групи – *полярні* (гідрофільні) та *неполярні* (гідрофобні) органічні й неорганічні. Полярні адсорбенти, такі як силікагель, оксид алюмінію, природні та штучні силікати тощо, виявляють селективність до полярних молекул, а неполярні – графітована сажа, активоване вугілля тощо –

є селективними відносно неполярних молекул. За геометричною структурою адсорбенти можна поділити на *непористі* з питомою поверхнею 0,01-100 м<sup>2</sup>/г (хлорид натрію, графітована сажа, аеросип) та *пористі* з різними розмірами пор і питомою поверхнею 10-1000 м<sup>2</sup>/г (ксерогелі, скло, активоване вугілля, цеоліти, тефлон).

Однією з важливих характеристик адсорбентів є *адсорбційна ємність* – кількість активних центрів на їх поверхні. Вона зумовлена способом виготовлення адсорбенту та його подальшої обробки. Адсорбенти стандартизують за *адсорбційною активністю*, на яку впливає вміст в них води. Зокрема, ступінь активності оксиду алюмінію (активність за Брокманом) виражають вмістом води у ньому, %: I – 0; II – 3; III – 6; IV – 10; V – 15. Зростання активності сорбенту (збільшення вмісту в ньому води) зумовлює підвищення його сорбційної здатності до полярних адсорбатів. Неполярні краще адсорбуються на менш активних полярних адсорбентах, в яких вміст води менший або практично нульовий.

*Полярні адсорбенти.* В адсорбційній хроматографії найчастіше використовують такі полярні адсорбенти, як силікагель та оксид алюмінію. Останнім часом також широко застосовують адсорбенти, модифіковані ковалентно зв'язаними або адсорбованими на їх поверхні органічними аналітичними реагентами.

*Силікагель* (SiO<sub>2</sub>·xH<sub>2</sub>O) – це сухий гель силіцієвої кислоти з аморфною структурою, гідрофільний сорбент з розвиненою пористою структурою. Отримують його в результаті конденсації ортосиліцієвої кислоти, яка утворюється внаслідок гідролізу її хлорангідриду або реакції розчинних силікатів із мінеральними кислотами.

На поверхні силікагелю є такі групи:



силанольна



силандіольна



силоксанова



Залежно від ступеня дегідроксилювання поверхні кремнезему співвідношення цих груп може помітно змінюватися. У гранично гідроксилюваному кремнеземі на поверхні знаходяться 4,6-4,8 ОН-груп/мм<sup>2</sup>. Наявність цих груп, що мають слабкокислотні властивості, та їх нерівномірне розміщення на поверхні зумовлюють неоднорідність властивостей поверхні адсорбенту.

Кислий гідратований силікагель (рН 3-5) називають також силіцієвою кислотою. Нейтральний силікагель використовують для розділення нейтральних сполук або сполук, які виявляють основні властивості, а для розділення сполук з кислотними властивостями застосовують силіцієву кислоту. Нерухомі фази на основі силікагелю, особливо з модифікованою поверхнею, є найпоширенішими сорбентами у високоефективній рідинній і газовій хроматографії. Фірми, які випускають колонки для хроматографії, розробляють силікагель різноманітних марок, діаметр зерен яких варіює від 2 до 10 мкм, діаметр пор – від 3 до 75 нм, відповідно величина питомої поверхні – від 30 до 700 м<sup>2</sup>/г. *Недоліками* силікагелю як сорбенту для хроматографії є: розчинність при рН менше 2 і більше 9; неоднорідність поверхневих силанольних груп, що призводить до викривлення форм піків; здатність швидко адсорбувати воду. *Переваги* силікагелю: можливість отримання зерен із фіксованим і відтворюваним діаметром пор; можливість хімічного модифікування; механічна стійкість до тиску 27,6 МПа; стійкість до широкого спектра органічних розчинників.

Силікагель є ефективним адсорбентом для розділення вуглеводневих компонентів нафти, карбонових кислот, естерів, ароматичних амінів, спиртів, фенолів, альдегідів, кетонів, амінокислот, пектинів, пестицидів та багатьох інших органічних речовин. Його використовують і для розділення неорганічних іонів, зокрема катіонів металів. Для цього ефективні також силікагелі, на поверхні яких іммобілізовані органічні реагенти, що містять

певні функціонально-аналітичні угруповання (дитизон, оксихінолін, піридилазорезорцин, ксипеноловий оранжевий, арсеназо тощо). Максимальний вміст домішок у торгових препаратах силікагелю становить, (%): Fe (0,001-0,02); Al (0,05); Ti (0,05); Pb та інші важкі метали (0,001-0,004); Ca (0,01); Na (0,02); Ca (0,01-0,02);  $\text{SO}_4^{2-}$  (0,003-0,005); водорозчинні речовини (до 0,2).

Оксид алюмінію, як і силікагель, є полярним адсорбентом. Крім того, він виявляє амфотерні властивості й може бути використаний як нейтральний, лужний або кислий адсорбент. Кислотність оксиду алюмінію визначають у його 10%-вій водній суспензії. рН водної суспензії нейтрального оксиду алюмінію знаходиться в межах 6,5-7,5, лужного – у межах 9,0-10,5, кислого – у межах 3,5-4,5. Лужний оксид алюмінію отримують обробкою  $\text{Al}_2\text{O}_3$  розчином лугу, кислий – розчином нітратної кислоти з наступним відмиванням дистильованою водою від решток лугу чи кислоти.

Нейтральний оксид алюмінію використовують для хроматографічного розділення органічних речовин у неводних розчинах: вуглеводнів, альдегідів, кетонів, спиртів, фенолів, слабких органічних кислот та основ, етерів, барвників, вітамінів, алкалоїдів та ін. Лужний оксид алюмінію застосовують для розділення у водних та водно-органічних розчинах речовин, що виявляють основні властивості: аміни, аміди, основні амінокислоти, алкалоїди, інсектициди, основні барвники та ін. Кислий оксид алюмінію використовують для хроматографічного розділення речовин кислотного характеру: аліфатичних і ароматичних карбонових кислот, амінокислот, сульфокислот, кислотних барвників тощо. Лужний і кислий оксиди алюмінію виявляють також властивості відповідно катіоніту та аніоніту, їх застосовують для хроматографічного розділення катіонів та аніонів.

Максимальний вміст домішок в оксидах алюмінію різних марок становить, (%):  $\text{SiO}_2$  (0,01-0,25),  $\text{Na}_2\text{O}$  (0,05-0,80),  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (0,02-0,15),  $\text{TiO}_2$  (0,01), Ca (0,05-0,10),  $\text{SO}_4^{2-}$  (0,2-0,5), втрата при прожарюванні (2).

*Перевагою* оксиду алюмінію порівняно із силікагелем є його стійкість у широкому діапазоні рН, *недоліком* – те, що всі спроби модифікувати оксид алюмінію призводять до утворення нестійких поверхневих сполук.

*Кізельгур* (целіт, діатомова земля) – це пористий матеріал, природного походження, утворений із скам'янілих діатомових водоростей. Матриця складається з  $m\text{SiO} \cdot n\text{H}_2\text{O}$  та домішок оксидів алюмінію, феруму, кальцію, магнію.

*Цеоліти* (молекулярні сита) – синтетичні пористі адсорбенти, що складаються з атомів Al, Si, O та одно- або двовалентного металу. Оскільки цеоліти містять катіони, вони мають велику спорідненість до молекул, в яких електронна густина сконцентрована на периферії (молекули з  $\pi$ -зв'язками і вільними електронними парами). За своїми адсорбційними властивостями цеоліти значно відрізняються від інших адсорбентів. Завдяки однорідним розмірам пор вони адсорбують тільки ті молекули, розміри яких дають їм змогу проникати в ці пори. Цеоліти дуже гідрофільні. Сорбовані вода і вуглекислий газ змінюють утримувані об'єми, тому перед роботою їх треба видаляти.

*Пористе скло.* Натрієво-боросилікатне скло піддають термообробці при 500-700 °С, подрібнюють його у зерна, відсіюють фракцію 0,25-0,5 мм і обробляють 3М хлоридною кислотою при 50 °С. Скло відмивають від іонів хлору і висушують при 150-200 °С до сталої маси. За хімічною природою поверхні скло подібне до силікагелю. Його питома поверхня становить 30-100 м<sup>2</sup>/г.

У хроматографії використовують також інші адсорбенти, такі як оксиди й карбонати кальцію та магнію, тальк, крохмаль, природні адсорбенти – глини, мінерали тощо.

*Неполярні адсорбенти.* Як зазначалось, до неполярних адсорбентів належать графітована сажа, активоване вугілля та інші, які є неселективними

до полярних молекул. Адсорбція на них відбувається за рахунок дисперсійних сил.

*Графітовану сажу* отримують обробкою звичайних саж при 3000 °С у вакуумі або інертному газі. Це непористі адсорбенти з питомою поверхнею 6-100 м<sup>2</sup>/г. Графітована сажа буває різних марок, залежно від розміру часточок і відповідно величини питомої поверхні. Плоска поверхня сажі вигідна для розділення просторових ізомерів. Через недостатню механічну стійкість до сажі потрібно додавати модифікатор, наприклад, високотемпературний силоксановий полімер.

*Активоване вугілля* – це пористий гідрофобний адсорбент, велика питома поверхня якого (400-1700 м<sup>2</sup>/г) зумовлює значні сили взаємодії з неполярними молекулами, що обмежує галузь використання немодифікованого вугілля аналізом легких газів. Адсорбент отримують висушуванням вугілля при 180 °С та прожарюванням його при 300 °С.

*Тефлон* (політетрафторетилен  $-(CF_2-CF_2)_n$  – пористий синтетичний кристалічний полімер молекулярною масою 500000–2000000. Перевага тефлону порівняно з іншими органічними полімерами – висока термічна стійкість – до 300 °С. Питома поверхня його – до 10 м<sup>2</sup>/г.

*Полістирол* – пористий синтетичний органічний адсорбент з питомою поверхнею до 100 м/г. Фірмові назви адсорбентів на основі стиролу і дивінілбензолу – порапак, хромосорб, полісорб (різняються за пористістю).

*Пінополіуретани* – це пластичні матеріали, в яких частина твердої фази – поліуретану – заміщена газом у вигляді безлічі маленьких комірок. Ці матеріали добре адсорбують органічні аналітичні реагенти та їх комплексні сполуки з неорганічними й органічними лігандами. До їх складу входять уретанові угруповання та етерні (естерні) атоми кисню. За рН<3 відбувається протонізація етерних атомів кисню, внаслідок чого пінополіуретани набувають властивостей аніонообмінних сорбентів. Найширше пінополіуретани

використовують як твердофазові сорбенти, модифіковані органічними або неорганічними реагентами.

Часто використовують модифікація адсорбентів:

1) обробка кислотами, лугами чи неорганічними речовинами –приводить до видалення домішок, в основному оксидів металів в силікагелях;

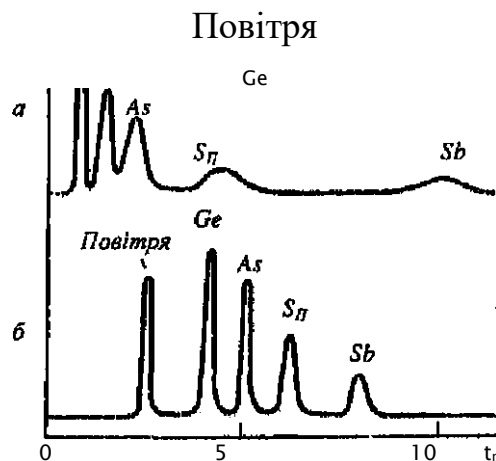
2) зв'язування гідроксильних груп хлорсиланами чи іншими речовинами – заміна активних груп поверхні адсорбентів на неактивні, наприклад, гідроксильних на метильні при силанізації силікагеля;

3) насичення парою води – дезактивація адсорбентів, як і нанесення нелетких органічних речовин;

4) геометрична модифікація – прокалювання при 900-1000 °С. Це змінює структуру пор внаслідок спікання – залишаються тільки великі пори, що сприяє зменшенню розмивання хроматографічних зон і збільшенню швидкості аналізу.

Розглянуті вище адсорбенти застосовуються як в рідинній, так і в газовій хроматографії. Кожен з них дає змогу вирішити певні аналітичні задачі.

У газоадсорбційній хроматографії дуже ефективним є розділення речовин в умовах програмованої температури. Відомо, що з підвищенням температури повнота адсорбції зменшується, що впливає на час утримування *in*. У разі проведення розділення за сталої температури низькокиплячі сполуки елюються швидко, а висококиплячі затримуються в колонці довше, що призводить до розмивання їх кривих елюювання (рис. 16, *а*). Ця різниця швидкостей елюювання компонентів суміші значно зменшується, якщо в процесі розділення поступово підвищувати температуру колонки (рис. 16, *б*).



**Рис. 16.** Розділення гідридів елементів методом газової хроматографії на колонці з порпаком: за сталої температури колонки 85 °С (а) та за програмованої температури від 76 до 120 °С (8 °С/хв) (б). Газ-носіє – азот

### 2.3.6. Особливості газорідинної хроматографії

В аналітичній практиці газорідинну хроматографію використовують значно частіше, ніж газоадсорбційну. Це зумовлено надзвичайно широким асортиментом рідких нерухомих фаз з урахуванням не тільки їх полярності, а й також хімічної природи. До того ж ізотерми сорбції при розділенні речовин у системі фаз "рідка-газова" є прямолінійними у ширшому інтервалі концентрацій, ніж у системі фаз "тверда – газова".

Для правильного вибору нерухомої фази в газорідинній хроматографії необхідно керуватися такими правилами:

1. Сили взаємодії компонентів з розчинником, який використовується в якості нерухомої фази, повинні діяти селективно, тобто вибірково. Важливе значення при виборі нерухомої фази мають полярність розчинника, здатність хімічно взаємодіяти з компонентами суміші чи утворювати водневі зв'язки і деякі інші.

2. Рідка фаза повинна бути малолеткою і не розкладатися при робочій температурі колонки.

3. Мають бути виключені необоротні реакції між речовиною рідкої фази і компонентами суміші, що аналізується, а також твердим носієм і газом-носієм.

Вибір рідкої фази в основному проводять емпірично, користуючись положеннями теорії розчинів та відомим літературними даними про фізико-хімічні властивості розчинника і речовин, що розчиняються. Якщо немає довідникових даних з абсорбційної здатності нерухомої фази, при її виборі користуються загальним принципом "подібне розчиняється у подібному". За цим правилом, для розділення суміші двох речовин необхідно вибрати нерухому фазу, яка схожа за хімічною природою і властивостями до одного з компонентів суміші. Наприклад, при розділенні таких різних за властивостями речовин як спирт і алкан, необхідно як нерухому фазу вибрати або речовину з функціональною групою – ОН, або алкан. В спирті спирт краще розчиняється, і відповідно, виходить останнім з хроматографічної колонки.

Рідкі нерухомі фази поділяють на три групи: *неполярні* (насичені вуглеводні), *слабополярні* (естери, нітрили тощо) і *полярні* (полігліколи, гідроксиламіни та ін.). Знаючи полярність нерухомої рідкої фази й полярність та хімічну природу речовин, які потрібно розділити, можна з певною ймовірністю вибрати найефективнішу рідку фазу для хроматографічного аналізу. Здебільшого добре розділення компонентів суміші спостерігається тоді, коли їх полярність близька до полярності нерухомої рідкої фази. Для речовин з близькою полярністю послідовність елюювання, як правило, корелює з їх температурою кипіння. Для розділення близькокиплячих речовин з різною полярністю використовують рідку фазу, яка селективно затримує компоненти суміші внаслідок диполь-дипольної взаємодії або утворення водневих зв'язків. Зі збільшенням полярності рідкої нерухомої фази час утримування полярних сполук збільшується.

Рідку нерухому фазу потрібно наносити на твердий носій (адсорбент) рівномірно. Для цього її змішують з летким розчинником, додають твердий

носій, ретельно перемішують і нагрівають до температури кипіння розчинника для його випарювання. При цьому рідка нерухома фаза, яка має значно вищу температуру кипіння, залишається на твердому адсорбенті.

У капілярних колонках рідка нерухома фаза закріплена безпосередньо на внутрішній поверхні капіляра.

Як рідкі нерухомі фази використовують: алкілові ефіри двоосновних органічних кислот (фталевої, себацинової, адипінової), полігліколі, ефіри полігліколів, високомолекулярні вуглеводні (сквалани, апіезони) (робоча температура – 100-160 °C), полікарборанметилсилоксан (речовина з високою робочою температурою – 500 °C).

Рідкі нерухомі фази перед вміщенням у хроматографічну колонку наносять на зерна твердого носія. До *твердих носіїв* ставляться такі *вимоги*:

- 1) розвинена питома поверхня – до 100 м<sup>2</sup>/г;
- 2) значний і по можливості однаковий об'єм пор – оптимальний діаметр від  $0,5 \cdot 10^{-3}$  до  $1,5 \cdot 10^{-3}$  мм. При нанесенні рідини на такі носії більша частина рідини попадає в пори і тільки тонка плівка покриває решту поверхні, при цьому досягається висока ефективність розділення;
- 3) однакові за формою і за розмірами частинки. Для кожного діаметра колонки існує оптимальний розмір зерен твердого носія, необхідно добиватися якнайбільшої однорідності розмірів зерен носія. При звичайно застосовуваних діаметрах колонок (4-8 мм) оптимальний розмір зерен носія від 0,1 до 0,8 мм, оптимальний розмір – 0,15-0,3 мм;
- 4) хімічна і адсорбційна інертність. Силікатні носії або відщеплюють воду від спиртів, або здійснюють каталітичний вплив і викликають хімічні перетворення компонентів суміші. Ще частіше спостерігається адсорбційна взаємодія, внаслідок чого компонент не тільки розчиняється в плівці нерухомої рідини, але й адсорбується поверхнею твердого носія. Щоб звести до мінімуму небажану активність, присутню більшості твердих носіїв, їх хімічно або фізично модифікують. Хімічна модифікація полягає в обробці твердих носіїв



мінеральними кислотами, лугами, органічними похідними силіцію – хлорсиланами, силозанами чи введення в молекулу носія алкільних груп. Фізичне модифікування відбувається шляхом попереднього нанесення на поверхню твердого носія полярних рідин чи полімерів;

5) здатність змочуватися рідкою нерухомою фазою;

6) механічна міцність.

Як *тверді носії* використовують: кізельгури, діатоміти (природні силікати з домішками заліза, кальцію, натрію, магнію), молекулярні сита, синтетичні пористі носії (тефлон, дивінілстирольні полімери).

### Контрольні запитання

1. Який агрегатний стан можуть мати рухома й нерухома фази у газовій хроматографії? У чому полягає відмінність між газоадсорбційною та газорідинною хроматографією?

2. Чим зумовлені висока роздільна здатність газохроматографічних методів та їх відносно велика швидкість?

3. Яку властивість повинні мати органічні й неорганічні сполуки, щоб їх можна було розділити газохроматографічним методом?

4. Які гази використовують як рухома фазу в газовій хроматографії? Які властивості повинна мати рухома фаза?

5. Наведіть схему газового хроматографа та опишіть принцип дії основних його вузлів.

6. Які найпоширеніші детектори використовують у газовій хроматографії? Чим спричинена висока чутливість газохроматографічних методів?

7. Наведіть основні характеристики детектора.

8. Що таке високочастотний шум, низькочастотний шум, дрейф нульової лінії? Що є причинами названих процесів і як їх усувають?

9. Укажіть принцип газохроматографічного аналізу з програмованою температурою.

10. Які вимоги ставлять до твердих адсорбентів, що застосовуються в газоадсорбційній хроматографії? Назвіть найпоширеніші адсорбенти.

11. На основі яких характеристик сорбатів можна передбачити селективність розділення  $\alpha$  в газорідинній хроматографії?

12. Які властивості повинні мати тверді носії (адсорбенти), що використовуються для закріплення на їх поверхні нерухомої фази? Назвіть властивості нерухомої рідкої фази.

13. Які адсорбенти (носії) та нерухомі рідкі фази найчастіше застосовують у газорідинній хроматографії?

## 2.4. Рідинна колонкова хроматографія

*Рідинну колонкову хроматографію* використовують для розділення речовин, які знаходяться у розчині в молекулярному або іонному стані. Хроматографію називають рідинною, тому що рухома фаза в даному випадку – рідина. Розділення відбувається на колонках, заповнених твердим або рідким сорбентом (нерухома фаза). Рухомою фазою слугують органічні розчинники, вода або їх суміші. При елююванні бажано, щоб рухома фаза переміщувалася уздовж шару сорбенту з оптимальною швидкістю, яка б забезпечувала мінімальне значення ВЕТТ.

Розрізняють такі різновиди рідинної колонкової хроматографії:

- *адсорбційна* – використовується відмінність в адсорбційній здатності речовин на твердому адсорбенті, який є нерухомою фазою;
- *розподільна (рідинно-рідинна, екстракційна)* – використовується відмінність відносних розчинностей речовин у рідких нерухомій і рухомій фазах;
- *гель- (молекулярно-ситова, ексклюзійна)* – використовується здатність твердих сорбентів, які мають певну пористість, розділяти компоненти суміші за розмірами їх молекул (молекулярними масами);

- *іонообмінна* – використовується різна спорідненість іонів, що є в розчині, до іонообмінних центрів сорбенту (розглянуто в част. 1).

Незважаючи на різкі механізми розділення речовин у наведених різновидах хроматографічного аналізу, їх доцільно об'єднати з урахуванням техніки виконання аналізу в одну групу – рідинну колонкову хроматографію.

Розділення речовин методом рідинної хроматографії можна проводити у колонках без тиску або за незначного перепаду тиску. Однак результативнішим є розділення способом вискоєфективної хроматографії із застосуванням спеціальних хроматографів, здатних працювати за різних температур і швидкостей потоку рухомої фази під тиском до сотень атмосфер. Для цього використовують мікроколонки з малою кількістю щільно упакованого сорбенту ( $V_a$ ) з незначним вільним об'ємом ( $V_0$ ), що значно прискорює переміщення зон речовин, які розділяються, уздовж колонки.

*Хроматографічні колонки.* У лабораторній практиці для класичної хроматографії використовують циліндричні колонки типу бюреток для титрування, у нижню частину яких вміщено тампон зі скляної вати або пористу перегородку. Колонку заповнюють сорбентом, змішаним з водою чи іншим розчинником так, щоб між зернами сорбенту не залишались бульбашки повітря. На практиці довжина колонки становить від кількох десятків сантиметрів до декількох метрів. В останньому випадку колонку виготовляють у вигляді змійовика (спіралі). Оптимальний діаметр колонки  $d$  теоретично розрахувати неможливо, однак практично встановлено, що найкращі результати розділення досягаються за співвідношення  $l/d=40-100$ , тобто на досить тонких колонках. Хроматографічне розділення можна виконати на колонках з низхідним або висхідним потоком рухомої фази. Останній варіант забезпечує більш чітке розділення внаслідок рівномірного переміщення рухомої фази по всьому поперечному перетину шару сорбенту.

У рідинних хроматографах для ВЕРХ використовують тонкі вискоєфективні набивні колонки і капілярні колонки, які потрібно заповнювати сорбентом дуже ретельно на спеціальних пристроях.

*Капілярні* (довжина від 25 см, внутрішній діаметр 1-0,25 мм, ефективність понад 250 000 тарілок) та *аналітичні набивні* (довжина 3-30 см, внутрішній діаметр 2-5 мм, ефективність понад 100 000 тарілок) колонки застосовують для кількісного аналізу, *препаративні набивні* (довжина 10-100 см, внутрішній діаметр 5-25 мм, ефективність менш як 5000 тарілок) – для промислового очищення.

Відбирання проб елюенту на виході з хроматографічної колонки для їх подальшого аналізу здійснюють різними способами. У класичній хроматографії можна відбирати однакові об'єми елюату в градуйовані пробірки. За потреби відбирання значної кількості проб доцільно застосовувати спеціальні прилади – колектори. Вони автоматично відбирають певну кількість краплин елюату, певні його масу чи об'єм у пробірки, які послідовно подаються під колонку.

При виконанні аналізу на рідинному хроматографі детектування відбувається в режимі in-line за допомогою детектора. Детектор має реагувати на зміну хімічного складу розчину, який виходить із колонки, і передавати відповідний сигнал на реєструвальний прилад. На сьогодні запропоновано понад 20 типів детекторів. Їх можна поділити на такі групи: спектрофотометричні (УФ-видимий детектор (УФВ) з матрицею діодів, флуориметричний (ФД), рефрактометричний (РД), атомно-абсорбційний (ААД), електрохімічні (полярографічний (ПД), кондуктометричний (КД), детектор електропровідності (ДЕ)), іонізаційні (транспортний полуменево-іонізаційний (ТПІД), мас-селективний (МС)). Найчутливішим детектором, за допомогою якого можна проводити ідентифікацію невідомої речовини, є мас-селективний. Межа визначення складає 1 пг/мл.

### 2.4.1. Особливості рідинної адсорбційної хроматографії. Елюенти

У рідинній адсорбційній хроматографії розділення речовин відбувається при їх адсорбції-десорбції з розчинів, тому на цей процес впливає не тільки взаємодія між адсорбентом і адсорбатом, а й взаємодія рухомої фази з адсорбентом.

У рідинній хроматографії дуже важливим є вибір рухомої фази, оскільки вона помітно впливає на селективність розділення та ефективність роботи колонки. Розчинники, які використовують як рухому фазу, мають задовольняти таким основним вимогам:

- добре розчиняти усі компоненти суміші;
- не реагувати хімічно з компонентами суміші та сорбентом;
- давати детектору змогу розпізнавати пробу (наприклад, при УФ-детектуванні проби елюент не повинен поглинати при цій довжині хвилі).

Розчинники мають бути також інертними щодо матеріалів усіх частин хроматографа.

Зазвичай елюент – це суміш розчинників. Щоб ефективно використовувати багатокомпонентний елюент, треба знати хімічні і фізичні властивості як окремих розчинників, так і суміші, що отримується. Важливими властивостями є: межа пропускання в УФ-діапазоні, в'язкість, змішуваність, реакційна здатність, вплив на флуоресценцію, вибухо- і екобезпечність.

Елюенти треба очищувати і висушувати перед роботою, оскільки полярні адсорбенти здатні сильно адсорбувати воду, що призводить до втрати відтворюваності часів утримування і спотворення хроматограм.

Основною хроматографічною характеристикою розчинника є його *елююча сила* ( $\epsilon^\circ$ ) або здатність десорбувати речовини з адсорбенту. *Елююча сила* розчинника показує, у скільки разів енергія сорбції даного елюенту більша за енергію сорбції елюенту, взятого за стандарт, наприклад н-пентану. За визначенням, елююча сила н-пентану дорівнює 0. Елююча сила елюенту

залежить від природи функціональних груп речовин, полярності, діелектричної сталої розчинників, здатності до утворення водневого та дисперсійних зв'язків.

Елюенти поділяють на сильні й слабкі. *Слабкі елюенти* погано адсорбуються нерухомою фазою, отже коефіцієнти розподілу адсорбованих речовин будуть великі, і навпаки, *сильні елюенти* добре адсорбуються, тому коефіцієнти розподілу сорбатів будуть малими. Елюент тим сильніший, чим краще розчиняється в ньому дана речовина, і чим сильніша взаємодія в системі розчинник-сорбат. Можна сказати, що чим сильніший елюент, тим менші значення часу утримування мають досліджувані речовини. Елююча сила значною мірою залежить від діелектричної сталої (полярності) розчинника. Елююча здатність розчинників при десорбції речовин із полярних адсорбентів як правило зменшується зі зменшенням їх діелектричної сталої, хоча ця закономірність виявляється не завжди. Навпаки, при десорбції з неполярних адсорбентів елююча здатність розчинників збільшується в міру зменшення їх діелектричної сталої. На основі зіставлення елюючої сили складені так звані елюотропні ряди елюентів. Користуючись значенням  $\epsilon^\circ$ , можна прогнозувати приблизний склад рухомої фази.

Рідинна адсорбційна хроматографія є одним з найефективніших методів розділення органічних сполук різних полярностей й будови – від неполярних вуглеводнів до високополярних розчинних у воді сполук, таких як карбонові кислоти, спирти тощо. У таблиці 2 наведено адсорбенти й розчинники, які найчастіше використовують для розділення органічних сполук різних класів. Однозначного співвідношення між полярністю адсорбенту, розчинника й адсорбованих речовин та швидкістю їх руху вздовж хроматографічної колонки досі ще не встановлено. Тому оптимальну комбінацію цих параметрів, яка забезпечує максимальне значення коефіцієнтів селективності  $\alpha$ , знаходять у кожному випадку експериментально.

Слід зазначити, що рідинна адсорбційна хроматографія є особливо селективною відносно ізомерів та сполук із близькою будовою, але з різним

розміщенням функціональних груп. Селективність адсорбції виявляється тоді, коли геометричне розміщення центрів адсорбції адсорбенту близьке до геометричного розміщення центрів адсорбції адсорбату.

Рідинну адсорбційну хроматографію використовують також для розділення неорганічних сполук. Наприклад, при пропусканні розчину суміші солей феруму(III), хрому(III), алюмінію(III), цинку(II), кобальту(II), ніколу(II) та мангану(II) крізь хроматографічну колонку катіони металів сорбуються в такій послідовності:

на оксиді алюмінію:  $\text{Fe}^{3+} \sim \text{Cr}^{5+} > \text{Al}^{3+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} - \text{Ni}^{2+} > \text{Mn}^{2+}$ ;

на силікагелі:  $\text{Fe}^{3+} > \text{Al}^{3+} > \text{Cr}^{3+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} - \text{Mn}^{2+} > \text{Ni}^{2+}$

Таблиця 2

**Розчинники і адсорбенти, найпоширеніші в рідинній адсорбційній хроматографії**

Розділювані речовини	Розчинники	Адсорбенти
Вуглеводні	Етанол, ацетон, хлороформ, тетрахлорид вуглецю, петролейний етер	Силікагель, оксид алюмінію
Спирти	Хлороформ, діетиловий етер, діоксан, бензол, петролейний етер	Активоване вугілля, оксид алюмінію, силікагель
Феноли	Етанол, діетиловий етер, бензол, петролейний етер	Оксид алюмінію, оксид кальцію
Альдегіди і кетони	Етиловий етер, бензол, тетрахлорид вуглецю, петролейний етер	Оксид алюмінію, оксид магнію, силікагель, тальк
Карбонові кислоти	Вода (для нижчих кислот), етанол, бензол, гептан, петролейний етер	Активоване вугілля, оксид алюмінію, силікагель, тальк
Естери	Хлороформ, бензол, гексан, тетрахлорид вуглецю	Активоване вугілля, оксид, алюмінію, силікагель
Аміни, амід	Діетиловий етер, бензол, тетрахлорид вуглецю, петролейний етер	Силікагель, оксид алюмінію
Вуглеводи	Вода, етанол, хлороформ, бензол, петролейний етер	Активоване вугілля, оксид алюмінію, силікагель
Гетероциклічні сполуки	Вода, етанол, ацетон, хлороформ, етиловий етер, бензол, петролейний етер	Оксид алюмінію, силікагель, карбонат кальцію, тальк
Вітаміни	Вода, етанол, бензол, петролейний етер	Оксид алюмінію, оксид магнію

#### 2.4.2. Особливості рідинної розподільної хроматографії

У рідинній розподільній (рідинно-рідинній, екстракційній) хроматографії розділення речовин відбувається внаслідок різного розподілу їхніх молекул між двома рідкими фазами (розчинниками), одна з яких є нерухомою, а інша – рухомою. Розподіл залежить від відносної розчинності речовин у двох розчинниках. Хроматографічна колонка складається з твердого носія (адсорбенту), на поверхні якого адсорбована нерухома рідка фаза. Нерухома й рухома рідкі фази практично не повинні розчинятись одна в одній.

Для розділення полярних речовин використовують полярну нерухому фазу, найчастіше воду, а рухомою фазою є менш полярні розчинники. При розділенні неполярних речовин полярність фаз протилежна – використовують неполярну нерухому й полярну рухому фази. У такому разі йдеться про рідинну розподільну хроматографію з "оберненою" фазою.

Рухома фаза (елюент) не повинна змішуватися з нерухомою, щоб не вимивати її з колонки. Якщо рухома фаза частково змішується з нерухомою, то можна попередньо наситити нерухому фазу рухомою, а потім адсорбувати її на носії та вводити в хроматографічну колонку, а для розділення неполярних речовин. Найчастіше використовують такі рухомі фази (розчинники), як формальдегід, вода, метанол, етанол, ацетон, діоксан, метилетилкетон, етиловий етер, бензол, толуол, циклогексан, тетрахлорид вуглецю тощо.

Метод рідинної розподільної хроматографії застосовують для розділення, ідентифікації та кількісного визначення багатьох органічних речовин, зокрема суміші вуглеводнів, ароматичних карбонових кислот, стероїдів, гербіцидів, пестицидів, антибіотиків, барвників, алкалоїдів тощо, а також іонів металів у вигляді їх комплексних сполук з неорганічними й особливо органічними лігандами.



### 2.4.3. Гель-хроматографія

Гель-хроматографія (екслюзійна, молекулярно-ситова) є різновидом рідинної хроматографії, в якій розділення компонентів суміші ґрунтується на розподілі молекул відповідно до їхніх розмірів між розчинником, який знаходиться в порах сорбенту, і тим самим розчинником, який тече між його гранулами. Отже, на відміну від усіх інших методів хроматографічного аналізу в гель-хроматографії нерухомою і рухомою фазами є одна й та сама речовина – розчинник.

*Механізм розділення компонентів суміші.* У процесі розділення невеликі за розміром молекули дифундують у сорбент, у порах якого знаходиться рідка нерухома фаза, а великі молекули, розмір яких перевищує діаметр пор (каналів) сорбенту, не проникають у нього і вимиваються з колонки рухомою фазою. Отже, ефективність розділення речовин залежить від розміру їх молекул та розміру пор сорбенту.

*Носії.* Хроматографію, яка ґрунтується на розподілі молекул відповідно до їх розмірів, у літературі називають по-різному: *молекулярно-ситовою*, якщо для розділення молекул використовують цеоліти, які інакше називають молекулярними ситами; *гель-проникною*, якщо для розділення застосовують полімерні сорбенти, які набухають в органічних розчинниках (полістирол), або *гель-фільтраційною* у випадку використання сорбентів, які набухають у воді (сефадекс).

Носії, які застосовують у гель-хроматографії, повинні мати строго певний розподіл розміру пор, що дає змогу використати їх для розділення сумішей речовин, молекули яких мають певний розмір. Адсорбційна здатність носія має бути мінімальною. Час утримування речовин повинен визначатися лише так званою *інклюдзією* (проникненням) або *екслюзією* (непроникненням) молекул у пори. Характеристикою пористості гелю є *ступінь набухання* (ємність за розчинником)  $S_r$ , тобто кількість розчинника у г, яку поглинув 1 г сухого гелю.

У гель-хроматографії як носії використовують: м'які гелі – органічні полімери, такі як целюлоза, полістирол, полідекстран, агароза, поліакриламід, які сильно набухають і мають високу ємність за розчинником; жорсткі гелі, такі як силікагель, скло, які мало або зовсім не набухають і мають фіксований розмір пор. Перевагу віддають органічним гелям, на яких сорбція речовин відсутня або незначна, і процес розділення зумовлений практично тільки розмірами пор сорбенту і розмірами молекул сорбатів. Носії на основі силікагелів менш зручні, через те що на розділення речовин впливає також їхня адсорбційна здатність, яку важко передбачити.

Для розділення речовин із водних розчинів зазвичай використовують гідрофільні гелі на основі декстрину – поліатомного спирту, який складається із залишків глюкози. Декстрини, зшиті нитками епіхлоргідрину, підготовлені для хроматографії мають фірмову назву – сефадекси. Розділення з органічних розчинників проводять на гідрофобних полістиролах, що мають різний ступінь зшивання (стирогель, поргель тощо).

Для детектування сполук у гель-хроматографії можна використовувати спектрофотометричний і рефрактометричний детектори. Частіше застосовують рефрактометричний детектор, оскільки він є універсальним і витримує високі температури, необхідні для аналізу високомолекулярних важкорозчинних полімерів.

*Використання гель-хроматографії.* Передусім гель-хроматографію застосовують для відокремлення дуже великих молекул, розміри яких значно більші за розміри пор сорбенту, від малих молекул (іонів), які вільно проникають у фазу сорбенту. Такий процес відбувається, наприклад, при знесоленні білків та інших природних високомолекулярних сполук або при очищенні гемоглобіну від кухонної солі.

Гель-хроматографія знайшла широке застосування для розділення близьких за розмірами молекул органічних речовин, наприклад, тригліцеридів. Цей різновид хроматографії використовують також для розділення

комплексних сполук металів, зокрема тих, що утворюються в природних водах з органічними лігандами різної молекулярної маси.

Нарешті, гель-хроматографію застосовують для визначення молекулярних мас органічних сполук, полімерів синтетичного і природного походження і комплексів металів з високомолекулярними органічними лігандами.

#### **2.4.4. Афінна хроматографія (за біоспецифічною спорідненістю)**

Очищені білки широко використовують у фармацевтиці і дослідницькій діяльності, тому отримання високочистих білкових препаратів є важливою лабораторною задачею. Білок, який цікавить дослідника, знаходиться у клітинах у невеликих кількостях разом з іншими білками, які часто мало відрізняються один від одного за фізико-хімічними властивостями, що робить їх розділення можливим лише при застосуванні низки різнорідних трудомістких операцій (осадження, екстракція, гель-хроматографія).

Білкам притаманна певна активність, наприклад ферментативна, імунологічна, або вони мають специфічну спорідненість до іншого білка чи небілкової сполуки, з якою вони взаємодіють у ході біохімічної реакції.

Біохімічні реакції специфічні. Ферменти, які прискорюють певну реакцію, взаємодіють тільки з тими субстратами, які задовольняють їхнім структурним вимогам, тобто ферменти розпізнають лише "свої" субстрати. Так само антитіла розпізнають лише "свої" антигенні детермінанти з дуже високим ступенем вибіркості.

Отже, ферменти, антитіла, цукри – органічні сполуки природного походження – можуть селективно і зворотно взаємодіяти одна з одною за рахунок точної стеричної придатності і паралельно діючих полярних, неполярних, іонних і водневих взаємодій, тобто ці сполуки розпізнають одна одну у природних рідинах. Цю особливість біохімічних реакцій використовують в *афінній хроматографії*, яку ще називають хроматографією

за біоспецифічною спорідненістю. Один із компонентів біохімічної реакції, його називають *афінним лігандом*, прищеплюється до поверхні сорбента.

Афінними лігандами можуть бути різноманітні сполуки: білки (антигени, інгібітори ферментів, антитіла, білки-репресори), нуклеїнові кислоти, нуклеотиди, стероїди.

*Носії та способи прищеплення афінного ліганду до них.* Носії мають задовольняти таким вимогам:

- нерозчинність;
- адсорбційна інертність;
- достатня пористість і велика питома поверхня;
- механічна стійкість;
- хімічна стійкість в умовах, необхідних для сорбції і десорбції;
- стійкість до дії ферментів і мікробів.

Як носії використовують целюлозу, декстранові гелі, агарозу, поліакриламід, скло, силікагель тощо.

Отже, в афінній хроматографії до поверхні носія прищеплюють афінний ліганд, який за рахунок біоспецифічної спорідненості може приєднувати певну органічну сполуку природного походження. Особливості поведінки біополімерів у розчинах зумовлюють специфічні особливості афінної хроматографії та її переваги. Молекули певного білка мають сталу конфігурацію. Вона задана первинною структурою білка, тобто послідовністю амінокислот, поєднаних пептидними зв'язками. Активна конфігурація білкових молекул підтримується великою кількістю слабких (нековалентних) вандерваальсових і водневих зв'язків, що зумовлює термодинамічну стабільність системи. Біологічно важливі взаємодії виникають на малих відстанях (0,3-0,5 нм). Якщо конфігурація двох молекул така, що їхні поверхні можуть стикатися великою кількістю атомів, то виникає сильна взаємодія.

*Послідовність розділення в афінній хроматографії* включає: пропускання проби крізь колонку, вимивання речовини, яка не взаємодіє із сорбентом, елюювання досліджуваної сполуки з колонки.

Для оптимальної сорбції нерозчинний носій повинен мати достатньо пористу поверхню, щоб макромолекула мала достатній простір для взаємодії з афінним лігандом. Важливими є також стеричний фактор, концентрація ліганду, іонна сила, рН, швидкість потоку.

*Елюювання* є особливим етапом в афінній хроматографії, оскільки більшість звичайних розчинників не забезпечує вимивання речовин із колонки. Органічні розчинники, які спричиняють денатурацію білків, є несумісними з більшістю матеріалів афінної хроматографії на основі ферментів. Процес денатурації часто є незворотним. Тому на етапі елюювання слід застосовувати конкуруючий ліганд або звільняючий реагент, який не викликає денатурацію, наприклад сечовину за малих концентрацій. Конкурентний ліганд витісняє досліджувану молекулу з комплексу. Білки, які мають біоспецифічну спорідненість до певних сполук, швидко і зворотно змінюють свою просторову конфігурацію у розчині за наявності відносно низьких концентрацій цих сполук навіть у тому випадку, коли їх наявність не змінює рН, іонну силу або температуру розчину. Ця обставина дає змогу елюювати білок зв'язаний з афінним лігандом, уведенням до складу елюенту невеликої кількості вільного ліганду без зміни рН, іонної сили або температури розчину.

Інший спосіб вилучення речовини з колонки – зміна температури або рН розчину.

Для контролю елюювання речовин можна застосовувати радіоактивно мічені зразки. Для цього використовують  $^{14}\text{C}$ ,  $^{125}\text{I}$ . Радіоактивність вимірюють сцинтиляційним лічильником,  $\gamma$ -лічильником. Детектування також можна проводити за світлопоглинанням розчинів в УФ ділянці спектра.

*Використання афінної хроматографії.* Методом афінної хроматографії можна розділяти широкий спектр біологічних сполук: антитіла, антигени,

клітинні органели, кофактори, вітаміни, ферменти, гормони, інгібітори, пектини, ліпіди, білки, пептиди, амінокислоти, віруси. Крім того, у фармацевтичній промисловості важливим завданням є розділення і кількісне визначення хіральних сполук. У багатьох випадках терапевтичний ефект забезпечує лише один із набору енантіомерів лікарського засобу. Тому, важливо їх розділяти й отримувати у чистому вигляді.

### **Контрольні запитання і задачі**

1. В якому агрегатному стані можуть перебувати сорбенти, що використовуються в рідинній колонковій хроматографії?
2. Поясніть принцип приготування нерухомої рідкої фази.
3. Які різновиди хроматографічних методів включає рідинна колонкова хроматографія?
4. Яку перевагу мають мікроколони, зокрема капілярні, перед макроколони? У чому полягає суть високоефективної рідинної хроматографії?
5. Як залежить висота, еквівалентна теоретичній тарілці, від швидкості потоку елюенту?
6. Опишіть схему рідинного хроматографа.
7. Які типи детекторів використовують у рідинній колонковій хроматографії та в чому полягає принцип їх дії?
8. Які властивості повинні мати адсорбенти, що застосовуються в рідинній адсорбційній хроматографії? Назвіть найпоширеніші адсорбенти й охарактеризуйте їх.
9. Які властивості повинна мати рухома фаза (розчинник), що використовується в рідинній адсорбційній хроматографії?
10. Що таке елююча здатність рухомої фази (розчинника) і яким параметром вона характеризується?

11. У чому відмінність рідинної розподільної (екстракційної) і рідинної адсорбційної хроматографії?
12. У чому полягає суть рідинної розподільної хроматографії з "оберненою" фазою?
13. Які носії (тверді фази) використовують у рідинній розподільній хроматографії та які мають бути їх властивості?
14. Які органічні сполуки використовують як рідкі нерухомі фази і які властивості вони повинні мати?
15. У чому полягає зміст гель-хроматографії? Які тверді фази застосовують у цьому виді хроматографічного аналізу?
16. У чому полягає суть афінної хроматографії?
17. Які носії використовують в афінній хроматографії? Які вимоги ставляться до них?
18. Назвіть особливості елюювання молекул в афінній хроматографії.
19. Назвіть галузі застосування афінної хроматографії.

## 2.5. Площинна хроматофія

У 1938 р. радянські вчені, співробітники Українського інституту експериментальної фармації М.А.Ізмайлов і М.С.Шрайбер започаткували метод *тонкошарової хроматографії*. Значного поширення метод набув завдяки працям німецького професора Е.Шталя. У 1944 р. А.Мартін разом зі співробітниками Р.Консденом і А.Гордоном запропонували розподільний варіант хроматографії на папері.

До *площинної* (планарної) хроматографії належать такі її різновиди, як *хроматофія на папері* й *тонкошарова хроматофія*. На відміну від рідинної та газової колонкової хроматографії в методах площинної хроматографії розділення речовин відбувається в *тонкому шарі сорбенту*, який нанесено на скляну або іншу пластинку чи на спеціальний *папір для хроматографії*, який одночасно є носієм нерухомої рідкої фази. Очевидно, що

цими методами можна розділити тільки ті речовини, які розчиняються в рідкій рухомій фазі, й неможливо розділити газові суміші. Тому в тонкошаровій хроматографії використовують тільки основні положення рідинної адсорбційної, розподільної та іонообмінної хроматографії.

У площинній хроматографії рухома рідка фаза пересувається уздовж тонкого шару твердої або рідкої нерухомої фази під дією капілярних сил. Тому її різновиди близькі між собою за технікою виконання аналізу і в них застосовується аналогічна апаратура. Основним недоліком площинної хроматографії порівняно з колонковою є практична неможливість застосування довгих шарів сорбенту – стандартні пластинки для тонкошарової хроматографії мають довжину 20 см, а в хроматографії на папері довжина паперової смуги не перевищує 30-40 см. Це може виявитися недостатнім для повного розділення речовин за малої селективності сорбції.

Однак перевагою площинної хроматографії перед рідинною колонковою (крім капілярної) є швидше розділення, що зумовлено незначним вільним об'ємом рухомої фази  $V_o$  та об'ємом сорбенту  $V_a$ .

### **2.5.1. Техніка проведення аналізу**

За технікою виконання аналізу розрізняють такі різновиди площинної хроматографії: *одновимірної й двовимірної, висхідної або низхідної, кругової*.

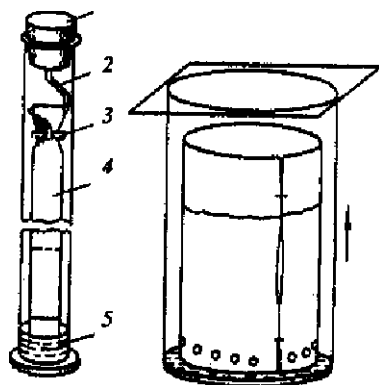
Схему розділення двох речовин методом одновимірної висхідної хроматографії наведено на рис. 35. На нижню частину паперової смуги або тонкого шару сорбенту (лінія старту) наносять мікропіпеткою певний об'єм розчину, що аналізується. При цьому бажано отримати на сорбенті пляму якомога меншого діаметра (2-3 мм). Для цього після нанесення кожної невеликої порції досліджуваного розчину треба висушувати пляму, яка утворюється на сорбенті. Досліджуваний розчин наносять на відстані 1 см від кінця смуги (пластинки з сорбентом) і переносять паперову смужку або пластинку в *камеру* для хроматографування, в якій знаходиться розчинник



(рухома фаза). Нанесення проби є лімітуючою стадією проведення аналізу у площинній хроматографії. Об'єм проби становить 0,5-3,0 мкл. Кінець паперової смуги або пластинки з сорбентом занурюють у розчин так, щоб лінія старту була вище за рівень рідини.

*Камера* для хроматографування – це посудина з інертного прозорого матеріалу з щільно припасованою кришкою. Для насичення атмосфери паром рухомої фази стінки камери вистилають фільтрувальним папером, наливають рухому фазу, закривають кришкою і витримують протягом 1 год при 20-25 °С. Насичення необхідне для того, щоб змішані рухомі фази не розшарувались під час хроматографування, а час елюювання був меншим, щоб усунути крайовий ефект, тобто випаровування рухомої фази з країв пластинки, внаслідок чого речовини по краях пластинки просуваються далі, ніж у центрі. У разі висхідної хроматографії розчинник під дією капілярних сил підіймається уздовж шару сорбенту і промиває його (рис.17). Компоненти суміші пересуваються на різну відстань від лінії старту, залежно від їх сорбційної здатності на даному сорбенті та розчинності в рухомій фазі. Пластинку виймають, сушать і виявляють плями.

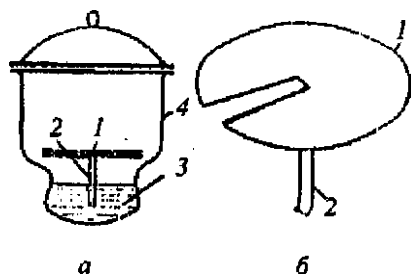
У площинній хроматографії *хроматограмою* називають наочне зображення результатів розділення компонентів.



**Рис. 17.** Камери для отримання висхідної одновимірної (а) та двовимірної (б) хроматограм: 1-пробка; 2-гачок; 3-затискач; 4-смуга паперу; 5-розчинник

Ефективність розділення багатокомпонентних сумішей можна підвищити, скориставшись методом *двовимірної висхідної хроматографії*. Суть методу полягає в тому, що спочатку отримують звичайну хроматограму на

квадратному аркуші паперу або на квадратній тонкошаровій пластинці за допомогою рухомої фази певного складу. Потім папір (пластину) повертають на 90° і проводять подальше розділення, інколи використовуючи інший розчинник.



**Рис. 18.** Прилад для отримання кругових хроматограм :1- паперовий фільтр; 2- гніт; 3- розчинник; 4-посудина з кришкою (ексикатор).

### 2.5.2. Кількісні характеристики у площинній хроматографії

Відносну швидкість переміщення речовини в тонкому шарі сорбенту або на паперовій смугі характеризують *коефіцієнтом рухомості*  $R_f$ , який дорівнює відношенню відстані  $l$ , що пройшла зона речовини, до відстані  $L$ , яку пройшла рухома фаза (розчинник) за певний час:

$$R_f = \frac{l}{L} \quad (2.50)$$

Очевидно, що  $0 < R_f < 1$ . За сталих умов проведення хроматографічного аналізу величина  $R_f$  є якісною характеристикою даної речовини і не залежить від її концентрації та наявності у розчині інших речовин. Величина  $R_f$  пов'язана з коефіцієнтом розподілу рівнянням:

$$D = \frac{V_0}{V_a} \left( \frac{1}{R_f} - 1 \right) \quad (2.51)$$

яке є адекватним рівнянням для колонкової хроматографії. Якщо  $R_f = 1$ , то  $D = 0$ , тобто речовина не сорбується на даному сорбенті й рухається разом із фронтом розчинника ( $l = L$ ). Якщо  $R_f = 0$ , то  $D \rightarrow \infty$  і речовина практично не рухається під дією розчинника. З рівняння випливає, що селективність розділення двох речовин можна обчислити за формулою:

$$\alpha = \frac{D_2}{D_1} = \frac{1/R_{f1}-1}{1/R_{f2}-1} \quad (2.52)$$

Вважають, що повне розділення двох речовин методом площинної хроматографії відбувається, якщо  $R_{f1}-R_{f2}=\Delta R_f \geq 0,05$  (хроматографія на папері, довжина пробігу рухомої фази 30-40 см) або при  $\Delta R_f \geq 0,1$  (тонкошарова хроматографія, довжина пробігу рухомої фази 10 см). Такі значення  $R_f$  свідчать про повне розділення у разі, коли вдається отримати на площинній хроматограмі круглі плями невеликих розмірів. Це можливо за ретельного проведення аналізу органічних речовин, гідратованих (сольватованих) катіонів і аніонів, а також стійких комплексних сполук, які практично не дисоціюють.

Величини  $R_f$  на відміну від 1, не залежать від тривалості хроматографування.

Після розділення речовин, їх ідентифікують на основі величин  $R_f$  отриманих для відомих стандартних речовин, і компонентів суміші, яка аналізується. Якщо речовини безбарвні, їх проявляють обробкою хроматограми відповідним реагентом, що утворює з компонентами суміші забарвлені або люмінесціюючі сполуки. Кількісне визначення проводять візуально, порівнюючи або вимірюючи на спеціальному приладі інтенсивності забарвлення компонентів суміші та стандартної шкали, отриманої на тій самій хроматограмі. Хроматограму можна розрізати на окремі шматки, у кожному з яких знаходиться одна речовина, десорбувати їх певним розчинником і визначати концентрацію будь-яким методом.

### 2.5.3. Хроматографія на папері

Принцип методу полягає в розподілі речовин між двома рідкими фазами, одна з яких закріплена на поверхні паперової смуги (нерухома фаза), а друга є рухомою. Здебільшого нерухомою фазою є вода, яка добре адсорбується на гідрофільній целюлозі, а рухомою – органічний розчинник або суміш

розчинників. Отже, хроматографія на папері належить до рідинної розподільної хроматографії.

*Папір для хроматографії* має бути хімічно чистим, однорідним і мати певну структуру, яка полягає в орієнтації волокон паперу в одному напрямку. Така структура забезпечує рівномірний рух речовин і розчинника вздовж смуги паперу й отримання чітких хроматограм. Можна використовувати папір марки ватман, щільний фільтрувальний папір тощо.

Звичайні сорти паперу є гідрофільними і в повітряно-сухому стані містять 20-22 % води. Тому при використанні води як нерухомої фази спеціальне зволоження паперу не потрібне.

Для розділення не розчинних або малорозчинних у воді органічних сполук потрібно провести попередню гідрофобізацію паперу просоченням його гідрофобною речовиною або методом ацеталювання.

Просочування паперу проводять 1%-м розчином парафіну в петролейному етері, 0,5%-м розчином каучуку в бензолі або 1-2%-м розчином олії в діетиловому етері. Гідрофобний папір зберігають у герметичній посудині в атмосфері парів того розчинника, який буде використовуватися як нерухома фаза. Ацетилують папір обробкою такою сумішшю: 90 мл ацетатного ангідриду, 10 мл петролейного етеру та 8-10 крапель концентрованої сульфатної кислоти. Папір занурюють у цю суміш на 40-45 хв, виймають і промивають проточною водою упродовж 15 хв, потім на 10-15 хв занурюють у дистильовану воду, після чого висушують.

Отримання хроматограм на гідрофобному папері називають методом "обернених" фаз. У цьому разі нерухомою фазою є неполярний розчинник (вуглеводень), а рухомою – полярний (спирти, органічні кислоти тощо).

Ефективність розділення речовин методом хроматографії на папері залежить від правильного вибору рухомої і нерухомої фаз, оскільки коефіцієнт розподілу залежить від відносної розчинності речовин у двох фазах. Рідкі фази

(розчинники) для хроматографії на папері мають задовольняти певним вимогам, основними з яких є такі:

- рухома і нерухома фази не повинні змішуватись або взаємна розчинність їх має бути обмеженою;
- компоненти суміші, які розділяються, повинні мати меншу розчинність у рухомій фазі, ніж у нерухомій;
- коефіцієнти розподілу компонентів суміші між рухомою і нерухомою фазами мають бути різними;
- склад рухомої фази під час хроматографування не повинен змінюватися.

Установлено, що використання як рухомої фази суміші розчинників ефективніше, ніж індивідуальних розчинників. Наприклад, для розділення вуглеводнів використовують суміш етилацетат : ацетатна кислота : вода = 3:1:3, для розділення іонів платинових металів – суміш метилетилкетон : хлоридна кислота (30%-й розчин) = 1:1 тощо.

#### **2.5.4. Тонкошарова хроматографія**

У тонкошаровій хроматографії розділення речовин ґрунтується на їх розподілі в системі тверда нерухома фаза (адсорбент) – рідка рухома фаза (розчинник) або в системі твердий носій – рідка нерухома фаза – рідка рухома фаза. У першому випадку закономірності розподілу практично аналогічні рідинній адсорбційній хроматографії, у другому – рідинній розподільній.

Розробка нового обладнання для нанесення проб, методів елюювання та кількісного визначення на пластинках увінчалася створенням високоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ). Швидкість рухомої фази задається зовнішнім пристроєм, хроматографування проводиться у спеціальних камерах.

*Переваги ВЕТШХ* – зменшення тривалості аналізу, мінімальне розмивання плям, максимальна чутливість – зумовлені тими ж факторами, що й у високоефективної рідинній хроматографії: зменшенням діаметра зерен

адсорбенту і товщини його шару, збільшенням швидкості просування рухомої фази, мінімальним розміром плями на старті (аналогічно розмиванню зони при введенні проби в колонку).

Адсорбент для тонкошарової адсорбційної хроматографії отримують у вигляді часточок діаметром 11-40 мкм або 2-7 мкм для ВЕТШХ і закріплюють у вигляді тонкого шару (200-300 мкм, 100-200 мкм для ВЕТШХ) на інертній підкладці: алюмінієвій фользі, скляній або пластмасовій пластинці. Зазвичай використовують пластинки довжиною 10-20 см і шириною 4-20 см, у ВЕТШХ – відповідно 6 і 6 см. Хроматографію на "мікропластинках" проводять на предметному склі мікроскопів (2,5×7,6 см).

У тонкошаровій хроматографії використовують такі ж самі адсорбенти і рідкі нерухомі фази, що й у колонковій хроматографії для молекулярного розподілу і для іонного обміну.

Розчинник (рухому фазу) обирають з урахуванням полярності адсорбенту й компонентів суміші, яка аналізується. До вимог до рухомої фази додається *леткість*, тому що рухома фаза має *швидко випаровуватись* після розділення для подальшого проведення аналізу.

У тонкошаровій хроматографії часто застосовують нерухомі рідкі фази, наприклад, воду при розділенні на силікагелевих сорбентах. У таблиці 3 наведено приклади тонкошарового хроматографічного розділення деяких органічних речовин та неорганічних іонів (їхніх солей).

Таблиця 3

Умови розділення деяких сполук методом тонкошарової хроматографії

Сполуки	Адсорбент	Рухома фаза	Спосіб виявлення на хроматограмі
Аліфатичні ненасичені вуглеводні	Силікагель-гіпс	Гексан	0,2%-й розчин 2,7-дихлорфлуоресцеїну в етанолі
Ароматичні вуглеводні	Силікагель-гіпс	Бензол – метилацетат – 80 %-ва формиатна кислота (4:4:2)	УФ-опромінювання; 0,05 %-й розчин флуоресцеїну

Багатоатомні спирти	Силікагель-гіпс	Хлороформ – метанол (5:1)	Йодат калію – бензидин
Аліфатичні спирти	Оксид алюмінію	Бензол – етер (2:3)	Пара йоду
Карбонільні сполуки	Силікагель-гіпс (з 0,1 моль/л борної кислоти)	н-Бутанол – ацетон - вода (4:5:1)	Розчин 2,4-динітро-феніл гідразину або фосфомолібдатної гетеро полі кислоти
Оксикислоти	Силікагель-гіпс	Бензол – метанол – ацетатна кислота (45:8:4)	Розчин 0,04 г бромкрезолу пурпурного у 100 мл 50%-го етанолу
Феноли, їх похідні	Силікагель-гіпс	Бензол – діоксан – ацетатна кислота (95:25:4)	1%-й водний розчин хлориду феруму(III)
Алкалоїди	Оксид алюмінію	Хлороформ – ацетон - діетиленамін (3:4:1)	Йодоплатинат
Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , BiONO <sub>3</sub> , Cd(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , Cu(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	Силікагель	м-Бутанол – 1,5 М HCl – ацетонітрил – ацетон (100:20:0,5)	2%-й розчин KI, потім пара H <sub>2</sub> S
NaH <sub>2</sub> PO <sub>3</sub> , NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , NaH <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Силікагель-крохмаль	Метанол-концентрований аміак-10%-й розчин трихлорацетатної кислоти-вода (50:15:5:30)	1 %-й водний розчин молібдату амонію, потім 1 %-й розчин дихлориду олова в 10%-й хлоридній кислоті

*Якісний та кількісний аналіз у тонкошаровій хроматографії.* Забарвлені сполуки детектують візуально за їх положенням на пластинці. Речовини, здатні до флуоресценції, детектують як плями, що світяться на темному тлі при опроміненні УФ-випромінюванням.

Випускаються пластинки, які містять флуоресцентні індикатори. На них можна визначати наявність на хроматограмі безбарвних речовин, які поглинають УФ-випромінювання при 254 нм. Як флуоресцентні індикатори до сорбенту додають силікат цинку, активований манганом, сульфід цинку/кадмію, вольфрамат лужноземельних металів. При ультрафіолетовому опроміненні останні світяться блідо-блакитним світлом, в той час як цинкові сполуки – жовто-зеленим. Органічні індикатори пірен, морин, флуоресцеїн

збуджуються при 366 нм. При опроміненні сорбенту індикатори світяться, а речовини поглинають випромінювання й ідентифікуються у вигляді темних плям. Так можна визначати ароматичні сполуки і сполуки зі спряженими подвійними зв'язками.

Якщо речовини безбарвні і не здатні флуоресціювати, їх проявляють обробкою хроматограми відповідним реагентом, який утворює з компонентами суміші забарвлені сполуки. Приклади реагентів-проявників для різних класів органічних сполук наведено у таблиці 4.

Таблиця 4

Реагенти для визначення деяких класів органічних сполук

Клас сполук	Реагент	Забарвлення плями
Кислоти	Бромкрезоловий зелений	Зелене
Спирти	Нітрат церію-амонію	Коричнева пляма на жовтому тлі
Альдегіди	2,4-Динітрофенілгідразин	Від жовтого до червоного на блідо-оранжевому тлі
Аміни	Тіоціанат кобальту	Блакитна пляма на рожево-білому тлі
Феноли	Хлорид феруму(III)	Червоно-фіолетове

Найчастіше ТШХ використовують у хімічному синтезі та фармацевтиці для підтвердження ідентичності речовин. Для цього на одну пластинку наносять поряд пробу досліджуваної речовини й еталона. Основну пляму на хроматограмі досліджуваного розчину, порівнюють візуально з відповідною плямою на хроматограмі розчину еталона за забарвленням (кольором флуоресценції), розміром і  $R_f$  обох плям.



Проводити напівкількісне визначення можна *візуально*, порівнянням забарвлення плями зі стандартною шкалою. Візуально можна виявити близько 1-10 мг речовини з відтворюваністю 10-30 %.

Для кількісного вимірювання готують і наносять на пластинку не менше трьох розчинів порівняння, концентрації яких охоплюють очікуване значення концентрації у досліджуваному розчині.

За допомогою спектрофотометра можна вимірювати спектри відбивання, пропускання і флуоресценції речовини безпосередньо на пластинці. Світло, що падає на поверхню сорбенту, частково розсіюється, пропускається. Світло, яке потрапляє на пляму, – поглинається, і тому інтенсивність пропущеного світла зменшується при тих довжинах хвиль, які ці речовини поглинають. Вимірюють різницю між інтенсивністю світла, яке пропустив сорбент, та інтенсивністю світла, що пройшло крізь пляму речовини. Відбивання або пропускання падаючого світла визначають, пересуваючи пластинку або вимірювальний пристрій. Речовини, які містять радіонукліди, визначають безпосередньо на пластинці за допомогою лічильника радіоактивності.

### **Контрольні запитання і задачі**

1. Які різновиди хроматографічного аналізу належать до площинної (планарної) хроматографії?
2. Які переваги та недоліки площинної хроматографії порівняно з колонковою хроматографією?
3. Опишіть техніку виконання площинного хроматографічного аналізу. Як пояснюють самочинне просування рухомої фази вздовж шару сорбенту?
4. Поясніть суть висхідної, низхідної, кругової та двовимірної хроматографії.
5. Яким показником характеризується швидкість переміщення речовини в тонкому шарі сорбенту і як визначають цей показник?
6. Яких значень може набувати коефіцієнт рухомості  $R_f$  і чому?

7. Який зв'язок існує між коефіцієнтом рухомості  $R_f$  і коефіцієнтом розподілу  $D$ ?
8. Як розраховують коефіцієнт елективності  $\alpha$  на основі коефіцієнтів рухомості двох речовин?
9. Як проводять ідентифікацію речовин (якісний аналіз) у площинній хроматографії?
10. Які способи кількісного аналізу використовують у площинній хроматографії?
11. Які властивості повинен мати папір, що використовується в хроматографії на папері?
12. Які властивості повинні мати адсорбенти, що використовуються в тонкошаровій хроматографії? Назвіть найпоширеніші адсорбента в цьому виді хроматографічного аналізу.
13. Коефіцієнти рухомості малонової, янтарної, глутарової, адипінової та яблучної кислот дорівнюють відповідно 0,23; 0,30; 0,34; 0,40 та 0,19. Яка пара кислот буде розділятися найбільш повно? Які пари кислот неможливо розділити повністю? Довжина пробігу рухомої фази становить 10 см. Відповідь: адипінова та яблучна – повне розділення; малонова та яблучна, янтарна й глутарова – розділення неповне.
14. Розрахуйте коефіцієнт селективності  $\alpha$  розділення іонів  $\text{Co}^{2+}$  та  $\text{Ni}^{2+}$  на папері, насиченому 8-оксихіноліном (нерухома фаза), при промиванні його діоксаном (рухома фаза). Для оксихінолінатних комплексів указаних іонів значення  $R_f$  дорівнюють відповідно 0,94 і 0,79. Відповідь: 4,16.

### 3. ІОНООБМІННА ХРОМАТОГРАФІЯ

Вперше на іонний обмін звернули увагу вчені, які ставили досліди з агрохімії. Англійські вчені Томпсон, Уей у 1850 р. писали, що при фільтруванні розчину солі амонію крізь ґрунт у фільтраті з'являються іони кальцію, а іони амонію не виявляються. Уей встановив, що із складових ґрунту

іонообмінні властивості має глина. Використання природних і синтетичних цеолітів у промисловості запровадив Р.Ганс, який опублікував свою працю про ці матеріали у 1905 р. У 1935 р. Б.Адамс і Е.Холмс опублікували працю про синтез органічних іонітів на основі полімерів бензолу і формальдегіду. Далі синтез іонітів удосконалювався, їх почали використовувати з аналітичною метою. У 1947 р. радянські вчені Е.Н.Гапон, Т.В. Гапон, Ф.М.Шемякін пов'язали хроматографічне розділення іонів з іонним обміном і розглянули розділення низки іонів на колонці, заповненій пермутитом. Вони розробили новий метод аналізу суміші солей, названий іонообмінною хроматографією. Це дало змогу пояснити досліди німецького вченого М.Шваба з розділення сумішей іонів на оксиді алюмінію як процес іонообмінної хроматографії.

До методів розділення, які ґрунтуються на реакціях іонного обміну між твердою або рідкою нерухомою фазою і рідкою рухомою фазою, належать *класична іонообмінна хроматографія та високоефективна рідинна хроматографія на іонообмінних сорбентах – іонна хроматографія*. До цієї групи методів можна також віднести *іон-парну, лігандообмінну, осадову та адсорбційно-комплексоутворювальну хроматографію іонів*.

Переважає більшість неорганічних і значна частина органічних сполук у водних розчинах дисоціює з утворенням простих гідратованих катіонів, простих і складних аніонів та комплексних іонів. Для їх розділення використовують сорбенти, до складу яких входять іони, здатні обмінюватись на інші іони, що містяться в розчині.

### **3.1. Особливості розподілу іонів між фазами**

Позначимо символом  $R$  частину іонообмінного сорбенту, яка має один негативний ( $R^-$ ) або один позитивний ( $R^+$ ) заряд. Ці заряди на сорбенті компенсовані протиіонами, наприклад іонами  $H^+$  ( $RH$ ),  $OH^-$  ( $ROH$ ) або іншими катіонами чи аніонами. У першому випадку маємо катіонообмінний сорбент (катіоніт), у другому – аніонообмінний (аніоніт).

Обмін іонів на катіонітах та аніонітах є оборотним процесом і відбувається в еквівалентних співвідношеннях:



Рискою вгорі позначено тверду фазу іонообмінного сорбенту. У загальному вигляді обмін  $\text{M}^{m\pm}$  на  $\text{N}^{n\pm}$  можна зобразити рівноважним рівнянням:



Стан іонообмінної рівноваги залежить від сорбційної здатності іонів  $\text{M}^{m\pm}$  та  $\text{N}^{n\pm}$  і від їх концентрації в розчині та у фазі іонообмінного сорбенту. Тому рівновага (2.4) може бути зміщена вправо або вліво зміною активності (концентрації) іонів  $\text{M}^{m\pm}$  та  $\text{N}^{n\pm}$  у розчині або у фазі сорбенту. При цьому концентрацію іонів у розчині виражають у моль/л, а у фазі сорбенту – у ммоль/г або в моль/кг.

За хімізмом сорбції методи іонообмінної та іонної хроматографії відрізняються від методів, які ґрунтуються на міжфазовому розподілі молекул. Проте загальні закономірності просування зон іонів у фазі сорбенту (в колонці) аналогічні розглянутим для молекулярної хроматографії і, як правило, описуються загальними положеннями теорії хроматографічного аналізу.

### 3.2.Класифікація та властивості іонообмінних сорбентів

Іонообмінники можна розглядати як сорбенти, що складаються з двох частин – "каркаса" (матриці), котрий не бере участі безпосередньо в реакції іонного обміну, та *іоногенних груп*, до складу яких входять здатні до обміну іони. Залежно від природи "каркаса" іонообмінники поділяють на дві групи: неорганічні іонообмінні сорбенти (природні мінеральні іонообмінники, синтетичні неорганічні іоніти, окиснене вугілля тощо) та органічні іонообмінні сорбенти (іонообмінні смоли, целюлозоіонгти, рідкі високомолекулярні іоніти тощо). Залежно від природи іоногенних груп іонообмінні сорбенти поділяють

на катіоніти, аніоніти, біполярні (амфотерні) іонообмінники та комплексоутворювальні іоніти.

**Неорганічні іонообмінні сорбенти.** За будовою "каркаса" неорганічні іонообмінники поділяють на два типи: з кристалічною будовою (алюмосилікати, солі гетерополікіслот та ін.) та аморфні сполуки (гідроксиди багатовалентних металів, їх солі тощо). Вони відрізняються між собою за стійкістю до дії кислот, лугів і комплексоутворювальних органічних реагентів, а також за деякими фізичними властивостями. У катіонообмінних сорбентах рухомими іонами найчастіше є  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$  та  $\text{H}^+$ , а в аніонообмінних – іони  $\text{OH}^-$ . Позитивними властивостями неорганічних іонітів є їх стійкість до високих температур і до дії потужного радіоактивного випромінювання. Проте їх обмінна ємність досить мала і як правило не перевищує 0,3-0,5 ммоль/г.

Як іонообмінні сорбенти можна використовувати матеріали, розглянуті для молекулярної хроматографії, оскільки один і той самий твердий сорбент часто виявляє як адсорбційні, так і іонообмінні властивості. Нижче наведено короткі характеристики-сорбентів, що виявляють іонообмінні властивості.

Серед *природних* мінеральних іонітів найчастіше використовують цеоліти: анальцит  $\text{Na}[\text{AlSi}_2\text{O}_8] \cdot \text{H}_2\text{O}$ , фозатит  $\text{CaMa}_2[\text{Al}_2\text{Si}_5\text{O}_{14}] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , стильбіт  $1/2\text{CaNa}[\text{AlSi}_3\text{O}_8] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  та натроліт  $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{Si}_3\text{O}_8 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ; глинисті мінерали: монтморилоніт і каолініт; силікати – серпентиніт, тремоліт, тощо.

Серед *синтетичних* неорганічних іонообмінних сорбентів найширше застосовують силікагелі, штучний алюмосилікат пермутит, оксид алюмінію, а також цирконілфосфат, малорозчинні солі гетерополікіслот, фосфати й амфотерні гідроксиди багатовалентних металів (стануму, цирконію, титану, ніобію, вольфраму) та їх суміші. Деякі з них є досить селективними, наприклад цирконілфосфат добре сорбує іони лужних елементів, зокрема радіонукліди цезію. Значну селективність до окремих катіонів виявляють малорозчинні фєроціаніди.

*Силікагель* ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) має кислотні властивості та здатний до обміну катіонів внаслідок заміщення іонів гідрогену гідроксильних груп. Недоліком силікагелю як іоніту є його руйнування в разі використання високоіонних рухомих фаз або рухомих фаз із високим і низьким значеннями рН. А це умови, типові для іонообмінної хроматографії. В цьому випадку застосовують матеріали на полімерній основі.

Ємність немодифікованого силікагелю невисока, кількість ОН-груп залежить від ступеня дегідроксилювання поверхні і може помітно змінюватися. Тому доцільніше використовувати модифікований для іонообмінної хроматографії силікагель.

*Органічні іонообмінні сорбенти.* До цього класу сорбентів належать синтетичні високомолекулярні органічні сполуки – іонообмінні смоли, до складу яких входять іонообмінні (іоногенні) групи, а також целюлозоіоніти – продукти хімічно модифікованих целюлозних порошків та волокнистих целюлоз.

*Іонообмінні смоли (іоніти)* складаються з вуглеводневого "каркаса" (матриці) та іоногенних груп, хімічно зв'язаних з матрицею. Структура матриці значно впливає на фізичні властивості іонітів, зокрема на їх здатність набухати в різних розчинниках та на кінетику іонного обміну. Перевагами органічних іонітів є стійкість до дії високоіонних, сильнокислих і сильноосновних рухомих фаз; більша обмінна ємність, ніж неорганічних іонітів; більша швидкість обміну; велика механічна стійкість. Недоліком їх є те, що полімерна структура здатна по-різному набухати або усаджуватись при вбиранні рухомої фази чи при її втраті.

Для синтезу високомолекулярного нерозчинного "каркаса" використовують реакції полікондесації або полімеризації органічних сполук.

Лінійні полімери "зшивають" за допомогою певного реагенту, наприклад дивінілбензолу у випадку лінійних макромолекул полістиролу, і таким чином отримують матрицю із сітчастою структурою. Змінюючи кількість "зшивного"

реагенту, можна отримати матриці з різною жорсткістю їх структури. Чим менш "жорсткою" є матриця, тим більше набухає іоніт при контакті з розчинником, молекули якого проникають усередину іоніту й забезпечують можливість іонного обміну в усьому його об'ємі. Зі зменшенням жорсткості матриці іоніту прискорюється кінетика іонного обміну.

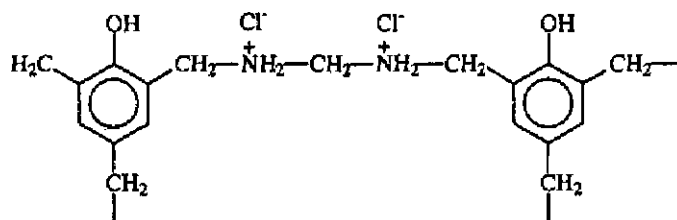
Внаслідок чого відбувається набухання? Іоногенні групи гідрофільні. Коли смола вступає в контакт з водою, ці групи намагаються розчинитися. Оскільки іоногенні групи міцно зв'язані з полімером, вони також намагаються перевести в розчин полімер. Цього не стається тому, що поперечні зв'язки між вуглеводневими ланцюгами утримують ланцюги разом. Таким чином смола набухає, але не розчиняється у воді.

Іоногенні групи, здатні до обміну іонів, вводять у структуру полімеру після його отримання або разом із первинним мономером; останній спосіб доцільніший, оскільки він забезпечує максимально рівномірний розподіл іоногенних груп в усій матриці сорбенту.

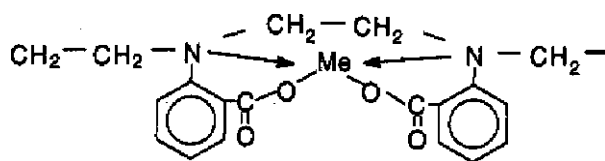
*Катіоніти* – це іоніти, що обмінюють катіони. До їхнього складу найчастіше входять іоногенні групи, здатні до обміну катіонів: сульфо- ( $-\text{SO}_3\text{H}$ ), карбокси- ( $-\text{COOH}$ ), оксифенільна ( $-\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$ ), дигідрофосфітна ( $-\text{PO}_3\text{H}_2$ ), сульфгідрильна ( $-\text{SH}$ ). Частина іоногенної групи, що зв'язана з матрицею, називають *фіксованим іоном* ( $-\text{SO}_3^-$ ,  $-\text{COO}^-$ ,  $-\text{PO}_3^{2-}$  тощо). Рухомий іон, який може обмінюватись на інший, називають *протиіоном* ( $\text{H}^+$ ). Обмінна ємність катіонітів, наприклад за іонами  $\text{Na}^+$ , залежить від рН середовища. Для сильноокислотних катіонітів, до складу яких входять фіксовані аніони сильної сульфатної кислоти, рівноважна обмінна ємність майже не залежить від рН розчину, тоді як для слабоокислотних ця залежність є значною і зумовлена силою відповідної кислоти. У сильноокислому середовищі пригнічується дисоціація слабоокислотних груп, зменшується кількість протиіонів, які здатні обмінюватись, тобто зменшується обмінна ємність.

*Аніоніти* – це іоніти, які обмінюють аніони. До їх складу входять такі іоногенні групи як первинні, вторинні та третинні аміногрупи ( $-\text{NH}_2$ ,  $=\text{NH}$  та  $=\text{N}-$ ), а також група четвертинної амонійної основи  $=\text{N}^+=$ . На аніонітах протиіонами є рухомі гідроксильні або інші аніони, а фіксованими іонами – групи  $-\text{NH}_3^+$ ,  $=\text{NH}_2^+$  та  $=\text{N}^+=$ .

*Біполярні (амфотерні) іоніти* – це іоніти, які обмінюють як катіони, так і аніони. Особливістю цих сорбентів є те, що до їх складу входять як кислотні, так і основні іоногенні групи. Представником таких іонітів є продукт поліконденсації діетиленаміну, фенолу та формальдегіду. Структуру сорбенту в хлороводневій формі можна зобразити так:



*Комплексоутворювальні іоніти* – сполуки, до складу яких входять певні угруповання атомів, здатні утворювати координаційні зв'язки з іонами металів. Комплексоутворювальні іоніти є селективними відносно іонів певних металів або груп металів. Наприклад, типовими комплексоутворювальними іонітами є синтетичні органічні сорбенти, до складу яких входять карбоксильні й аміногрупи так просторово розміщені, щоб при сорбції іонів металів могли утворюватись хелати зі стійкими чотири-, п'яти- або шестичленними циклами:



До складу комплексоутворювальних іонітів можуть бути включені структурні ланки молекул специфічних (селективних) аналітичних реагентів.

У зв'язку з великою кількістю органічних аналітичних реагентів, специфічних щодо іонів певних металів або груп металів, використання іонітів



цього типу надзвичайно перспективне для селективної сорбції та концентрування мікродомішок іонів металів.

### **3.3. Підготовка іонообмінних смол**

Ефективність іонного обміну залежить від структури макромолекул іоніту. Якщо зерна іоніту мало набухають, то ступінь проникнення зерен залежить в основному від площі поверхні і розміру пор зерна. Якщо зерна іоніту сильно набухають, то доступ іонів до функціональних груп полегшується, сорбційна ємність збільшується, швидкість встановлення іонної рівноваги між зернами і розчином зростає. Набухання зерен залежить від рН розчину, хімічної природи сорбованого іона і температури.

Для сульфокатіонітів ступінь набухання зерен у воді або сольовому розчині малої концентрації зазвичай більший, ніж їх набухання у розчинах кислот, які використовуються для регенерації катіонітів. Тому заміщення сорбованих іонів на іони гідроксонію проходить при меншій проникливості іонів, ніж сорбція катіонів. Це ускладнює повне вилучення сорбованих катіонів. Збільшене набухання зерен іоніту погіршує їх стійкість. Якщо набухання зерен у процесі роботи колонки різко змінюється, то зерна іонітів поступово руйнуються.

Зернам іонітів, які добре набухають, надають сферичної форми. Сферичні зерна щільніше заповнюють колонку і забезпечують добру фільтрацію рідини.

*Підготовка іонітів до роботи. Заповнення колонок.* Попередня обробка іонітів перед використанням в аналізі полягає у видаленні сторонніх катіонів і низькомолекулярних фракцій, які видаляють тривалим промиванням водою і розчинами кислот і лугів. Після очищення зерна підготовлюють до праці.

Іоніти синтезують в апаратурі, недостатньо захищеній від корозійної дії реакційного середовища, тому в гранули іонітів потрапляють іони металів, в основному феруму. Крім того, смоли можуть містити деяку кількість вихідних мономерів та інших органічних забруднювачів. Спочатку катіоніт витримують

упродовж 30-40 хв для набухання в насиченому розчині NaCl, промивають дистильованою водою до нейтральної реакції за метиловим оранжевим. Потім катіоніт масою 200-300 г вносять у велику ділильну лійку, заливають 5%-вим розчином NaOH, збовтують і залишають на 3-4 год. Далі рідину видаляють з лійки й до іоніту додають свіжу порцію NaOH. Таку обробку смоли повторюють до знебарвлення розчину лугу. Катіоніт 8-10 разів промивають водою, а потім 15%-вим розчином HCl до повного видалення іонів  $\text{Fe}^{3+}$  (проба з тіоціанатом калію). Після цього катіоніт відмивають дистильованою водою від соляної кислоти (проба з нітратом срібла), відфільтровують на лійці Бюхнера і висушують до повітряно-сухого стану. Так отримують катіоніти в  $\text{H}^+$ -формі.

*Аніоніти* після набухання у насиченому розчині NaCl обробляють у ділильній лійці 2%-вим розчином HCl до повного видалення іонів  $\text{Fe}^{3+}$ , промивають дистильованою водою та обробляють 5%-вим розчином лугу до знебарвлення розчину і нейтральної реакції на хлорид-іони. Багаторазова обробка лугом забезпечує повне видалення мономерів, які залишилися у синтезованому іонообміннику. Слабкоосновні аніоніти обробляють 5%-вим розчином карбонату натрію. Відмивають іоніти від лугу (карбонату) дистильованою водою до нейтральної реакції за фенолфталеїном і висушують до повітряно-сухого стану. В результаті отримують аніоніт в  $\text{OH}^-$ -формі.

*Біполярні* (амфотерні) іоніти обробляють послідовно розчинами NaCl, NaOH,  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  та HCl, отримуючи їх в  $\text{H}^+$ -формі за кислотними і в Cl-формі – за основними іоногенними групами.

*Комплексоутворювальні* іоніти, які в лабораторних умовах зазвичай синтезують у водневій або натрієвій формі, є достатньо чистими і як правило не потребують попередньої підготовки.

Переводити зерна іоніту в будь-яку форму можна безпосередньо в колонці. Такий процес називають також *регенерацією* іоніту, оскільки його

треба повторювати перед кожним новим використанням однієї й тієї ж самої порції іоніту. Її проводять зі швидкістю 1-3 мл/хв.

Хроматографічна колонка для класичної іонообмінної хроматографії являє собою скляну трубку типу бюретки завдовжки 30 см і внутрішнім діаметром 1 см. У нижній частині трубки на відстані 0,5 см від звуження розміщено пористий скляний фільтр або тампон зі скляної або бавовняної вати. Колонку заповнюють іонітом не більш, ніж на  $2/3$  її висоти. Заповнювати колонки рекомендується катіонітом у вологому стані. Спочатку його витримують у склянці з водою для набухання зерен і потім поступово переносять у колонку. Треба стежити, щоб в іоніт не потрапляли бульбашки повітря, оскільки при цьому утворюються канали, що знижує ефективність колонки. Під час заповнення колонки рідина не повинна витікати з неї, тоді зерна осідають за законами седиментації і на одному рівні розміщуються зерна одного й того самого розміру. Невпорядковане розміщення зерен різного діаметра спричинює додаткове розмивання зон досліджуваних іонів під час розділення. Іоніт завжди має бути вкритий рідиною. При заповненні колонки сухим іонітом досягти рівномірного заповнення не вдається. Однак описаний вище спосіб непридатний для тонкоподрібнених іонітів або іонітів, які сильно набухають.

*Фактори, що впливають на селективність сорбції іонів іонітами.* Селективність сорбції іонів зумовлена їх властивостями та властивостями іонообмінного сорбенту, що залежать від багатьох факторів, сукупний вплив яких часто неможливо передбачити, хоча кожен з них може впливати в одному певному напрямку – підсилювати або ослаблювати сорбцію іонів. На підставі теорії іонообмінної сорбції можна окреслити основні фактори, що впливають на сорбцію іонів іонітами різної природи:

- електростатична взаємодія сольватованих (гідратованих) іонів із гідрогенними групами іонітів;
- енергія сольватації (гідратації) іонів у розчині та у фазі іоніту;
- вплив сольватації (гідратації) іонів на структуру розчинника (води) у зовнішньому розчині та у фазі іоніту;

- утворення донорно-акцепторного зв'язку між іонами, які сорбуються, та іоногенними або іншими групами іоніту;
- здатність до набухання і розміри пор іонообмінного сорбенту.

Теорія іонообмінної хроматографії складніша, ніж молекулярної, що зумовлено а основному міжіонною взаємодією як у розчині, так і у фазі сорбенту. Вона складається зі статички (рівноваги), кінетики й динаміки іонообмінних процесів. Однак, незважаючи на складніший хімізм іонообмінної сорбції порівняно з молекулярною, кількісні характеристики сорбції іонів, важливі для вирішення аналітичних задач, можна описати за певних умов такими самими рівняннями, як і в разі сорбції молекул.

### **3.4. Застосування іонообмінної хроматографії**

Іонообмінно-хроматографічний метод використовують для вирішення різноманітних аналітичних завдань – розділення та кількісного визначення неорганічних і органічних компонентів, отримання аналітичних концентратів, визначення концентрації іонів у водних розчинах тощо.

Іоніти, модифіковані органічними аналітичними реагентами, використовують для візуального тестування іонів металів у вигляді забарвлених сполук, які утворюються у фазі сорбенту. Кількісне визначення можливе безпосередньо в сорбенті методом спектроскопії дифузного відбивання або будь-яким методом у десорбаті, отриманому обробкою іоніту відповідним елюентом. Якщо іоніт використовують у вигляді тонкої плівки, то сорбовані іони можна визначати спектрофотометричним або фотометричним методом, вимірюючи оптичну густину плівки.

Методом іонообмінної хроматографії можна розділяти органічні кислоти та основи, а також речовини неіонного характеру отриманням продуктів конденсації або координації їх із простими іонами. Порівнюючи процес іонного обміну органічних сполук і неорганічних іонів, треба пам'ятати, що при розділенні органічних іонів важко передбачити селективність сорбції, а

отже, і порядок елюювання. Чим більша молекулярна маса органічної кислоти або основи, тим сильніше вона утримується іонообмінною смолою. Однак, якщо розмір іонів більший за розміри пор, то смоли проявляють "ситовий" ефект, і сорбція великих іонів зменшується. При розділенні органічних іонів часто застосовують неводні розчинники. Різниця сили кислот або основ значно впливає на селективність сорбції, тому регулюючи рН елюенту, можна досягти потрібного розділення.

Іонний обмін використовують для аналізу нелетких органічних сполук. Леткі органічні сполуки зручніше розділяти методом газової хроматографії.

Іонообмінною мембраною називають плівку, отриману з іонообмінної смоли. Крізь катіонітні мембрани можуть проникати тільки катіони, а крізь аніонітні – тільки аніони. Цю властивість іонообмінних мембран використовують для розділення катіонів і аніонів, а також для їх відокремлення від неелектролітів методом електродіалізу.

Іонітні мембрани використовують також для виготовлення іоноселективних електродів. Мембранний електрод – це трубка, один кінець якої запаяний іонітною плівкою. Трубку заповнюють розчином електроліту, іонами якого "заряджена" іонітна мембрана. При зануренні такого електрода в розчин, що містить такі самі іони, на іонітній плівці виникає концентраційний потенціал, величина якого залежить від різниці концентрацій іонів по обидва боки мембранної плівки.

Крім аналітичної хімії, іонообмінні сорбенти використовують також в інших галузях, зокрема для синтезу нових хімічних сполук, вилучення цінних компонентів із відходів промислових виробництв, вивчення процесів комплексоутворення в розчинах тощо.

### **3.5. Іонна хроматографія**

Класична іонообмінна хроматографія – це метод розділення та аналізу іонних сполук, в якому використовують сорбенти високої ємності (2-5 ммоль/г).

Для елюювання досліджуваних речовин з такого сорбенту необхідні великі об'єми елюенту високої концентрації. У класичній іонообмінній хроматографії, як і в класичній рідинній молекулярній хроматографії застосовують колонки з великим внутрішнім діаметром 10-20 мм, довжиною 10-50 см, з великим діаметром зерна сорбенту 100-200 мкм. Елюент крізь колонку рухається при атмосферному тиску. Як у разі молекулярної хроматографії, так і при розділенні іонів більш результативним є розділення способом високоефективної хроматографії із застосуванням спеціальних хроматографів, які можуть працювати при різних швидкостях потоку рухомої фази під високим тиском. Розвиток високоефективної іоннообмінної хроматографії розпочався у 1975 р., коли було розроблено універсальний детектор для реєстрування іонних сполук, і коли Г.Смолл, Т.Стівенс і В.Батман запропонували двоколонковий варіант іонної хроматографії. У 1979 р. Д.Гьєрде, Д.Фрітц і Г.Шмуклер запропонували одноколонковий варіант іонної хроматографії.

*Іонна хроматографія* – це метод високоефективної іонообмінної хроматографії, в якому використовують хроматографи, що дають змогу проводити високоефективні розділення іонів на мікроколонках, заповнених щільно упакованим сорбентом з малим діаметром зерен.

Іонна хроматографія реалізується у двох варантах: *двоколонковому* і *одноколонковому*. В обох випадках розділення відбувається під тиском до 60 МПа. Детектування виконують за допомогою кондуктометричного детектора, який вимірює електропровідність елюенту й елюату. Електропровідність елюенту має значно відрізнятися від електропровідності досліджуваної речовини для забезпечення високої чутливості визначення. Якщо елюент має електропровідність меншу, ніж досліджуваний іон, то детектування називають *прямим*, якщо навпаки – *зворотним*.

*Двоколонкова іонна хроматографія.* В цій схемі використовують дві колонки, які з'єднані послідовно. Першу колонку – *роздільну* – заповнюють

іонітом малої ємності. В ній відбувається розділення іонів та їх послідовне елюювання. Другу колонку – *компенсаційну* – заповнюють іонітом високої ємності. Вона використовується для перетворення елюенту на речовину з малою електропровідністю.

*Роздільна колонка.* Роздільну колонку заповнюють сорбентом з малою ємністю (0,001-0,1 ммоль/г), оскільки використовуються розбавлені розчини елюентів (<0,01 М). Для неї використовують сорбенти з діаметром зерна 5-50 мкм, які мають високу механічну стійкість і хімічну стійкість в широкому діапазоні рН.

Для високоефективного розділення найкраще використовувати поверхнево-пористі сорбенти, які містять іоногенні групи.

*Елюенти* в іонній хроматографії мають швидко і селективно витіснити іони з роздільної колонки, а після проходження компенсаційної системи перетворюватись на сполуку, електропровідність якої максимально відрізняється від електропровідності визначуваного іона. Застосовують водні розчини речовин з концентрацією в межах 1-10 мМ. Чим менша концентрація елюенту, тим більша тривалість роботи компенсаційної системи між регенераціями.

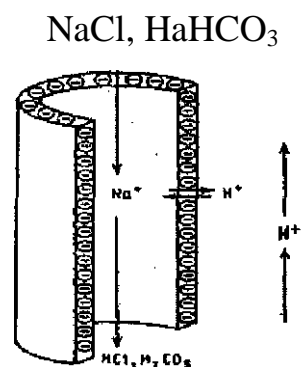
Для розділення катіонів у двоколонковому варіанті як елюенти використовують розбавлені розчини сильних кислот, солей слабких основ –  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{BaCl}_2$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ . Для розділення аніонів – розбавлені розчини лугів, солей слабких кислот (пряме детектування) або сильних кислот (обернене детектування).

*Компенсаційна система* може бути колонковою або мембранною.

*Колонкова система.* Як уже зазначалось, компенсаційну колонку заповнюють сорбентом з високою ємністю, щоб часто не регенерувати колонку, на якій залишаються заважаючі іони. Для розділення катіонів колонку заповнюють аніонітом, для розділення аніонів – катіонітом. Недоліком колонкової системи є необхідність періодичної регенерації сорбенту.

Тривалість постійної роботи колонки між регенераціями становить 6-10 год. Вирішити цю проблему можна двома шляхами: використанням двох (одна задіяна в аналізі, друга регенерується) чи трьох (одна в циклі, друга – регенерується кислотою, третя – промивається від кислоти водою) компенсаційних колонок або використанням мембранної системи.

*Мембранна система.* Компенсаційна мембрана (рис.19) – це тонка порожниста трубка, стінки якої виготовлені з іоніту. Наприклад, для аналізу аніонів мембрану виготовляють з катіонообмінного іоніту. Всередині трубки тече елюат. Ззовні трубки протитечією подається регенеруючий розчин  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Крізь стінки відбувається обмін  $\text{Na}^+$  на  $\text{H}^+$ , і на виході з трубки елюент перетворюється на слабку кислоту, а визначувані аніони – на сильні кислоти.



**Рис.19.** Мембранна система компенсації для розділення аніонів.

При цьому аніони регенерату, елюенту та визначуваного зразка не можуть проходити крізь стінку трубки. Для того щоб регенерація встигала відбуватися, використовують довгі трубки, закручені у спіраль, швидкість подачі елюенту має бути не більшою 1 мл/хв. Щоб можна було збільшити швидкість потоку елюенту, всередину трубки вміщують ще одну мембранну спіральну трубку, а розчин регенерату подають ззовні та зсередини, що прискорює процес обміну іонів.

*Одноколонкова іонна хроматографія.* У такій схемі використовують одну колонку, в якій відбувається розділення. Для збереження високої чутливості визначення застосовують елюенти з низькою електропровідністю, які мають рН в межах 3-8.



Переваги одноколонкової схеми перед двоколонковою полягають у такому:

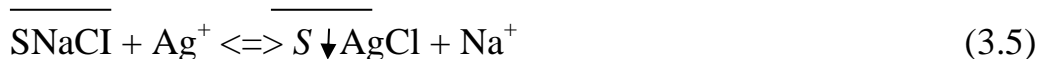
- вища ефективність через зменшення вільного об'єму за рахунок виключення додаткової колонки;
- простіша апаратура;
- можливість використання різних детекторів;
- ширший вибір елюентів;
- менш жорсткі вимоги до сорбентів.
- Недоліками цієї схеми є:
- менша чутливість ( $>0,1$  мг/л);
- вузький лінійний діапазон концентрації визначуваних іонів.

Для розділення катіонів як елюенти використовують розбавлені розчини нітратної кислоти, солі етилендіамонію. Детектування в цьому разі зворотне. Для розділення аніонів як елюенти застосовують розбавлені розчини солей бензойної, фталевої та сульфобензойної кислот.

### 3.6. Осадова хроматографія іонів

Осадова хроматографія сформувалася в самостійний метод після праць в 1948-52 роках радянських вчених Е.Н.Гапон, Т.Б.Гапон і І.М.Беленької.

Метод осадової хроматографії ґрунтується на утворенні малорозчинних сполук при взаємодії двох іонів, один з яких знаходиться у твердій фазі сорбенту у вигляді солі або комплексної сполуки (реагент-осаджувач), а другий – у розчині. Наприклад, якщо у фазі сорбенту  $S$  (носії) знаходиться сіль  $\text{NaCl}$ , то при його контактуванні з розчином, в якому є іони  $\text{Ag}^+$ , у фазі сорбенту утвориться малорозчинна сполука  $\text{AgCl}$ :



Аналогічно, якщо у фазі сорбенту знаходиться сіль  $\text{AgNO}_3$ , і такий сорбент ввести у контакт з розчином, в якому є іони  $\text{Cl}^-$ , то відбувається реакція:



Отже, при утворенні осадових хроматограм одночасно відбувається також процес іонного обміну.

Якщо у розчині знаходяться катіони  $M^{m+}$  та  $N^{n+}$ , які утворюють у фазі сорбенту з аніонами  $A_z$  малорозчинні сполуки, то розділення цих катіонів методом осадової хроматографії можливе тільки за різної розчинності малорозчинних сполук  $M_zA_m$  і  $N_zA_n$ . Аналогічно розділення аніонів  $A^{z-}$  і  $B^{y-}$  вигляді малорозчинних сполук  $M_zA_m$  і  $M_yB_m$  можливе тільки за різної розчинності цих сполук.

### 3.6.1. Фізико-хімічні основи осадової хроматографії

Хімізм утворення малорозчинних сполук у фазі сорбенту є різним і залежить від складу та властивостей сорбенту.

А. Сорбент складається з двох сполук: нерозчинного (носія) і адсорбованого на ньому реагента-осаджувача. Носій безпосередньо не бере участі в утворенні малорозчинних сполук. Наприклад, при пропусканні розчину солі феруму (III) крізь колонку, заповнену оксидом алюмінію з адсорбованим на його поверхні гексаціанофератом калію, у колонці утворюється синя зона гексаціаноферату феруму(III).

Б. Сорбент є одночасно носієм і осаджувачем. По-перше, у такому разі сорбент, який є малорозчинним у воді реагентом, може безпосередньо реагувати з іонами, що містяться в розчині й утворювати зону малорозчинної сполуки. Наприклад, унаслідок пропускання розчину солі ніколу крізь колонку, заповнену диметилгліоксимом ( $\text{H}_2\text{Dm}$ ), утворюється рожева зона диметилгліоксимату ніколу.

Утворення осаду супроводжується частковим розчиненням сорбенту і його перетворенням на іншу тверду фазу. По-друге, внаслідок іонного обміну

сорбент може виділяти у розчин іони-осаджувачі, які утворюють у фазі сорбенту з визначуваними іонами малорозчинну сполуку.

За наявності у досліджуваному розчині декількох іонів, які утворюють із реагентом-осаджувачем забарвлені осаді, на хроматографічній колонці формуються відповідно забарвлені зони. Чіткість їх розділення залежить від розчинності осадів – чим більшою є різниця в їх розчинності, тим чіткіше розділення окремих зон.

*Розрахунок послідовності розміщення зон в осадових хроматограмах.* За умови близьких концентрацій іонів, які розділяються, зони осадів у хроматограмі розміщуються відповідно до їх розчинності, яку розраховують на основі добутку розчинності ( $DP$ ). Послідовність утворення зон двох малорозчинних сполук  $M_zA_m$  і  $N_zA_n$  визначається відношенням їх добутків розчинності. Для обчислення послідовності розташування зон малорозчинних сполук знаходять найменше спільне кратне зарядів досліджуваних іонів, а потім зводять  $DP$  відповідних осадів до ступеня, добуток якого на величину заряду даного іона дорівнює знайденому найменшому спільному кратному. Таким способом описується умова однакової концентрації осаджувача  $A^z$  у чисельнику і знаменнику. Отриманий ряд цифр у напрямку їх збільшення ( $Q>1$ ) відповідає послідовності розміщення зон осадів на хроматограмі.

### **3.6.2. Осадіві хроматограми на папері**

Носієм слугує фільтрувальний папір або спеціальний папір для хроматографування, з якого вирізають смуги розміром близько  $2 \times 4$  см або кружечки діаметром 3-4 см. Папір занурюють у 4-5%-вий розчин осаджувача, після чого висушують. Досліджуваний розчин наносять на папір краплями за допомогою капілярної трубки. Кожну наступну краплю наносять в одне і те саме місце після висушування попередньої. При цьому на папері поступово утворюється хроматограма, в якій зони окремих осадів розміщені від центра у вигляді кілець, у порядку збільшення їх розчинності. Якщо окремі кільця

проявляються не досить чітко, то первинну хроматограму промивають декількома краплями чистого розчинника, наносячи його в центр хроматограми.

*Дифузні осадові хроматограми* утворюються внаслідок дифузії іонів досліджуваного розчину в гелях, в яких міститься осаджувач. Для отримання таких хроматограм розтоплений желатин, агар-агар або інший гель, до якого додано розчин осаджувача, вносять у пробірки і залишають для охолодження. Потім на поверхню гелю наносять декілька крапель досліджуваного розчину, який дифундує в гель, внаслідок чого у фазі останнього утворюються зони малорозчинних осадів.

Дифузні хроматограми можна отримати в капілярних трубках, запаяних з одного кінця і заповнених розчином осаджувача (без гелю). Такі капіляри занурюють у досліджуваний розчин відкритим кінцем. Унаслідок дифузії розчинених речовин у капіляр в ньому утворюються зони малорозчинних сполук.

### **3.6.3. Фактори, які впливають на формування осадових хроматограм. Застосування осадової хроматографії в аналізі**

Розрахунки умов утворення осадових хроматограм, виконані з використанням ДР, належать до ідеальних умов. Вони не враховують можливі процеси сорбції іонів на носії, кінетичні ускладнення при утворенні осадів у твердій фазі сорбенту, вплив розчинника на утримування осаджувача носієм тощо. У реальних умовах утворення осадів "у чистому вигляді" є практично неможливим, тому розділення іонів може й не відбуватися, навіть коли осадки значно відрізняються за розчинністю. Для створення оптимальних умов формування осадових хроматограм потрібно враховувати вплив додаткових факторів, пов'язаних з вибором носія (сорбенту), осаджувача, розчинника тощо.

Носій (сорбент) повинен мати розвинену поверхню і бути індиферентним до компонентів розчину, який аналізується, а також до розчинника. Найчастіше

використовують силікагель, оксид алюмінію, сульфати барію, скляний порошок, глинисті мінерали. Доцільно застосовувати носії з діаметром зерен 0,02-0,10 мм. Чим більшою є сорбційна ємність носія стосовно осаджувача і малорозчинних сполук, тим чіткішими будуть зони осадів в осадовій хроматограмі.

*Осаджувач.* Кількість осаджувача та його здатність сорбуватися на носії значно впливають на формування осадових хроматограм. Оптимальною вважають кількість осаджувача, що потрібна для заповнення сорбційної ємності носія (рис. 20). Хімічна природа осаджувача також впливає на компактність зон в осадовій хроматограмі.

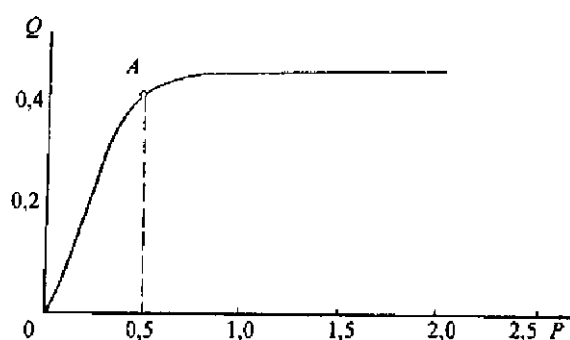


Рис. 20. Залежність сорбції осаджувача  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  від його кількості на носії  $\text{Al}_2\text{O}_3$ : P-кількість  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , мг-екв/г носія; Q- кількість сорбованого  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , мг-екв/г носія; A – оптимальна кількість осаджувача

Розчинник суттєво впливає на утворення зон в осадових хроматограмах. Чим менша розчинність осадів в обраному розчиннику, тим компактнішими є зони осадів. Якщо розчинник сприяє десорбції осадів, то осадова хроматограма не утворюється.

*Вторинні явища в осадовій хроматографії.* У деяких випадках зовнішній вигляд осадових хроматограм з часом змінюється внаслідок проходження фізичних та хімічних процесів у фазі сорбенту (дифузія іонів осаджувача, перекристалізація осадів, утворення нових сполук тощо). Наприклад, після утворення зон осадів  $\text{AgI}$  та  $\text{HgI}_2$  вони поступово зникають і формується зона

нового осаду  $\text{Ag}_2(\text{HgI}_4)$ . Тому ретельна стандартизація умов формування осадових хроматограм є обов'язковою для отримання правильних результатів.

*Застосування осадової хроматографії в аналізі.* Метод осадової хроматографії використовують в основному для якісного виявлення іонів неорганічних сполук. При цьому одночасно відбуваються концентрування визначуваних іонів у фазі сорбенту та їх розділення. За дотримання певних умов хроматографування можна отримати зони окремих осадів з чіткими межами, що дає змогу виконувати кількісний аналіз на основі висоти зон.

Якщо визначувані іони утворюють у фазі сорбенту забарвлені осади, то за характером їх забарвлення і висотою зони роблять висновок про якісний і кількісний склад проби. При утворенні безбарвних хроматограм їх проявляють певним реагентом, який утворює забарвлені сполуки з визначуваними іонами. При цьому окремі зони можуть переміщуватися у колонці залежно від розчинності забарвлених сполук та їх здатності сорбуватися на даному носії. Окремі зони осадів можна також виявляти за їх флуоресценцією або радіоактивністю, якщо малорозчинні сполуки мають відповідні властивості.

Кількісний аналіз можна також виконувати методом розбавлення. Для цього стандартний розчин концентрацією  $C_a$  (у будь-яких одиницях) розбавляють доти, доки на колонці або на папері перестане утворюватись забарвлена зона; при цьому для кожного визначення беруть один і той самий об'єм розчину.

Оскільки осадову хроматограму на папері отримують значно швидше, ніж у колонці, то кількісний аналіз методом розбавлення зручніше виконувати саме на папері.

### **3.7.Адсорбційно-комплексотворювальна хроматографія іонів**

У цьому виді хроматографічного аналізу використовують носії S (силікагель, оксид алюмінію, активоване вугілля, пінополіуретан тощо), на

поверхні яких адсорбовано комплексоутворювальний, найчастіше органічний, аналітичний реагент слабкокислотного типу  $H_yL$ .

Адсорбцію іонів металу  $M^{m+}$  на їх поверхні можна зобразити так:

$$\overline{S \cdot (H_yL)_p} + M^{m+} \longrightarrow \overline{S \cdot (H_{yp-m}ML)_p} + mH^+$$

Отже, одночасно з утворенням і адсорбцією комплексу відбувається також реакція іонного обміну.

Умови використання комплексоутворювальних реагентів у цьому виді хроматографії дають змогу практично зберігати їх реакційну здатність і створювати на цій основі високоселективні адсорбенти (твердофазові реагенти), які часто є ефективнішими порівняно з рідкими екстрагентами.

Очевидно, що адсорбція іонів буде тим більшою, чим стійкіший утворений комплекс, чим більша константа кислотної дисоціації реагенту  $H_yL$  і чим менша концентрація іонів  $H^+$  у розчині, з якого проводиться адсорбція. Зрозуміло, що за певного значення рН і певної надлишкової кількості адсорбованого реагенту величина сорбції двох іонів залежить від констант стійкості відповідних комплексних сполук, які утворюються у фазі адсорбенту, та їх здатності закріплюватись на даному носії.

*Якісний аналіз.* Оксид алюмінію марки "для хроматографії" після змочування водою набуває властивості сорбувати з водних розчинів комплексні сполуки іонів металів з різними органічними реагентами. Наприклад, на колонці, яка містить сорбований на оксиді алюмінію диметилглюксим, нікол утворює рожево-червону зону, а кобальт (II) – жовту, розміщену під зоною диметилглюксимату ніколу. Таким способом можна виявити 0,4 мкг ніколу за 3700-кратного надлишку кобальту або 3 мкг кобальту за 500-кратного надлишку ніколу.

Для якісного визначення іонів металів перспективними є такі системи: алізарин (Al, Zr, Th); алюмінон (Al, Be); арсеназо III (Zr, Hf, Th, U); диметилпіоксим (Ni, Co,  $Fe^{II}$ , Pd); 2,2'-дипіридил ( $Fe^{II}$ ); дитизон (Ag, Bi, Hg, Pb, Zn); дифенілкарбазид ( $Cr^{VI}$ ); 2-нітрозно-1-нафтол (Co); нітрозно-R-сіль (Co);

тіосечовина ( $\text{Bi}$ ,  $\text{Os}^{\text{VI}}$ ,  $\text{Ru}^{\text{IV}}$ ); фенілфлуорон ( $\text{Ge}$ ,  $\text{Sn}^{\text{V}}$ ,  $\text{Sb}^{\text{IV}}$ ); хіналізарин ( $\text{Al}$ ,  $\text{Ga}$ ) тощо. Регулюванням кислотності середовища можна поліпшити селективність визначення.

*Розділення іонів металів.* Оскільки комплексоутворювальний реагент закріплений на твердому носії, то неможливо розрахувати "концентрацію" ліганду, необхідну для зв'язування іонів металів у комплексні сполуки з урахуванням відповідних констант стійкості комплексів. Та очевидно, що в разі застосування реактивів слабкокислотного характеру підвищення рН середовища до певних меж має сприяти утворенню комплексів металів, які сорбуються. Для комплексів з різними константами стійкості вплив кислотності середовища на їх сорбцію різний. Тому для встановлення оптимальних умов розділення іонів металів залежність коефіцієнтів розподілу від рН розчину знаходять експериментально. Послідовне елюювання іонів металів з адсорбційно-комплексоутворювальної хроматографічної колонки виконують рухомою фазою з таким значенням рН, за якого спостерігається максимальний коефіцієнт селективності  $\alpha$ .

*Очищення солей від домішок сторонніх металів.* Адсорбційно-комплексоутворювальні хроматографічні колонки використовують для очищення солей металів, які не реагують з комплексоутворювальним реагентом, що міститься в колонці. При цьому на колонці сорбуються тільки іони металів, які є домішками. Після очищення певної порції розчину солі поглинені домішки вилучають елююванням певним розчинником і визначають кількісно. Так, одночасно реалізуються процес очищення солі й аналіз наявних у ній домішок. Наприклад, колонки з носієм – активованим вугіллем і сорбованим на ньому реагентом диметилгліоксимом або 1-нітрозо-2-нафтолом були використані для очищення сульфатів цинку і кадмію від мікродомішок іонів міді, феруму, ніколу і кобальту. Вміст їх після очищення 8-10%-вих розчинів зазначених солей становив  $1 \cdot 10^{-6}$  -  $1 \cdot 10^{-5}$  г/л, що засвідчує високу ефективність очищення.



### Контрольні запитання

1. Який хімічний процес лежить в основі осадової хроматографії іонів?
2. Назвіть носії, які найчастіше використовують в осадовій хроматографії.
3. Якими способами можна отримати осадові хроматограми?
4. Які основні фактори впливають на формування осадових хроматограм?
5. Для вирішення яких аналітичних завдань використовують осадову хроматографію?
6. У чому полягає суть адсорбційно-комплексоутворювальної хроматографії?
7. Які тверді носії використовують найчастіше в цьому методі?
8. Назвіть властивість комплексів, що утворюються на поверхні адсорбенту, яка впливає на послідовність розміщення зон у хроматограмі.
9. Укажіть основні напрямки використання адсорбційно-комплексоутворювальної хроматографії.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Айвазов Б.В. Введение в хроматографию. – М.: Высшая школа, 1983.
2. Анваер Б.И., Другов Ю.С. Газовая хроматография неорганических веществ. – М.: Химия, 1976.
3. Безвершенко И.А. Аффинная хроматография. – К.: Наукова думка, 1978.
4. Белявская Т.А., Большова Г.А., Брыкина Г.Д. Хроматография неорганических веществ: Практическое руководство. – М.: Высшая школа, 1986.
5. Березкин В.Г., Бочков А.С. Количественная тонкослойная хроматография. – М.: Наука, 1980.
6. Васильев В.П. Ч.2. Аналитическая химия. – М.: Высшая школа, 1989.
7. Вяхирев Д.А., Шушунова А.Ф. Руководство по газовой хроматографии. – М.: Высшая школа, 1975,
8. Высокоэффективная тонкослойная хроматография / Под. ред. А.Златкис, Р.Кайзер. – М.: Мир, 1979,
9. Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Курс газовой хроматографии. – М.: Химия, 1974.
10. Данилов І.П., Базалій Н.В., Бочарова В.П. Газова і рідинна хроматографія. – К.: НМК ВО, 1992.
11. Детерман Г. Гель-хроматография. – М.: Мир, 1970.
12. Киселев А.В., Яшин Я. И. Адсорбционная газовая и жидкостная хроматография. -М.; Химия, 1979.
13. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. – М.: Мир, 1981.
14. Количественный анализ хроматографическими методами / Под ред. Э.Кэц. – М.: Мир, 1990.
15. Лисенко О.М., Набиванець Б.Й. Вступ до хроматографічного аналізу. Навчальний посібник. – К.: Корвін-прес, 2005. – 187с.
16. Лурье А.А. Хроматографические материалы. – М.: Химия, 1978.

17. *Мархол М.* Ионообменники в аналитической химии: В 2 ч. – М.: Мир, 1985.
18. *Набиванец Б.И., Мазуренко Е.А.* Хроматографический анализ. – Киев: Вища школа, 1979.
19. *Набиванець Б.Й., Сухан В.В., Лисенко О.М.* Основи хроматографічного аналізу. К.: ВПЦ «Київський університет», 2002.
20. *Ольшанова К.М., Потапова М.А., Морозова Н.М.* Практикум по хроматографическому анализу. – М.: Высшая школа, 1970.
21. *Основы аналитической химии*/Под ред. Ю.А.Золотова. – Кн. 1. – М.: Высшая школа, 1996.
22. *Риман В., Уолтон Г.* Ионообменная хроматография в аналитической химии. – М.: Мир, 1973.
23. *Стыцкин Е.Л., Ициксон Л. Б., Брауде Е.В.* Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. – М.: Химия, 1986.

Навчальне видання

ФЕДОРЧЕНКО Софія Володимирівна

КУРТА Сергій Андрійович

# **ХРОМАТОГРАФІЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ**

Навчальний посібник

В авторській редакції

Головний редактор *В. М. Головач*

Підп. до друку 22.06.2012. Формат 60x84/16. Папір офсет.

Гарнітура "Times New Roman". Ум. друк. арк. 8,6.

Тираж 100 пр. Зам. № 75.

Видавець і виготовлювач

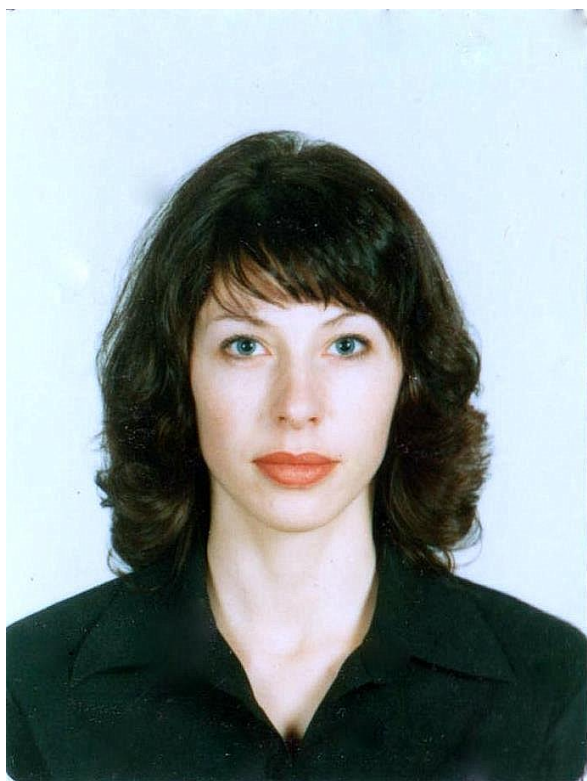
Видавництво Прикарпатського національного університету  
імені Василя Стефаника

76018, м. Івано-Франківськ, вул. С. Бандери, 1,

тел. 71-56-22, e-mail: [vdvcit@pu.if.ua](mailto:vdvcit@pu.if.ua)

*Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 2718 від 12.12.2006*

## ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ



**Федорченко Софія Володимирівна** – кандидат технічних наук, доцент кафедри органічної та аналітичної хімії ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника» в м. Івано-Франківськ. Основні наукові інтереси пов'язані з технологією одержання карбамідо-формальдегідних смол та композиційних матеріалів на їх основі, технологією очистки стічних вод. Автор двадцяти п'яти наукових праць, в тому числі 2-х патентів, 3-х навчальних посібників та 20 наукових статей і 15 виступів на міжнародних наукових конференціях.



**Курта Сергій Андрійович** - Академік АТН України, доктор технічних наук, професор кафедри хімії Інституту природничих наук ДНУЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника» м. Івано Франківськ, Україна. Автор 203 – опублікованих наукових та навчально-методичних праць, в тому числі 82 – статей у фахових наукових виданнях України, Росії, Польщі та США ( в.т.ч.16- статей за кордоном по міжнародним науково метричним базам даних Scopus), 15- авторських свідоцтв СРСР, 12-патентів України на винахід, 75 тез доповідей на міжнародних та українських наукових конференціях, 7 -навчально-методичних посібників і 2- монографії, які захищені 6-свідоцтвами авторського права на твір в Україні.