

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический
университет им. Д.И.Менделеева»

Новомосковский институт (филиал)

В.Н.Филимонов

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ
по физико-химическим методам анализа
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА
УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ

Новомосковск, 2018

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический
университет им. Д.И.Менделеева»

Новомосковский институт (филиал)

В.Н.Филимонов

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

по физико-химическим методам анализа

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ

Новомосковск, 2018

УДК 543.4

ББК 24.46

Рецензент : д.х.н., профессор, зав. кафедрой «Общей и неорганической химии» Новиков А.Н. (НИ РХТУ им. Д.И.Менделеева)

Филимонов В.Н. Лабораторный практикум по физико-химическим методам анализа. Хроматографические методы анализа. Учебно-методическое пособие / ФГБОУ ВО РХТУ им. Д.И.Менделеева, Новомосковский институт (филиал); Новомосковск, 2018.- 57 с.

В учебно-методическом пособии кратко изложены теоретические основы хроматографических методов разделения и анализа, Дано подробное описание лабораторных работ, аппаратуры, а также предлагаются вопросы для допуска к выполнению работ.

Пособие составлено с учетом компетентностного подхода к обучению в соответствии требованиям ФГОС ВО 3+ направлений подготовки : 18.03.01, 04.03.01, 27.03.01

УДК 543.4

ББК 24.46

© Новомосковский институт (филиал)
ФГБОУ ВО Российский химико-технологический
Университет им. Д.И.Менделеева, 2018

Содержание

1. Газовая хроматография	6
1.1. Теоретическое введение	6
1.2. Вопросы для допуска к работам	13
1.3. Лабораторные работы	13
2. Жидкостная хроматография	26
2.1. Высокоэффективная колоночная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)	26
2.1.1. Теоретическое ведение	26
2.1.2. Выбор хроматографической системы ...	32
2.1.3. Вопросы для допуска к работам	33
2.1.4. Лабораторные работы	34
2.2. Распределительная бумажная хроматография	38
2.2.1. Теоретическое ведение.	38
2.2.2. Вопросы для допуска к работам	39
2.2.3. Лабораторные работы	40
2.3. Ионообменная хроматография	45
2.3.1. Теоретическое ведение.	45
2.3.2. Вопросы для допуска к работам	48
2.3.3. Лабораторные работы	49
3. Рекомендуемая литература	57

История хроматографии началась, собственно говоря, еще при Аристотеле, который использовал глинозем для очистки морской воды.

Одним из наиболее ярких научных достижений XX века явилось открытие в 1903 году русским ученым М.С.Цветом (1872-1919гг) хроматографического метода исследования сложных смесей., основанный на избирательном поглощении отдельных компонентов анализируемой смеси, изложенный им впервые в докладе «О новой категории адсорбционных явлений и о применении их к биохимическому анализу» (14 марта 1903г.), а затем развитый в работах 1906-1910 гг.

Практически всё, окружающее нас,- минералы, почва, воздух, вода, растительный и животный мир,- представляют собой, с точки зрения аналитика, сложные смеси органических и неорганических соединений. Определение состава многокомпонентных смесей - типичная задача современной аналитической химии. Это объясняет исключительную роль хроматографических методов в современной науке и промышленности.

Х р о м а т о г р а ф и я - динамический сорбционный способ разделения смесей, основанный на распределении вещества между двумя фазами, одна из которых подвижна, а другая неподвижна, и связанный с многократным повторением сорбционных и десорбционных актов.

Хроматографические методы разделения веществ основаны на сорбционных процессах. Сорбция - общее понятие, включающее в себя адсорбцию (поглощение на поверхности фазы) и абсорбцию (поглощение всем объемом фазы). Сущность хроматографических методов состоит в том, что разделяемые вещества перемещаются через слой неподвижного сорбента (неподвижной фазы) вместе с подвижной фазой (жидкой или газообразной) с разной скоростью вследствие различной сорбируемости.

В основу классификации различных вариантов хроматографии положены: агрегатное состояние подвижной и неподвижной фаз, природа взаимодействия между фазами и разделяемыми веществами, аппаратное оформление эксперимента (табл. 1.1). В настоящем пособии материал излагается в соответствии с классификацией, основанной на агрегатном состоянии подвижной фазы.

Таблица 1.1

Классификация хроматографических методов по агрегатному состоянию фаз и их роли в хроматографическом процессе

Системы фаз	Неподвижная фаза	Подвижная фаза	Хроматографические методы	Год начала развития направления
Твердое тело-жидкость	Твердое тело	Жидкость	Жидкостно- твердая хроматография: жидкостно-адсорбционная жидкостно-адсорбционная с обращенными фазами ионообменная гель-фильтрационная	1903 1969 1938 1969
Жидкость-жидкость	Полярная жидкость	Неполярная жидкость	Жидкостно-жидкостная: Жидкостно-жидкостная с обращенными фазами (экстракционная)	1950
Твердое тело-газ	Твердое тело	Газ	Газо-адсорбционная (газо-твердая)	1950
Жидкость - газ	Жидкость	Газ	Газо-жидкостная	1952
Твердое тело - флюид	Твердое тело	Флюид (сверх критическая среда)	Флюидная (сверх критическая)	1966

1. Газовая хроматография

1.1. Теоретическое введение

В газовой хроматографии подвижной фазой является газ. В зависимости от агрегатного состояния неподвижной фазы различают: газо-твердую или газо-адсорбционную хроматографию (ГАХ), где неподвижная фаза – поверхность твердого тела; газо-жидкостную хроматографию (ГЖХ), где неподвижной фазой служит слой жидкости, нанесенный на инертный твердый носитель, который не участвует в процессе разделения смеси веществ.

Метод газовой хроматографии позволяет разделить и выполнить: количественный анализ смеси газов, низко- и высококипящих органических и неорганических веществ с температурой кипения до 400 °С. Это могут быть соединения с молярной массой до 500 г/моль.

Для реализации метода газовой хроматографии на практике применяют отечественные хроматографы : ЛХМ-8МД, ЛЖ-72, Цвет - 100, Цвет-500, Цвет-800, Агат-9, Кристалл-люкс и др.

Принципиальная схема аналитического лабораторного газового хроматографа представлена на рис. 1.

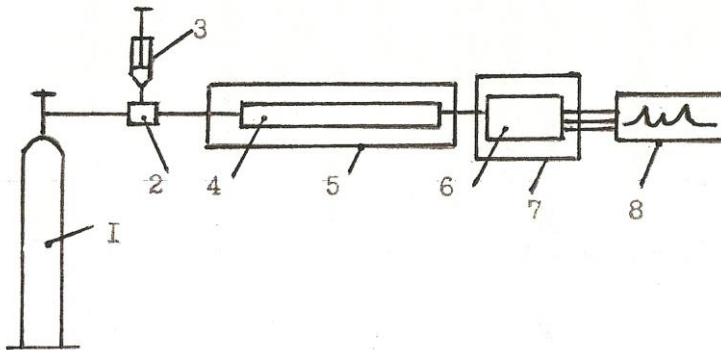


Рис.1 Принципиальная схема газового хроматографа

Подвижная фаза (газ-носитель) непрерывно подается из баллона 1 в хроматографическую систему. Основным требованием к газу-носителю является более низкая сорбируемость и химическая инертность по отношению к компонентам разделяемой смеси и неподвижной фазе. Чаще всего в качестве газа-носителя применяют азот, гелий, аргон . Анализируемую смесь вводят в поток

газа-носителя дозатором 3 через испаритель 2. Из испарителя проба транспортируется газовым потоком в хроматографическую колонку 4, где за счет различия в сорбируемости и летучести происходит разделение смеси на отдельные компоненты. Колонки, применяемые в газовой хроматографии, могут быть прямые, W-, U-образные или в форме спирали; стеклянные, металлические или пластмассовые. Обычно длина колонок, заполненных неподвижной фазой, составляет 1÷10 м, диаметр колонок 4÷6 мм. Изменение состава, выходящей из колонки, подвижной фазы фиксируется детектором 6 и записывается на ленте регистратора 8. Хроматографические колонки и детектор помещены в термостаты 5 и 7.

Хроматографический детектор представляет собой устройство, предназначенное для обнаружения и количественного определения выходящих из колонки в потоке газа-носителя компонентов анализируемой смеси. Регистрация компонентов пробы осуществляется за счет преобразования в электрический сигнал изменений физико-химических свойств газового потока, выходящего из хроматографической колонки.

Детекторы подразделяются на интегральные и дифференциальные. *Интегральный детектор* регистрирует изменение во времени суммарного количества, выходящих из колонки компонентов. Из-за низкой чувствительности, большой инерционности и недостаточной универсальности эти детекторы имеют весьма ограниченные применения. *Дифференциальные детекторы* измеряют мгновенную концентрацию вещества в потоке газа-носителя на выходе из колонки. Дифференциальные детекторы подразделяются на универсальные (детектор по теплопроводности и пламенно-ионизационный детектор) и специального назначения, которые ориентированы на анализ определённого класса соединений (например, пламенно-фотометрический, по электронному захвату и др.).

Работа детектора по теплопроводности основана на изменении температуры нагретых нитей (чувствительных элементов) в зависимости от теплопроводности окружающего газа, которая в свою очередь определяется его составом. Детектор по теплопроводности регистрирует различие в теплопроводности чистого газа-носителя и смеси газа-носителя с веществом, выходящем из хроматографической колонки. Поэтому наибольшая

чувствительность может быть получена в том случае, когда теплопроводность анализируемого вещества сильнее отличается от теплопроводности газа-носителя. На рис.2 показана схема измерительного моста детектора по теплопроводности.

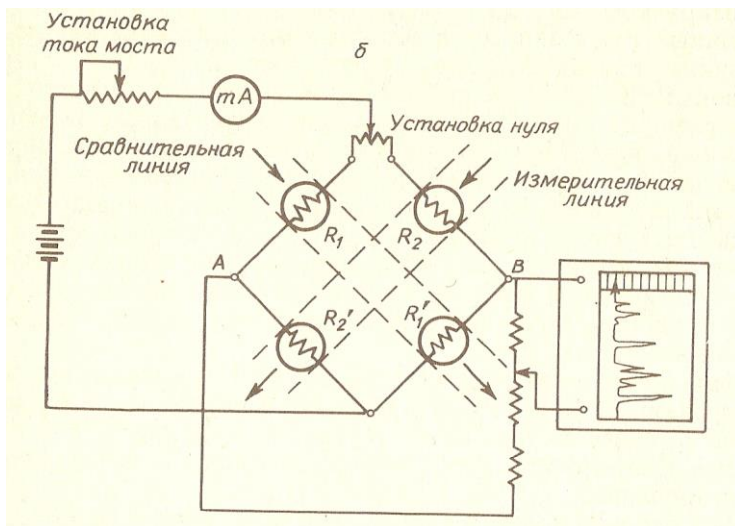


Рис.2. Схема включения измерительного моста детектора по теплопроводности

Для получения дифференциального сигнала через одну камеру детектора (измерительную) проходит газ, выходящий из хроматографической колонки, через другую (сравнительную) - чистый газ-носитель. Нагретые чувствительные элементы, изготовленные из платиновой или вольфрамовой проволоки, обдуваются потоками газа носителя, приобретая определенное значение сопротивления. При прохождении через детектор смеси, состоящей из газа-носителя и разделенного компонента смеси, отличающейся от чистого газа-носителя теплопроводностью, в измерительной ячейке нарушается теплообмен. При изменении условий теплообмена изменяется температура чувствительного элемента и, как следствие, его сопротивление. Различие сопротивлений чувствительных элементов является функцией мгновенной концентрации компонента в газовом потоке и измеряется с помощью моста Уитстона. Когда температура и, следовательно, сопротивление чувствительных элементов R_1 и R_2 одинаковы, мост сбалансирован и на регистрирующий прибор подается нулевой сигнал. При прохождении через измерительную линию анализируемого компонента сопротивление чувствительного элемента

R_2 изменяется, а сопротивление R_1 остается первоначальным. Схема моста при этом выходит из равновесия, а между точками А и В возникает разность потенциалов, которая преобразуется в сигнал, непрерывно регистрируемый автоматическим потенциометром.

Принцип действия пламенно-ионизационного детектора (ДИП) основан на ионизации молекул анализируемых соединений в водородном пламени с последующим измерением ионного тока. На рис.3 представлена упрощенная схема ДИП.

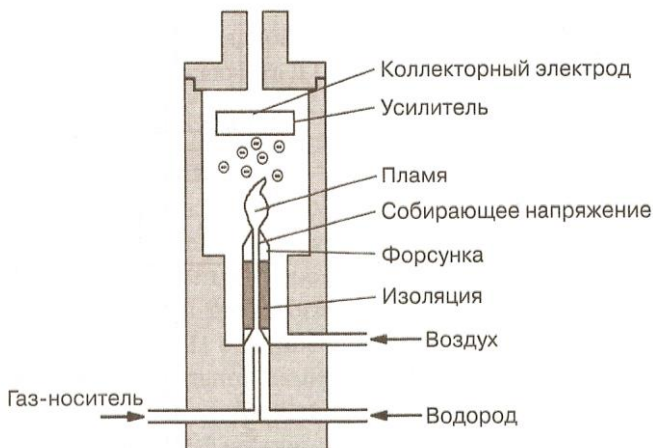


Рис.3. Схема пламенно-ионизационного детектора.

Детектор представляет собой камеру, в которой поддерживается водородное пламя, являющееся источником ионизации. Газ-носитель смешивают с водородом и подают к соплу горелки. К горелке, через другой канал подают воздух или кислород. Горение происходит между двумя электродами: анод — форсунка, катод — коллекторный электрод. Поскольку в пламени чистого водорода число ионов мало, сопротивление межэлектродного газового пространства очень велико ($10^{13} \div 10^{14}$ Ом) и ток детектора весьма мал ($10^{-12} \div 10^{-11}$ А). Этот ток является постоянным фоновым током детектора. При внесении с газом-носителем из колонки анализируемых веществ число ионов в пламени резко увеличивается, сопротивление пламени падает и во внешней цепи детектора регистрируется соответствующее возрастание ионного тока, который усиливается и подается к регистратору.

Кривую зависимости сигнала детектора от объема газа-носителя, пропущенного через колонку, или от времени называют **хроматограммой**. Хроматограммы, полученные при помощи дифференциального или интегрального детекторов, приведены на рис.4.

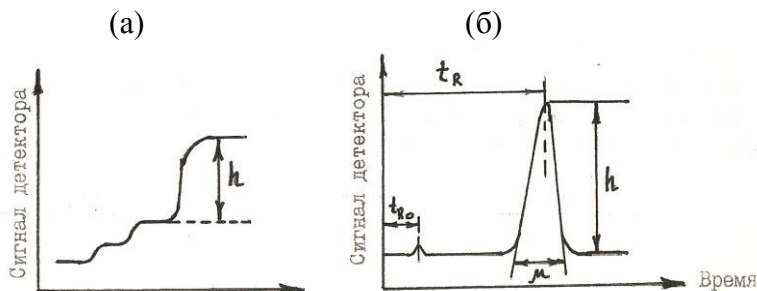


Рис.4. Вид интегральной (а) и дифференциальной (б) хроматограммы.

Параметры элюиционной кривой, называемые параметрами удерживания, могут служить средством выражения результатов хроматографического разделения смеси веществ.

Сорбционная способность неподвижной фазы по отношению к разделяемым веществам характеризуется **временем удерживания** (t_R). Это - расстояние на хроматограмме от момента введения вещества в слой сорбента до момента появления на выходе из слоя сорбента вещества в максимальной концентрации в потоке подвижной фазы. Объем подвижной фазы, прошедший при этом через слой сорбента, называют **объемом удерживания** (V_R):

$$V_R = t_R \cdot \omega,$$

где ω – объемная скорость подвижной фазы, см³/мин.

Методом газовой хромат. график по одной хроматограмме можно выполнить качественный и количественный анализ исследуемой смеси веществ.

Параметры удерживания какого-либо соединения в смеси при постоянном режиме работы хроматографа (постоянные температура колонки и скорость газ-носителя) характеризуют природу этого соединения, поэтому время (объем) удерживания могут быть использованы для целей **качественной идентификации**.

В практике качественного газохроматографического анализа применяют следующие способы идентификации компонентов:

- 1) сравнение параметров удерживания неизвестного вещества и эталонного соединения при идентичных условиях хроматографирования;
- 2) с помощью линейных и логарифмических индексов удерживания;
- 3) применение графических зависимостей между параметрами удерживания и физико-химическими свойствами веществ (молярной массой, температурой кипения, показателем преломления, числом углеродных атомов в молекуле и т.д.).

В основу количественной оценки состава анализируемой смеси положены геометрические параметры пика : высота (h , мм) или площадь (S , мм²).

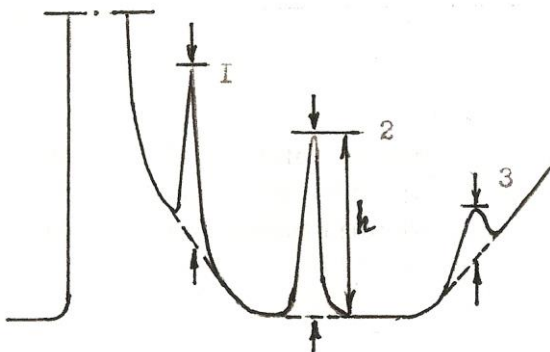


Рис.5. Измерение высот хроматографических пиков.

Высота пика h (рис.5) считают расстояние от вершины пика до базовой линии, которое измеряют линейкой либо подсчитывают число делений на самописце. Положение базовой линии смещенных пиков находят путем интерполирования значений ординат, соответствующих началу и концу пика (рис. 5 , пик 1 и 3). Для повышения точности необходимо иметь пологую стабильную базовую линию. В случае неразделенных пиков базовую линию строят между началом и концом пика, а не заменяют нулевой линией.

Площадь пика (S) можно определять различными способами. Наиболее распространенным является расчет площади по методу треугольника. Пик рассматривают как треугольник и площадь его рассчитывают :

$$S = 0,5 \cdot h \cdot \mu ,$$

где h – высота пика, мм ; μ – ширина пика у основания, мм.

Разработано несколько приемов **количественного** расчета по хроматограммам:

1) *Метод абсолютной градуировки* – состоит в сопоставлении параметров пика определяемого вещества с параметрами пика на градуировочном графике. Градуировочный график строят по данным для стандартных смесей. Он представляет собой зависимость параметров пика от концентрации или массы определяемого вещества. Содержание определяемого компонента находят по

градуировочной зависимости (графический способ) или рассчитывают, применяя градуировочный коэффициент K_Q (аналитический способ). Градуировочный коэффициент вычисляют по результатам анализа нескольких стандартных образцов по формуле:

$$K_Q = \frac{C_{см.} \cdot V_{см.}}{S_{см.} \cdot 100},$$

где $C_{см.}$ – объемная доля компонента, %; $V_{см.}$ – объем стандартной смеси, см³; $S_{см.}$ – площадь пика, см².

Находят среднее K_Q и затем рассчитывают содержание компонента в исследуемом образце по формуле:

$$C_x = K_{Q(cр)} \cdot \frac{S_x}{V_x} \cdot 100\%,$$

где S_x и V_x – площадь и объем анализируемого образца, соответственно.

2) *Метод внутренней нормализации.* Концентрацию компонента (C_i) определяют как отношение произведения площади (или высоты) пика данного компонента на коэффициент относительной чувствительности (K_i) к сумме произведений этих параметров для всех компонентов пробы.

$$C_i = \frac{K_i \cdot S_i}{\sum_{i=1}^{i=n} (K_i \cdot S_i)} \cdot 100\%,$$

где n – число компонентов в анализируемой смеси. Коэффициент относительной чувствительности какого-либо вещества i равен:

$$K_i = \frac{S_{\dot{y}} \cdot C_i}{S_i \cdot C_{\dot{y}}},$$

где $S_{\dot{y}}$, $C_{\dot{y}}$ – площадь пика и концентрация эталонного компонента, коэффициент относительной чувствительности к которому принят за 1; S_i , C_i – площадь и концентрация i -го компонента.

3) *Метод внутреннего стандарта.* Основан на введении в анализируемую пробу точно известного количества вещества, не содержащегося в пробе (внутренний стандарт). Физико-химические свойства внутреннего стандарта должны быть близки свойствам компонентов анализируемой смеси. Метод целесообразно использовать в тех случаях, когда на хроматограмме отсутствуют или не полностью регистрируются пики некоторых компонентов смеси. Параметры пиков внутреннего стандарта и определяемого вещества пропорциональны их массам:

$$\frac{m_{cm.}}{m_i} = \frac{K_{cm.} \cdot S_{cm.}}{K_i \cdot S_i}, \text{ откуда } m_i = \frac{m_{cm.} \cdot K_i \cdot S_i}{K_{cm.} \cdot S_{cm.}},$$

где K_i – коэффициент относительной чувствительности i -компонента; $K_{ст.}$ – коэффициент относительной чувствительности внутреннего стандарта (принимают равным 1).

1.2. Вопросы для допуска к работам

1. Сущность метода газовой хроматографии. Классификация метода газовой хроматографии по агрегатному состоянию применяемых фаз.
2. Отличительные особенности газовой хроматографии.
3. Ограничения при анализе веществ методом газовой хроматографии.
4. Понятие «хроматографическая система». Количество и назначение фаз (по агрегатному состоянию) для хроматографических систем, реализующих варианты газо-твердой и газо-жидкостной хроматографий?
5. Принципиальная схема газового хроматографа. Устройство и назначение узлов установки.
6. Виды колонок и их назначение.
7. Детекторы для газовой хроматографии, назначение и классификация.
8. Универсальные дифференциальные детекторы, устройство и принцип работы.
9. Хроматограмма, её вид для детекторов различных групп.
10. Параметры хроматограммы, применяемые в качественном анализе. Приемы качественного анализа.
11. Количественная оценка состава анализируемой смеси по хроматограммам. Приемы количественного расчета.
12. Ход выполнения лабораторных работ.

1.3. Лабораторные работы

Работа 1-х. *Определение предельных углеводородов в их смеси методом внутренней нормализации.*

Разделение предельных углеводородов основано на различной летучести и сорбции их неподвижной жидкой фазой – аписоном L. Количественная обработка хроматограмм выполняется методом внутренней нормализации.

Приборы и реактивы

Газовый хроматограф ЛХМ -8МД с детектором по теплопроводности.
Хроматографическая колонка - стальная, длиной 1 м, диаметром 4 мм.

Твердый носитель для неподвижной фазы - инертон- А W - D M C S зернением 0,20 ÷ 0,25 мм.

Неподвижная жидкая фаза - апиезон L (10% от массы твердого носителя).

Баллон с сжатым азотом (подвижная фаза).

Бюретки вместимостью 25 мл - 2 шт.

Микрошприц вместимостью 10 мкл.

Бюкс с крышкой - 6 шт.

Стандартные вещества : н-гексан и н-гептан.

Анализируемый раствор: смесь углеводов.

Выполнение работы

Включают газовый хроматограф согласно инструкции по эксплуатации. Устанавливают заданный режим и прогревают прибор в течение 20÷30 мин. При помощи микрошприца вводят в хроматограф стандартные вещества - чистые н-гексан и н-гептан. Рассчитывают по хроматограмме время удерживания для каждого компонента по формуле:

$$t_R = \frac{3600 \cdot l}{V} ,$$

где t_R – время удерживание, сек; l - расстояние от ввода пробы до максимума в пике данного компонента, мм; V - скорость диаграммной бумаги, мм/час.

Готовят серию образцовых растворов, для этого при помощи бюреток в бюксы вносят стандартные вещества в количествах, указанных в таблице:

№ смеси	Объем гексана, мл	$C_{\text{гекс.}} \text{, \% об.}$	Объем гептана, мл	$C_{\text{гепт.}} \text{, \% об.}$
1	2,5	50	2,5	50
2	1,5	30	3,5	70
3	3,5	70	1,5	30

Каждую образцовую смесь тщательно перемешивают и хранят в закрытых бюксах. Отбирают микрошприцем по 3 пробы каждой смеси и поочередно вводят в хроматограф. Получают хроматограммы. По ним рассчитывают коэффициент относительной чувствительности для гептана, приняв коэффициент относительной чувствительности для гексана равным 1.

$$K_{\text{гепт.}} = \frac{h_{\text{гекс.}} \cdot 100 - C_{\text{гекс.}} \cdot h_{\text{гекс.}}}{C_{\text{гекс.}} \cdot h_{\text{гепт.}}} ,$$

где C – содержание компонента в % об.; h – высота хроматографического пика гексана или гептана, мм.

Рассчитывают $K_{гепт.}$ Для трех приготовленных смесей и находят его среднее значение.

Получают у лаборанта контрольную смесь. Аналогично образцовым смесям выполняют хроматографирование. По хроматограммам рассчитывают содержание гексана и гептана в контрольной смеси. Расчет ведут по формуле внутренней нормализации:

$$C_{гекс.} = \frac{h_{гекс.} \cdot K_{гекс.} \cdot 100\%}{h_{гекс.} \cdot K_{гекс.} + h_{гепт.} \cdot K_{гепт.}}$$

$$C_{гепт.} = \frac{h_{гепт.} \cdot K_{гепт.} \cdot 100\%}{h_{гекс.} \cdot K_{гекс.} + h_{гепт.} \cdot K_{гепт.}}$$

Хроматограммы и результаты расчета приводят в лабораторном журнале.

Работа 2-х. Качественная идентификация и количественное определение алифатических спиртов в их смеси.

Близкие по структуре алифатические спирты могут быть разделены на полярной неподвижной фазе. В работе проводят качественную идентификацию спиртов по корреляционным зависимостям и количественный анализ методом внутреннего стандарта.

Приборы и реактивы

Газовый хроматограф "Цвет-100" с пламенно-ионизационным детектором.

Хроматографическая колонка - стеклянная в форме спирали, длиной 1 м, диаметром 4 мм.

Твердый носитель для неподвижной фазы - хроматон- АВ- ДМСЗ зернения 0,100-0,125 мм.

Неподвижная жидкая фаза - карбовакс- 20М (15 % от массы твердого носителя).

Микрошприц вместимостью 1 мкл.

Баллон с сжатым аргоном (подвижная фаза).

Генератор водорода.

Компрессор для воздуха.

Пипетка вместимостью 5 мл.

Спирты : изопропанол, н-пропанол, изобутанол, н-бутанол, изопентанол, н-гексанол.

Анализируемый раствор: смесь спиртов (по 3 из перечисленных) .

Выполнение работы

Включают прибор согласно инструкции. Устанавливают температуру термостата колонки 80 °С, температуру испарителя 200 °С. Расход газа-носителя (аргона] - 25 мл/мин., воздуха - 167 мл/мин., водорода - 33 мл/мин., контролируя его пенным расходомером. Указатель шкалы электрометра устанавливают в положении $2 \cdot 10^{-7}$ А..

После регистрации на хроматограмме стабильной нулевой линии в испаритель хроматографа поочередно вводят микрошприцем по 0,4 мкл каждого спирта. Хроматографирование повторяют по 3 раза. По хроматограмме измеряют время удерживания спиртов. Для исследуемых спиртов строят корреляционную зависимость $\lg t_R = f(T_{\text{кип.}})$, где $T_{\text{кип.}}$ – температура кипения спирта, °С.

Данные для построения корреляционной зависимости:

Спирт	изопропанол	н-пропанол	изобутанол	н-бутанол	изопентанол	н-гексанол
$T_{\text{кип.}}, ^\circ\text{C}$	82,2	97,2	108,0	117,7	132,0	157,2

В испаритель хроматографа вводят микрошприцем 1 мкл контрольного раствора. Измеряют по хроматограмме t_R спиртов, входящих в исследуемую пробу. По корреляционной зависимости идентифицируют компоненты смеси неизвестного состава.

Для количественного анализа спиртов в полученную у лаборанта контрольную пробу вводят 1 мл гексилового спирта ($\rho_{\text{сп.}}=0,899\text{г/см}^3$) в качестве внутреннего стандарта. После перемешивания 1 мкл смеси хроматографируют. Содержание спиртов в контрольной смеси рассчитывают по площадям пиков согласно формулы:

$$m_i = \frac{m_{\text{в.с.}} \cdot K_i \cdot S_i}{K_{\text{в.с.}} \cdot S_{\text{в.с.}}} = \frac{\rho_{\text{в.с.}} \cdot v_{\text{в.с.}} \cdot K_i \cdot S_i}{K_{\text{в.с.}} \cdot S_{\text{в.с.}}},$$

где m_i – масса i спирта в контрольной пробе, г.; $m_{\text{в.с.}}$ - масса внутреннего стандарта, г.; $\rho_{\text{в.с.}}$ – плотность внутреннего стандарта, г/см³; $v_{\text{в.с.}}$ - объем введенного внутреннего стандарта, мл; $K_{\text{в.с.}}$ - коэффициент относительной чувствительности внутреннего стандарта (равен 1); K_i – коэффициент относительной чувствительности спирта приведен в инструкции по эксплуатации прибора.

Результаты количественного и качественного анализа заносят в таблицу:

№ пика	Название пика	$T_{\text{кип.}}^{\circ}\text{C}$	t_{Ri} , спир-та	$\lg t_{\text{Ri}}$	$S_{\text{в.с.}}, \text{мм}^2$	$S_i, \text{мм}^2$	$m_{\text{в.с.}}, \text{г.}$	$m_i, \text{г.}$
1								
2								
3								

Хроматограммы и график прикрепляют к протоколу в лабораторном журнале.

Работа 3-х. Определение диметилтерефталата и метилового эфира п-толуиловой кислоты методом абсолютной градуировки.

Газохроматографическое разделение диметилтерефталата (ДМТ) и метилового эфира п-толуиловой кислоты (МЭпТК) достигается на жидкой фазе – полиметилфенилсилоксановой жидкости. Количественное определение ДМТ и МЭпТК выполняют методом градуировочной зависимости. При хроматографировании смеси первым из колонки выходит изопропиловый спирт, вторым – метиловый эфир п-толуиловой кислоты, третьим - диметилтерефталат.

Приборы и реактивы

Газовый хроматограф любой марки с пламенно-ионизационным детектором.

Хроматографическая колонка - стеклянная в форме спирали длиной 1 м, диаметром 4 мм.

Твердый-носитель для неподвижной фазы - инертон AW-DMCS, зёрнения $0,160 \div 0,200$ мм.

Неподвижная жидкая фаза - полштилфенилсилоксановая жидкость (ПФМС - 4), 15 % от массы твердого носителя.

Микрошприц вместимостью 10 мкл.

Баллон со сжатым аргонем (подвижная фаза).

Генератор водорода.

Компрессор для воздуха.

Пипетка вместимостью 5 мл - 2 штуки.

Мерные колбы вместимостью 25 мл - 6 штук.

Изопропиловый спирт, х.ч.

Анализируемый объект: изопропиловый раствор ДМТ и МЭпТК.

Выполнение работы.

Включают хроматограф согласно инструкции. Устанавливают температуру термостата колонки 170 °С, температуру испарителя 300 °С. Расход газа-носителя (аргон) - 27 мл/мин, воздуха - 167 мл/ мин, водорода - 33 мл/мин. Объемную скорость газовых потоков контролируют пенным расходомером. Указатель шкалы электрометра устанавливают в положении $1 \cdot 10^{-10}$ А.

Убедившись в регистрации на диаграммной ленте самописца устойчивого фоновых сигнала, приступают к построению градуировочной зависимости. Для этого, в 5 мерных колб вместимостью 25 мл вводят по 1,2,3,4,5 мл стандартных изопропиловых растворов ДМТ и МЭпТК. Титры стандартных растворов взять у лаборанта. Растворы в колбах доводят до метки изопропиловым спиртом. После перемешивания растворы поочередно хроматографируют. Объем хроматографируемого раствора - 1 мкл. Каждое хроматографирование повторяют три раза. По хроматограммам измеряют высоты пиков ДМТ к МЭпТК, находят среднее значение высоты для каждого градуировочного раствора и строят отдельно для ДМТ и МЭпТК график зависимости $h = f(C)$. Концентрация определяемых компонентов выражается в мг/мл.

Получают у лаборанта контрольный образец, отбирают микрошприцем 1 мкл раствора и хроматографируют, повторяя анализ не менее трех раз. Вычисляют высоту пика каждого компонента на хроматограмме контрольной смеси как среднее арифметическое из трех измерений и по графику $h = f(C)$ находят концентрацию определяемых веществ.

Данные лабораторной работы заносят в таблицу:

Определяемое вещество	Объем стандарт. р-ра, v, мл.	$m_{\Sigma} = T \cdot v$, мг.	$C_v = m_v / 25$, мг/мл	h, мм	h_{cp} , мм	Контрольный образец		
						h, мм	h_{cp} , мм	C_x , мг/мл
ДМТ	1							
	2							
	3							
	4							
	5							

МЭпТК	1							
	2							
	3							
	4							
	5							

Хроматограммы и графики прикрепляют к протоколу в лабораторном журнале.

Работа 4-х. Контроль содержания фенолов в сточных водах.

Фенол – представитель группы наиболее токсичных ароматических соединений; вызывает общее отравление организма. В питьевой воде ПДК составляет 0,001 мг/л, в рыбохозяйственных – 0,05 мг/л.

Методика позволяет контролировать содержания фенола в сточных водах в присутствии ароматических углеводов. Принцип метода-хроматографический, основан на предварительном экстракционном извлечении и концентрировании фенола из анализируемых вод с последующим газохроматографическим исследованием концентрата с пламенно-ионизационным детектором.

Приборы и реактивы

Газовый хроматограф любой марки с пламенно-ионизационным детектором.

Хроматографическая колонка - стеклянная в форме спирали длиной 2 м, диаметром 4 мм.

Твердый-носитель для неподвижной фазы - инертон АW , зернения 0,160 ÷ 0,200 мм.

Неподвижная жидкая фаза - Carbowax, 10 % от массы твердого носителя.

Микрошприц вместимостью 10 мкл.

Баллон со сжатым аргоном (подвижная фаза).

Генератор водорода.

Компрессор для воздуха.

Фенол, ч.

Диэтиловый эфир, ч.

Натрий серноокислый безводный, х.ч.

Натрий хлористый, ч.

Баллон со сжатым азотом

Пипетка вместимостью: 2 мл ; 10 мл

Мерные колбы вместимостью: 25 мл ; 100 мл.
 Химические стаканы вместимостью: 25 мл; 100 мл; 500мл.
 Мерные цилиндры вместимостью: 25 мл; 100 мл; 1000 мл.
 Делительные воронки вместимостью: 500 мл; 1000мл.
 Градуированный капилляр (рис.6)

Выполнение работы.

Включают хроматограф согласно инструкции. Устанавливают температуру термостата колонки 150 °С, температуру испарителя 250 °С. Расход газа-носителя (аргон) - 30 мл/мин, воздуха - 300 мл/ мин, водорода - 30 мл/мин. Объемную скорость газовых потоков контролируют пенным расходомером. Указатель шкалы электрометра устанавливают в положении $2 \cdot 10^{-10}$ А. Скорость диаграммной ленты -600 мм/час.

Построение градуировочных зависимостей. Исходный стандартный раствор готовят растворением взвешенной на аналитических весах навески 0,1000 г. фенола в мерной колбе вместимостью 100 мл. В качестве растворителя используют диэтиловый эфир. Для приготовления градуировочных растворов в мерные колбы вместимостью 25 мл вносят пипеткой 1,3; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 мл исходного стандартного раствора фенола. После доведения растворов до метки диэтиловым эфиром и перемешиванием проводят хроматографирование. В хроматограф вводят по 3 мкл каждого из градуировочных растворов, повторяя анализ не менее трех раз. По хроматограмме измеряют высоту пика фенола в соответствующих растворах. Результаты измерений заносят в таблицу.

Определяемое вещество	Объем стандарт. р-ра, v, мл.	C _ф , мг/мл	h, мм	h _{ср} , мм	Контрольный образец		
					h ^x , мм	h ^x ср, мм	C _x , мг/л
Фенол	1,3	0,05					
	2,5	0,1					

	5,0	0,2					
	7,5	0,3					
	10,0	0,4					

Строят градуировочную зависимость в координатах «концентрация фенола, мг/мл – высота пика, мм».

Определение фенола в сточных водах. Получают у лаборанта исследуемый образец сточной воды. Извлечение фенола осуществляют экстракцией диэтиловым эфиром из двух объемов анализируемой воды по 1000 мл. С каждым объемом воды проводят следующие операции:

- прибавлением небольших количеств 1 н HCl или NaOH доводят рН воды до 6-7;

- вводят 170 г NaCl в качестве высаливателя. После растворения соли раствор переносят в делительную воронку вместимостью 1000 мл и проводят трехкратную экстракцию фенола диэтиловым спиртом (первая порция экстрагента – 100 мл, две последующие по 50 мл). Время каждой экстракции – 3 мин;

- экстракты от первой и второй пробы воды объединяют и сушат добавлением 20 г безводного сульфата натрия в течение 10 мин при слабом перемешивании. Осушенный экстракт переносят в стакан вместимостью 500 мл и удаляют эфир на водяной бане при 40 °С. Для интенсификации испарения эфира над поверхностью раствора пропускают слабый ток азота. **Данный этап работы следует проводить под тягой!** Ни в коем случае нельзя допускать барботирования азота через раствор и кипения раствора (это приводит к неучитываемым потерям фенола). Концентрирование на водяной бане в стакане проводят до объема концентрата около 5 мл;

- далее концентрат переносят в градуированный капилляр (рис.6), промывая стакан трижды порциями по 1 мл эфира и сливая промывной раствор в капилляр. Продолжают процесс концентрирования до объема концентрата 0,2 мл. По мере испарения эфира стенки широкой части капилляра следует ополаскивать небольшим количеством эфира (0,5-1,0 мл.);

- по окончании концентрирования в испаритель хроматографа вводят 3 мкл концентрата и проводят его хроматографический анализ. По градуировочной зависимости находят содержание фенола в концентрате ($C_{\text{ф}}$, мг/мл). Затем рассчитывают концентрацию фенола в исследуемой пробе воды с учетом разбавления:

$$C_x = \frac{C_\phi \cdot V_k}{V_0} \cdot 1000, \text{ мг/л}$$

где C_x – концентрация фенола в анализируемом образце, мг/л; C_ϕ – концентрация фенола в концентрате, найденная по градуировочной зависимости, мг/мл; V_k , V_0 – соответственно, объемы концентрата (0,2 мл) и анализируемой пробы, мл.

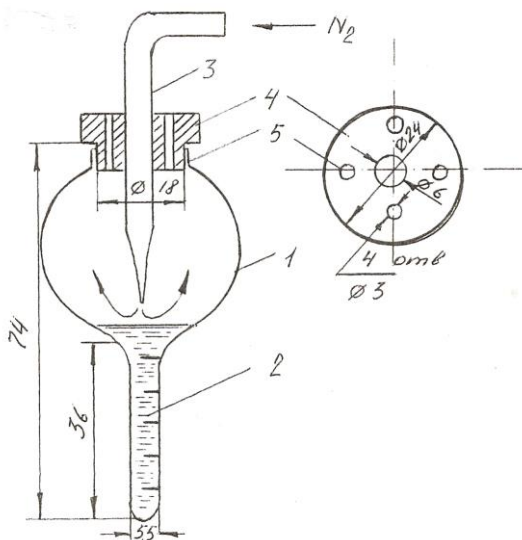


Рис.6. Градуированный капилляр для концентрирования экстракта фенола: 1-капилляр (градуировочная часть); 2- экстракт; 3-подвод инертного газа; 4-крышка; 5-отверстия для вывода паров экстрагента.

Предел определения фенола по вышеприведенной методике 0,001мг/л. Если концентрация фенола в анализируемой воде составляет 0,01 мг/л и выше, следует вести экстракцию из одного объема воды 300 мл порциями эфира 30 мл и дважды по 15 мл. Количество высаливателя – 50 г. Объем делительной воронки 500 мл. Экстракты объединяют, сушат, далее проводят анализ согласно вышеописанному. Емкость стакана для предварительного концентрирования составляет – 100 мл.

Хроматограммы и графики прикрепляют к протоколу в лабораторном журнале.

Работа 5-х. Контроль содержания ароматических углеводов в водных средах.

Количественный контроль содержания легколетучих ароматических углеводов на уровне ПДК должен быть ориентирован на различные вариации состава природных и сточных вод. Классические химические и физико-химические методы не дают избирательного определения анализируемых компонентов при совместном присутствии. Более предпочтительны в этом отношении возможности хроматографии, применение которой без предварительного извлечения и концентрирования невозможно. Эту стадию анализа успешно решает сочетание адсорбционного концентрирования токсикантов на полимерных пористых сорбентах (ППС) и газовая экстракция (стриппинг).

Методика определения толуола и о-ксилола с пределом обнаружения, соответственно 0,25 и 0,025 мг/л, основана на стриппинге анализируемой воды инертным газом с последующим улавливанием ароматических углеводов на твердом сорбенте. Для повышения эффективности газовой экстракции толуола и о-ксилола предусмотрено применение высаливателя, который позволяет понизить растворимость ароматических углеводов и повысить чувствительность анализа в 2-5 раз.

Приборы и реактивы

Газовый хроматограф любой марки с пламенно-ионизационным детектором.

Хроматографическая колонка - стеклянная в форме спирали длиной 2 м, диаметром 4 мм.

Твердый-носитель для неподвижной фазы - chezasorb AW-HDS, зёрнения $0,250 \div 0,360$ мм.

Неподвижная жидкая фаза – Apiezon L, 15 % от массы твердого носителя.

Микрошприц вместимостью 10 мкл.

Баллон со сжатым аргоном (подвижная фаза).

Генератор водорода.

Компрессор для воздуха.

толуол, ч.д.а.

ксилол, ч.

Диэтиловый эфир, ч.

Натрий хлористый, ч.

Полисорб-1

Баллон со сжатым азотом

Пипетка вместимостью: 2 мл ; 10 мл

Мерные колбы вместимостью: 25 мл ;50 мл; 100 мл.
Мерные цилиндры вместимостью: 25 мл; 100 мл; 1000 мл.
Трубка-концентратор для толуола и ксилола.
Сосуд для извлечения органических веществ из воды (рис.7)

Выполнение работы.

Включают хроматограф согласно инструкции. Устанавливают температуру термостата колонки 100 °С, температуру испарителя 200 °С. Расход газа-носителя (аргон) - 30 мл/мин, воздуха - 300 мл/ мин, водорода - 30 мл/мин. Объемную скорость газовых потоков контролируют пенным расходомером. Указатель шкалы электрометра устанавливают для толуола в положении $1 \cdot 10^{-8}$ А, для ксилола - $5 \cdot 10^{-9}$ А. Скорость диаграммной ленты -600 мм/час.

Приготовление трубок для концентрирования. Стеклообразные трубки длиной 19-20 см и диаметром 0,4 см заполняют полисорбом-1 (около 0,25г) таким образом, чтобы длина слоя сорбента составляла 5-6 см. Перед применением для концентрирования пробы сорбент должен быть активирован. Для этого трубки нагревают в токе инертного газа при 200°С в течение 10 мин. Температура не должна превышать 250°С.

Приготовление градуировочных растворов. Исходные стандартные растворы толуола и ксилола готовят введением в мерные колбы вместимостью 50 мл пипеткой : 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 10,0; 13,0; 17,0; 20,0 мл толуола и 0,2; 0,6; 1,0; 1,3; 1,7; 2,0 мл ксилола. Колбы доводят до метки диэтиловым эфиром, тщательно перемешивают. Приготовленные растворы используют для построения градуировочных зависимостей.

Построение градуировочных зависимостей. В сосуд для стриппинга-извлечения органических веществ из сточной воды (рис.7) вносят 30 г NaCl, 200 мл дистиллированной воды и 3 мл раствора для градуировки. Концентрация углеводородов рассчитывают по формуле:

$$C_{\phi} = \frac{v \cdot \rho \cdot 3}{10000}, \text{ мг/л}$$

где C_{ϕ} –концентрация углеводорода, мг/л; v – объем углеводорода, взятый для приготовления исходных стандартных растворов, мл; ρ – плотность углеводорода (867 мг/см³ и 869 мг/см³ для толуола и ксилола соответственно).

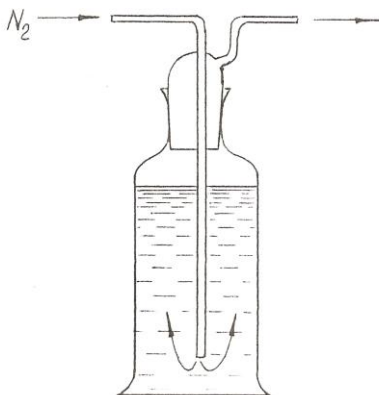


Рис. 7. Сосуд для извлечения органических веществ из воды (для стриппинга).

После перемешивания к сосуду подсоединяют шлангом подготовленную трубку-концентратор; сосуд термостатируют 5 мин при 20 °С. Затем через раствор пропускают инертный газ-азот в течение 5 мин для толуола и 20 мин для ксилола, при этом для стриппинга должен находиться в термостате. Объемная скорость газа 100 мл/мин. Далее трубку-концентратор освобождают от шлангов и подсоединяют к хроматографу для проведения термодесорбции. Схема подключения концентратора к колонке хроматографа представлена на рис.8. Термодесорбция осуществляется при перекрытом кране 11. Кран-дозатор хроматографа (3) устанавливают в положение «Анализ» и осуществляют прогрев трубки-концентратора в течение 2 мин при $t = 200\text{ }^{\circ}\text{C}$. После чего открывают кран 11, а кран-дозатор переводят в положение «отбор пробы». При этом осуществляется перенос анализируемых компонентов потоком газа-носителя в аналитическую колонку хроматографа.

Полученные хроматограммы обрабатывают, измеряя высоту пика и строят градуировочные зависимости в системе координат « концентрация углеводорода, C_y , мг/л – высота пика h , мм ».

Определение толуола и ксилола в сточных водах. Для анализа отбирают 200 мл исследуемой воды, растворяют в ней 30 г NaCl, присоединяют трубку-концентратор с полисорбом-1. Далее выполняют все операции, указанные в разделе «построение градуировочной зависимости»,

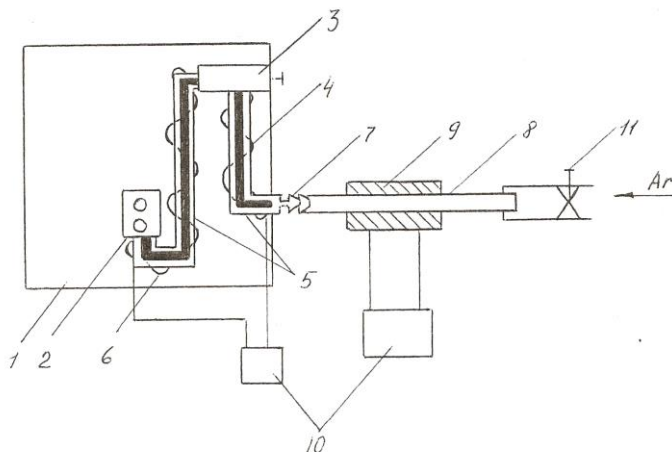


Рис. 8. Схема подключения концентратора к колонке хроматографа.

1-термостат хроматографа; 2-испаритель хроматографа; 3-кран-дозатор; 4- газовая линия; 5- стеклянная трубка; 6- нихромовая нить; 7-тефлоновый уплотнитель; 8- трубка-концентратор; 9-нагревательный элемент; 10-латр; 11-запорный кран.

выбирая диапазон шкалы электрометра в зависимости от содержания компонентов. После измерения высоты хроматографического пика по соответствующей зависимости определяют в анализируемой воде.

При совместном присутствии в воде толуола и ксилола анализ каждого компонента следует вести отдельно, используя для этого две пробы сточной воды и две трубки-концентратора.

2. Жидкостная хроматография

Среди существующих химических соединений только 15-20% летучие вещества подлежащие анализу с помощью газовой хроматографии, остальные - нелетучие или недостаточно термически неустойчивы, поэтому их можно анализировать с помощью вариантов жидкостной хроматографии.

Отличительной особенностью жидкостной хроматографии является агрегатное состояние подвижной фазы и разделяемых веществ – жидкость.

По механизму разделения жидкостная хроматография делится на:

- адсорбционную ; - ионообменную; - лигандно-обменную; -
распределительную; - эксклюзионную; - аффинную.

По способу упаковки сорбента жидкостную хроматографию можно разделить на:

- колоночную, при которой сорбент набивается в колонку;
- плоскостную, когда сорбент располагается тонким слоем на поверхности пластинки либо разделение осуществляется на специальных сортах бумаги.

В первом случае элюент проходит через колонку с сорбентом под давлением или под действием силы тяжести, во втором - элюент движется через слой сорбента под действием капиллярных сил.

В жидкостной хроматографии температура оказывает значительно меньшее влияние на оптимизацию условий разделения, чем в газовой. В большинстве случаев анализ в ЖХ проводят при комнатной температуре.

2.1. Высокоэффективная колоночная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

2.1.1. Теоретическое введение

Темпы развития ВЭЖХ самые высокие среди всех методов анализа. Они примерно в 2 раза превышают темпы развития газовой хроматографии. Успехи ВЭЖХ связаны, прежде всего, с ее исключительной универсальностью. Различными способами ВЭЖХ можно анализировать с молярной массой от 50 до 10^6 г/моль. Метод ВЭЖХ не заменим при анализе химически и термически неустойчивых соединений, в частности, веществ биологического происхождения, т.к. жидкостная хроматография характеризуется наиболее «мягкими» условиями разделения (не требуется перевод вещества в газообразное состояние).

Изменение агрегатного состояния подвижных фаз (по сравнению с газовой хроматографией) сопровождается:

- увеличением вязкости подвижных фаз на 2 порядка и уменьшении коэффициента диффузии разделяющих веществ на 4-5 порядка – до $10^{-(3+5)} \text{ см}^2/\text{с}$;
- для сохранения скорости массообмена на уровне газовой хроматографии уменьшена дисперсность неподвижной фазы до 3-10 мкм;
- достижение линейной скорости перемещения подвижных фаз на уровне 0,1-0,5 см/с и выше (уровень газовой хроматографии) осуществляется увеличением давления на входе в колонку до 10-

240 атмосфер и изменением размеров хроматографической колонки 3-30 см при внешнем диаметре 4-6 мм.

Отличительные особенности ВЭЖХ обуславливают конструктивное изменение в аппаратном оформлении метода.

Конструкция приборов, для ВЭЖХ не зависит от принципа разделения, следовательно, от природы подвижной и неподвижной фаз. В настоящее время разделения в режимах ВЭЖХ могут быть выполнены на отечественных жидкостных хроматографах: «Цвет-300», «Милихром», «Цвет-3000». На рис.9 приведена принципиальная схема жидкостного хроматографа высокого давления.

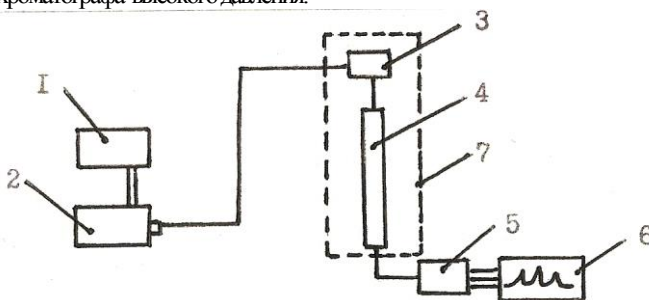


Рис.9. Блок-схема жидкостного хроматографа высокого давления:

1-резервуар для подвижной фазы; 2-насос высокого давления; 3-устройство ввода пробы; 4-колонка; 5- детектор; 6- регистратор; 7-термостат колонки.

Резервуар для подвижной фазы должен иметь достаточную для проведения анализа вместимость и устройство для дегазации растворителя, чтобы исключить образование в колонке и детекторе пузырьков газа, растворенного в элюенте.

Насос обеспечивает подачу элюента с постоянной скоростью потока и создает необходимое давление подвижной фазы на входе в колонку. Насосы, отвечающие этим условиям, подразделяются на две категории: электромеханические и пневматические.

Детекторы, применяемые в ВЭЖХ, предназначены для непрерывного фиксирования содержания растворенного вещества в подвижной фазе на выходе из хроматографической колонки. Существуют два вида детектирующих систем: одни из них реагируют на свойства раствора, другие - на свойства растворенного вещества. Детекторы первого типа измеряют на выходе из хроматографической колонки изменение общего физического свойства подвижной фазы. К этому типу относятся рефрактометрический детектор, детекторы по проводимости и диэлектрической проницаемости. Детекторы второго типа чувствительны к таким

физическим свойствам растворенного вещества, которыми не обладает в той же степени подвижная фаза. Это спектрофотометрические и электрохимические детекторы.

Наиболее широкое распространение в ВЭЖХ получили спектрофотометрические детекторы, которые позволяют спектрофотометрические детекторы, которые позволяют регистрировать определяемые вещества концентрацией до 10^{-9} г/мл. Детекторы обоих типов имеют проточные кюветы объемом не более 15 мкл.

Материал для изготовления всех узлов хроматографа должен быть химически инертен к подвижной фазе, образцу и наполнителю колонки. Обычно для этих целей применяют нержавеющую сталь, специальные сорта стекла, тефлон.

Жидкостной хроматограф высокого давления работает следующим образом : насос создает регулируемый поток элюента через хроматографическую колонку, помещенную в термостат. Через кран-дозатор шприцем в поток элюента вводится анализируемая проба, при этом в момент ввода пробы поток элюента перекрывается (или не перекрывается) в зависимости от конструкции прибора. После ввода пробы элюент под давлением подается в колонку, где смесь разделяется на компоненты. Поток после выхода из колонки поступает в детектор, в котором происходит измерение содержания определяемого вещества с записью хроматографического сигнала электронным автоматическим потенциометром.

В большинстве случаев (до 70%) разделение в ВЭЖХ проводят в адсорбционном варианте, где в качестве неподвижной фазы применяют твердый сорбент. В зависимости от полярности адсорбента и элюента адсорбционная ВЭЖХ подразделяется на нормально-фазовую (НФЖХ) и обращенно-фазовую (ОФЖХ).

Нормально-фазовый вариант ВЭЖХ – это полярный адсорбент и неполярный (или слабо-полярный) элюент.

Понятие "*полярный*" подразумевает наличие у адсорбента поверхностных групп, имеющих постоянный дипольный момент, или существование постоянного некомпенсированного поверхностного заряда.

В настоящее время наиболее распространенным полярным адсорбентом является силикагель - гель орто-кремневой кислоты. Силикагель имеет формулу $m\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, которая не отражает особенностей силикагеля. В действительности частички силикагеля представляют собой неорганический полимер с ОН- группами на поверхности (гидроксильированный силикагель). ОН- группы имеют собственный дипольный момент и могут вступать в водородные связи; у

поверхности силикагеля, кроме полярных групп, существует также постоянный некомпенсированный поверхностный заряд.

Силикагель обладает рядом уникальных свойств, совокупность которых позволяет успешно использовать его в ВЭЖХ:

1. жесткая механическая матрица силикагеля позволяет заполнять колонки суспензионным способом при давлении до 100 МПа без разрушения силикагеля; та же матрица позволяет использовать высокие давления при работе с колонками, заполненными силикагелем;
2. силикагель достаточно химически инертен, устойчив в диапазоне pH от 8,5 до 2,0;
3. обладает развитой, до нескольких сот м²/г, регулируемой в процессе синтеза удельной поверхностью;
4. в результате синтеза частички силикагеля могут быть получены как нерегулярной, так и регулярной формы.

Кроме силикагелей к полярным адсорбентам относятся -CN, NH₂-, диол- и ряд других **химически модифицированных силикагелей** с различными функциональными полярными группами на поверхности адсорбента.

Подвижная фаза в ЖХ выполняет двоякую функцию:

- с одной стороны, она обеспечивает перенос десорбированных молекул по колонке. С этой точки зрения химические свойства подвижной фазы не играют существенной роли, более важны их физические свойства – вязкость, летучесть;
- с другой стороны, подвижная фаза выполняет активную химическую роль в процессе разделения. Молекулы подвижной фазы взаимодействуют с другими компонентами системы: молекулами разделяемых веществ и молекулами неподвижной фазы. Поэтому возможности регулирования удерживания с помощью подвижной фазы необычайно велики. Основными характеристиками подвижных фаз являются их элюирующая сила и селективность.

Элюирующая сила подвижной фазы (ϵ') – это ее свойство вступать в такие межмолекулярные взаимодействия с компонентами системы, которые способствуют десорбции разделяемых соединений, более быстрому перемещению хроматографических зон.

Элюирующую силу растворителей позволяет оценить их полярность (P'). В НФ ВЭЖХ с увеличением полярности элюирующая сила растворителя возрастает, а в ОФ ВЭЖХ – снижается.

!!! Чем больше элюирующая сила подвижной фазы, тем меньше K' для данного вещества на данном сорбенте.

Считается, что чем прочнее элюент адсорбируется на адсорбенте, тем больше его элюирующая способность. Расположенные в ряд по возрастанию элюирующей силы растворители образуют так называемый **элюотропный ряд**.

Если для углеводов, хлороформа, метилхлорида, эфиров ацетонитрила и спиртов ϵ' меньше единицы и имеет какое-либо определенное значение, то для воды, этиленгликоля, органических кислот ϵ' больше 1, что говорит о практически необратимой адсорбции этих растворителей на поверхности силикагеля.

По аналогии с нормально-фазовым вариантом ВЭЖХ можно сказать, что **ОФ ВЭЖХ** - это такая хроматография, где используется неполярный адсорбент и полярный элюент.

В качестве адсорбентов в ОФ ВЭЖХ обычно применяются силикагели, на поверхности которых привиты нормальные углеводородные цепочки с 8, 16, 18, 22 углеродными атомами (ХМК с неполярными углеводородными радикалами; «щеточные» сорбенты)

В соответствии с элюирующей силой, элюенты для ОФ ВЭЖХ располагаются в элюотропный ряд в соответствии с увеличением элюирующей силы (ϵ'):

Вода < Метанол < Ацетонитрил < Изопропанол < Тетрагидрофуран < Хлороформ

Любой органический растворитель, используемый в смеси с водой в элюенте для ОФ ВЭЖХ называется *модификатором*.

Удерживание в ВЭЖХ, помимо t_R и V_R , характеризуется фактором емкости K' , который рассчитывается по формуле:

$$K' = \frac{t_R - t_{R0}}{t_{R0}} = \frac{V_R - V_{R0}}{V_{R0}}$$

Для практического разделения многокомпонентных смесей достаточно, чтобы $0,5 \leq K' \leq 20$.

Мерой **эффективности** хроматографической системы является число теоретических тарелок (N):

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_R}{\mu} \right)^2,$$

где t_R – время удерживания, мм; μ – ширина пика у основания, мм.

Эффективность хроматографической системы тем больше, чем уже хроматографический пик при тех же временах удерживания.

Для оценки размывания хроматографируемой зоны в теории теоретических тарелок вводится величина ВЭТТ (Н) - высота эквивалентная теоретической тарелке.

$$H=L/N$$

Чем эффективней работает система, тем больше N и меньше ВЭТТ.

Селективность - это способность хроматографической системы (сорбента и элюента) делить данную пару соединений. Такая способность является интегральным результатом межмолекулярных взаимодействий в хроматографической системе.

Селективность (фактор разделения, α) хроматографической системы при разделении двух веществ определяется экспериментально:

$$\alpha = \frac{V_{R2} - V_{R0}}{V_{R1} - V_{R0}} = \frac{t_{R2} - t_{R0}}{t_{R1} - t_{R0}}$$

α – изменяется от 1 до ∞ . При $\alpha=1$ хроматографическое разделение отсутствует, условия разделения выбраны неправильно.

Разрешением (R_s) называется отношение расстояния Δt к средней арифметической ширине обоих пиков у основания:

$$R_s = \frac{2 \cdot (t_{R2} - t_{R1})}{\mu_1 + \mu_2}$$

R_s – изменяется от 0 до ∞ . Для количественного анализа обычно достаточно разрешение $R_s \geq 1$, так как в этом случае перекрывается только 2% площади пиков. Этот критерий входит в число параметров при оптимизации условий хроматографического разделения.

2.1.2. Выбор хроматографической системы

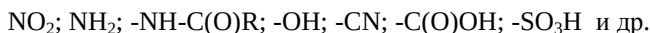
Выбор типа хроматографической системы основывается, в первую очередь, на физико-химических свойствах разделяемых соединений. К таким свойствам следует отнести их молекулярную массу, полярность, растворимость, оптические, флуоресцентные, рефрактометрические и электрохимические свойства, способность к тем или иным межмолекулярным взаимодействиям, позволяющим реализовать обратимую и селективную сорбцию.

Для разделения сорбатов с молекулярной массой $10^2 - 10^3$ г/моль могут быть подобраны режимы хроматографирования практически в

любом варианте ВЭЖХ. Для олигомеров и полимеров с молекулярной массой 10^3 - 10^6 г/моль предпочтительны эксклюзионная, многомерная хроматографии. При наличии ионогенных структур в разделяемых полимерах могут быть найдены в ионной хроматографии.

Полярность разделяемых веществ непосредственно сказывается на их растворимости в растворителях различных классов, поэтому она служит первым критерием выбора.

Под полярностью понимают, в первую очередь наличие в структуре молекулы неионогенных и ионогенных полярных групп:



Чем меньше относительная доля углеводородного фрагмента, чем полярней группы, чем их больше в молекуле, чем выше дипольный момент, тем полярней сорбат.

Для общей упрощенной характеристики структурных параметров анализов и оценки баланса их гидрофильных и гидрофобных свойств используют параметр *H* - *критерий гидрофобности Шатца*.

$$H = n_h - 4\sqrt{n_f}$$

где: n_h - число углеродных атомов, n_f - число полярных групп.

Применение критерия *H* для детального описания гидрофобности в узких группах веществ, мало отличающихся по структуре, затруднительно и предлагается только в качестве универсальной меры гидрофобности для сравнительного описания веществ, сильно отличающихся по строению. Чем больше *H*, тем меньше полярность, выше гидрофобность.

Ганч и Лео предложили оценку гидрофобности органических соединений проводить на основании величин коэффициента распределения органических соединений в системе октан-1-ол – вода (*P*). Критерий получил большое распространение и в настоящее время используется в биохимии, медицинской химии, квантовой химии, физической органической химии, фармакологии. Значения параметров гидрофобности *P* веществ получают тремя основными методами: прямое определение экстракцией вещества в системе октан-1-ол – вода; косвенное определение; расчетные методы. Методы априорного расчета *logP* заложены в ряде химических программ, например в CASE, MULTICASE, META, CS ChemOffice 2007. При наличии специализированного программного обеспечения компьютерные расчеты *logP* не вызывают затруднений.

Привлекательность упрощенного критерия Шатца H заключается в простоте вычисления, которую, в отличие от сложных алгоритмов расчета $\log P$, легко произвести даже на калькуляторе.

Шкалы оценки гидрофобности органических соединений .

Параметр гидрофобности	Гидрофильные	Низкогидрофобные	Гидрофобные	Высокогидрофобные
H	$-4 \div 0$	$0 \div 4$	$4 \div 20$	$20 \div 60$
$\log P$	$< 0,5$	$0,5 \div 2$	$2 \div 6$	> 6

При хроматографии неполярных сорбатов средней полярности часто оказываются пригодными как нормально, так и обращено-фазовые системы. Для сорбатов с низкой или высокой полярностью, пригодны варианты ОФ ВЭЖХ.

Для НФ ВЭЖХ характерна высокая селективность разделения соединений, отличающихся электронным строением, т.е. природой полярных функциональных групп. Этот вариант отличается высокой селективностью разделения молекул, различающихся геометрическим строением, в том числе изомеров.

Разделение алкилпроизводных, отличающихся только числом метильных или метиленовых групп (гомологи), предпочтительнее проводить в режимах ОФ ВЭЖХ.

2.1.3. Вопросы для допуска к работам.

1. Что объединяет хроматографические методы, относящиеся к жидкостной хроматографии ?
2. Классификация жидкостной хроматографии по механизму разделения и способу упаковки сорбента.
3. Чем обусловлена разработка высокоэффективной жидкостной хроматографии ?
4. Отличительные особенности ВЭЖХ по сравнению с газовой хроматографией.
5. Классификация ВЭЖХ по полярности подвижной и неподвижной фаз
6. Принципиальная схема жидкостного хроматографа высокого давления. Назначение узлов установки.
7. Принцип работы жидкостного хроматографа.
8. Параметры удерживания, применяемые в ВЭЖХ.
9. Приемы качественного и количественного анализа в ВЭЖХ.

2.1.4. Лабораторные работы

Работа 6-х. Оценка эффективности разделения смеси о-, м-, п-нитроанилинов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Для выполнения работы применяют высокоэффективную жидкостную хроматографию в нормально-фазовом варианте (полярный сорбент- неполярный элюент). Изомеры нитроанилинов имеют различное время удерживания на силикагеле благодаря различному пространственному расположению полярных функциональных групп в молекуле. Идентификацию пиков на хроматограмме смеси проводят сравнением времен удерживания чистых компонентов с исследуемыми пиками.

Приборы и реактивы

Жидкостной хроматограф "Цвет-304" с УФ-детектором ($\lambda = 254$ нм).

Колонка длиной 200 мм, диаметром 4 мм, заполненная силикагелем марки Силасорб-600, зернением 5 мкм.

Микрошприц вместимостью 10 мкл.

Микробюретка для измерения расхода элюента вместимостью 1,0 мл.

Секундомер.

Подвижная фаза (элюент): гексановый раствор изопропилового спирта с объемной долей i-PrOH 7%.

Стандартные растворы о-, м-, и п-нитроанилинов в подвижной фазе с массовой долей 0,1%.

Скорость диаграммной ленты самописца 240 мм/час.

Исследуемая смесь изомеров.

Выполнение работы

Включают прибор согласно инструкции. Работу проводят при комнатной температуре. Переключатель «множитель- шкалы» предварительно устанавливают в положение «100», расход элюента - 1,3 мл/мин., измерив его на выходе из капилляра детектора с помощью микробюретки. В устройство ввода пробы инжeksiруют 5 мкл исследуемой смеси и 2 мкл четыреххлористого углерода, который применяется в качестве неудерживаемого вещества. Закрывают кран-дозатор и восстанавливают поток подвижной фазы через хроматографическую колонку. Ввод исследуемой пробы повторяют не менее трех раз.

На хроматограмме получают четыре пика, первый из которых принадлежит неудерживаемому веществу. Для идентификации пиков изомеров последовательно хроматографируют по 5 мкл стандартных растворов чистых изомеров. Сравнивая параметры удерживания растворов и смеси изомеров

проводят качественную идентификацию пиков на хроматограмме смеси изомеров.

По хроматограмме смеси изомеров рассчитывают параметры удерживания, критерии эффективности хроматографического разделения (α , R_s) и хроматографической системы (N , H).

Хроматограммы вклеивают в лабораторный журнал.

Работа 7-х. Расчет параметров удерживания полупродуктов синтеза витамина B_2 и оценка качества их разделения в условиях ВЭЖХ.

Для разделения полупродуктов синтеза витамина B_2 (рибигитиламина и азорибигитиламина) применяют нормально-фазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию. Рибигитиламин и азорибигитиламин имеют различное удерживание на сильно полярном сорбенте типа Силасорб – 600 ввиду различного химического состава молекул. Идентификацию пиков на хроматограмме смеси полупродуктов проводят сравнением параметров удерживания чистых веществ с аналогичными характеристиками в смеси.

Приборы и реактивы

Жидкостной хроматограф «Миличром-1» с УФ-детектором ($\lambda=240$ нм).

Колонка длиной 60 мм, диаметром 2 мм, заполненная силикагелем марки Силасорб-600, зернением 5 мкм.

Подвижная фаза (элюент): гексановый раствор хлороформа с объемной долей CHCl_3 30%.

Стандартные растворы рибигитиламина и азорибигитиламина в изопропиловом спирте.

Объемная скорость подвижной фазы 100 мкл/мин.

Объем хроматографируемой пробы 5 мкл.

Скорость диаграммной ленты самописца 300 мм/час.

Выполнение работы

Включают прибор согласно инструкции. Работу проводят при комнатной температуре. Диапазон оптической плотности 1,6; время измерения 0,15 с. В хроматографическую колонку инжектируют $3 \div 5$ мкл исследуемой смеси полупродуктов, предварительно набрав в шприц 2 мкл четыреххлористого углерода (неудерживаемое вещество). Подают элюент в хроматографическую систему. Ввод исследуемой пробы повторяют не менее трех раз.

На хроматограмме получают три пика, первый из которых принадлежит неудерживаемому веществу. Для идентификации пиков полупродуктов последовательно хроматографируют по $3 \div 5$ мкл стандартных растворов чистых веществ. Сравнивая параметры удерживания стандартных растворов и смеси

полупродуктов проводят качественную идентификацию пиков на хроматограмме.

По хроматограмме смеси рассчитывают параметры удерживания (K' , t_R) и критерии эффективности хроматографического разделения (α , R_s).

Хроматограммы, полученные в ходе выполнения работы, вклеивают в лабораторный журнал.

Работа 8-х. *Разделение и определение производных бензола. высокоэффективной жидкостной хроматографией*

Бензол и его производные относятся к одним из наиболее токсичных и распространенных веществ, загрязняющих объекты окружающей среды. Разделение смеси производных бензола предпочтительно выполнять в режиме нормально-фазовой ВЭЖХ, который отличается большей селективностью разделения органических соединений с полярными функциональными группами различной природы, а также лучшей воспроизводимостью адсорбционных свойств поверхности силикагелей по сравнению с привитыми неполярными сорбентами. Качественную идентификацию пиков на хроматограмме смеси проводят сопоставлением времени удерживания чистых компонентов с исследуемыми.

Приборы и реактивы

Жидкостной хроматограф "Цвет-304" с УФ-детектором ($\lambda = 254$ нм)

Колонка длиной 200 мм, диаметром 4 мм, заполненная силикагелем Силасорб-600, зернением 5 мкм.

Микрошприц вместимостью 10 мкл.

Микробюретка вместимостью 1,0 мл для контроля объемной скорости подвижной фазы.

Мерные колбы вместимостью 25 см³ - 5 шт.

Секундомер.

Скорость диаграммной ленты самописца 240 мм/ч.

Подвижная фаза (элюент): гексановый раствор изопропилового спирта с объемной долей $i\text{-PrOH}$ 1,0 %.

Стандартные растворы компонентов в подвижной фазе: бензола с $T = 0,17$ мг/мл; нитробензола - 0,002 мг/мл; п-крезола - 0,20 мг/мл; фенола - 0,11 мг/мл.

Исследуемая смесь: а) бензол, нитробензол, п-крезол; б) бензол, нитробензол, фенол.

Выполнение работы

Включают прибор согласно инструкции. Работу проводят при комнатной температуре. Переключатель "множитель шкалы" предварительно устанавливают в положение "100", расход элюента - 1,0 мл/мин, контролируя его микробюреткой

на выходе из капилляра детектора. В дозатор вводят 1 мкл стандартного раствора и 2 мкл четыреххлористого углерода, который применяется в качестве неударживаемого вещества. закрывают кран-дозатор и восстанавливают поток подвижной фазы через хроматографическую колонку. Инжектирование стандартных растворов проводят последовательно для всех веществ, входящих в исследуемую смесь. На каждой хроматограмме получают по 2 пика, первый из которых принадлежит неударживаемому веществу. По хроматографическим пикам стандартных растворов находят исправленное (приведённое) время удерживания анализируемых веществ, которое применяется для качественной идентификации компонентов смеси.

Получив у лаборанта исследуемую смесь веществ, и, выяснив количество какого компонента смеси необходимо найти, приступают к построению градуировочной зависимости вида $h = f(C_i, \text{мг/мл})$. Для чего, готовят серию градуировочных растворов, внесением в пять мерных колб вместимостью 25 см³ соответственно 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мл стандартного раствора данного вещества. После доведения содержимого колб подвижной фазой до метки, растворы тщательно перемешивают. В дозатор хроматографа вводят последовательно по 5 мкл каждого приготовленного градуировочного раствора. Закрывают кран-дозатор и восстанавливают поток подвижной фазы через хроматографическую колонку. Хроматографирование растворов повторяют не менее трех раз. По хроматограмме измеряют высоты пиков, находят среднее значение для каждого градуировочного раствора и строят график.

В хроматограф инжектируют 5 мкл исследуемого раствора и 2 мкл четыреххлористого углерода. Хроматографирование повторяют не менее трех раз. Измеряют по хроматограммам исправленное время удерживания компонентов смеси и высоту пика определяемого вещества. Вычисляют среднеарифметическую высоту пика определяемого компонента и по графику находят его содержание в исследуемой смеси

Данные измерений по хроматограммам, вычисления среднеарифметических значений приводят в протоколе работы. Хроматограммы и графики клеивают в лабораторный журнал.

2.2. Распределительная бумажная хроматография

2.2.1. Теоретическое введение

В распределительной хроматографии на бумаге разделение веществ происходит вследствие различия их распределения между жидкими фазами, одна из которых подвижна (как правило, смесь органических растворителей), а другая неподвижна и представляет собой воду, находящуюся в волокнах хроматографической бумаги.

Распределение вещества между двумя жидкими фазами описывается

уравнением:

$$K_D = \frac{C_H}{C_I},$$

где K_D – коэффициент распределения; C_H – концентрация вещества в неподвижной фазе; C_I – концентрация этого же вещества в подвижной фазе.

При K_D , больше 1 часть вещества находится в неподвижной фазе и хроматографируемая зона вещества переёхает медленно вдоль слоя сорбента.. Если K_D меньше 1, то зона вещества быстро продвигается по слою сорбента в потоке подвижной фазы. Два любых вещества разделяемого образца с различными K_D будут перемещаться с различными скоростями, что является определяющим фактором хроматографического разделения.

В бумажной хроматографии, определить концентрацию вещества в подвижной и неподвижной фазах, довольно сложно. Поэтому, основной характеристикой разделения веществ, показывающей положение зоны вещества на полоске хроматографической бумаги, является фактор R_f . Величину R_f можно рассчитать экспериментально (рис. 10):

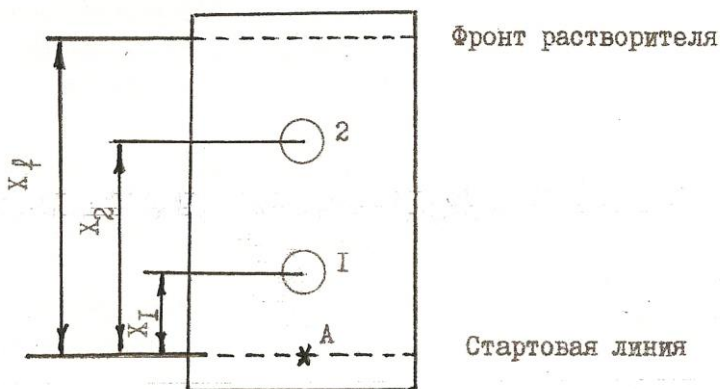


Рис.10. Схема разделения двухкомпонентной смеси А методом восходящей бумажной хроматографии.

$$R_f = \frac{X_i}{X_f},$$

где X_i – смещение компонента относительно стартовой линии, см; X_f – расстояние, пройденное растворителем от линии старта до линии фронта, см.

Значения R_f лежат в пределах от 0 до 1. При R_f близких к 1, смесь не может разделиться, а при R_f близких к 0, движение зоны будет замедленно. Значения R_f двух соседних компонентов пробы для полного их разделения должны достаточно отличаться друг от друга.

По технике выполнения различают следующие виды бумажной хроматографии: одномерную, двумерную, круговую и электрофоритическую.

Для получения одномерных хроматограмм процесс хроматографирования проводят в одном направлении; двумерных - проводят дважды во взаимно перпендикулярных направлениях: после элюирования пробы в одном направлении хроматограмму поворачивают на 90° и хроматографируют вторично.

Круговую бумажную хроматографию проводят на круглых листах хроматографической бумаги; хроматографируемое вещество распределяется в виде концентрической зоны. В электрофоритической хроматографии сочетают электрофорез и хроматографическое разделение, которые можно проводить как одновременно, так и последовательно.

В зависимости от направления движения подвижной фазы вдоль неподвижной выделяют: восходящую хроматографию - элюент поднимается снизу вверх, причем его движение обусловлено лишь действием капиллярных сил; нисходящую - растворитель движется сверху вниз под действием как капиллярных, так и гравитационных сил; радиальную - движение элюента происходит под действием капиллярных сил из пятна пробы, нанесенной в центр хроматограммы, к периферии.

2.2.2. Вопросы для допуска к работам

1. На чём основано разделение компонентов смеси в распределительной бумажной хроматографии ?
2. Что представляет собой (по агрегатному состоянию) подвижная и неподвижная фазы в бумажной распределительной хроматографии ?
3. Что такое коэффициент распределения ? При каких значениях K_D , вероятность разделения смеси веществ максимальна ?
4. Фактор разделения, его значение, способ расчета ?
5. К какому виду (в зависимости от направления движения подвижной фазы) относится получаемая в работе хроматограмма ?
6. Методика выполнения лабораторной работы.

2.2.3. Лабораторные работы

Работа 9-х. *Разделение ионов Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} методом распределительной бумажной хроматографии, с последующим фотометрическим определением ионов Fe^{3+} и Co^{2+} .*

Разделение ионов Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} основано на их способности образовывать разные по устойчивости и подвижности (в системе подвижная -

неподвижная фаза) хлоридные комплексные ионы.

Комплексные ионы железа $[\text{FeCl}_4]^-$ продвигаются практически вместе с фронтом растворителя. За ними располагаются ионы кобальта и затем ионы никеля.

Зоны железа и кобальта проявляют обработкой насыщенным ацетоновым раствором роданида калия, вырезают и после экстракции определяют их содержание фотометрически.

Приборы и реактивы

1. Чашки Петри.
2. Микрошприц вместимостью 10 мкл.
3. Растворитель (подвижная фаза): 10 мл 6 М HCl , 100 мл ацетона, 1 мл n -бутанола .
4. Роданид калия насыщенный раствор в ацетоне (проявитель).
5. Пульверизатор
6. Хроматографическая бумага размером 11 x 11 см.
7. Ножницы.
8. Фотоэлектроколориметр с кюветами ($l = 1 \text{ см}$)
9. Мерные колбы вместимостью 25 см^3 - 18 шт.
10. Стандартный раствор соли железа (III), приготовленный на 2 М растворе HCl , с концентрацией ионов железа (III) 0,1 мг/мл.
11. Роданид калия (KSCN), 4 М раствор.
12. Хлороводородная кислота, 2 М раствор.
13. Ацетон.
14. Стандартный раствор соли кобальта с концентрацией ионов Co^{2+} - 10 мкг/мл.
15. Раствор натрия лимоннокислого с массовой долей цитрата натрия 20%.
16. Раствор натрия уксуснокислого с массовой долей ацетата натрия 10%.
17. Раствор комплексона III с массовой долей ЭДТА 10%.
18. Раствор пиридиллазорезорцина (ПАР) с массовой долей ПАР 0,025 %.
19. Водяная баня.

Выполнение работы

ВНИМАНИЕ! *Хроматографическую бумагу следует брать руками только за уголки квадрата.*

На стандартном листе хроматографической бумаги (рис.11) вырезают полоску шириной 4-5 мм и длиной 5 см (хвостик).

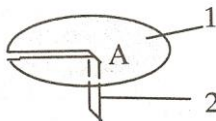


Рис.11. Подготовка хроматограммы:

А-место нанесения пробы; 1- хроматографическая бумага; 2- «хвостик» для подачи растворителя.

Укорачивают его на половину. Положить лист на края чистой, сухой чашки Петри (рис.12). 10 мкл контрольной задачи с помощью микрошприца наносят в центр листа у основания "хвостика". Придерживая лист за уголок, помещают его на чашку Петри с растворителем.

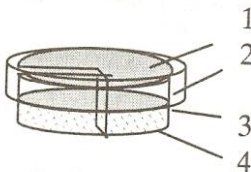


Рис.12. Разделение веществ радиальной хроматографией:

1 – хроматографическая бумага; 2- крышка ; 3 – чашка Петри; 4- органический растворитель

Опускают "хвостик" (не перегибая его основание) в растворитель и накрывают такой же чашкой Петри. Растворитель, поднимаясь по "хвостик", растекается радиально по бумаге. Развитие хроматограммы заканчивается через 20-30 мин., когда фронт растворителя дойдет почти до края чашки Петри.

Хроматограмму вынимают и высушивают в боксе под тягой. Для проявления хроматограммы её обрабатывают насыщенным ацетоновым раствором роданида калия.

На проявленной хроматограмме зона иона Fe^{3+} окрашена в красно-бурый, а зона иона Co^{2+} - в голубой цвет.

Для количественного определения ионов Fe^{3+} окрашенную зону аккуратно вырезают ножницами, отступив от границы на 3 мм. Вырезанную часть хроматограммы помещают в стакан вместимостью 50 мл, предварительно измельчив её на отрезки 1-1,5 см. В стакан приливают 10 мл ацетона, 5 мл 2 М HCl , 1 мл 4М KSCN и оставляют на 5-10 мин до обесцвечивания бумаги. Раствор с помощью воронки переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл. Оставшуюся в стакане бумагу промывают дважды (по 3-4 мл) дистиллированной водой. Промывные воды выливают в мерную колбу, доводя раствор в ней до метки.

Раствор тщательно перемешивают.

Для фотометрического исследования анализируемого раствора строят градуировочную зависимость. В шесть мерных колб вместимостью 25 мл приливают (в строгой последовательности) стандартный раствор соли Fe^{3+} , 2М HCl , 1 мл 4М KSCN , 10 мл ацетона. Раствор в колбах доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Дозировка реагентов приведена в таблице.

№ колбы	Стандартный раствор Fe^{3+} , мл	Объем 2М HCl , мл	$m_{\text{Fe}^{3+}} = T_{\text{Fe}^{3+}} \cdot V_{\text{Fe}^{3+}}$	A
0	0,0	5,0		
1	0,5	4,5		
2	1,0	4,0		
3	1,5	3,5		
4	2,0	3,0		
5	2,5	2,5		
Исследуемый раствор				

Оптическую плотность растворов измеряют по отношению к раствору сравнения (колба № 0) в кюветах с $l = 1$ см с применением синего светофильтра ($\lambda = 480$ нм; светофильтр № 6 на ФЭК-56М). По градуировочному графику находят содержание ионов Fe^{3+} в контрольной пробе. Концентрацию ионов Fe^{3+} рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{Fe}} = \frac{m_x}{V},$$

где m_x – содержание ионов Fe^{3+} в контрольной пробе, мг; V – хроматографируемый объем контрольной задачи, мл.

Для количественного определения ионов Co^{2+} окрашенную зону кобальта (II) аккуратно вырезают ножницами. Вырезанную часть хроматограммы помещают в стакан вместимостью 50 мл, предварительно измельчив её на отрезки 1,0÷1,5 см. В стакан приливают 5 мл цитрата натрия, 5 мл ПАР и устанавливают на водяную баню ($t = 80$ °С). Нагрев ведут в течение 30 мин. Затем раствор из стакана с помощью воронки переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл.

Оставшуюся в стакане бумагу промывают раствором ацетата натрия, выливая промывные воды в ту же мерную колбу. Полнота отмывки характеризуется желтым (но не розовым) цветом кусочков бумаги. Раствор в колбе доводится до метки раствором ацетата натрия. И тщательно перемешивается.

Количественное определение ионов Co^{2+} выполняется фотометрически по градуировочной зависимости. Для чего, в шесть мерных колб вместимостью 25

мл вводят 0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мл стандартного раствора соли кобальта (II). В каждую колбу приливают 5 мл раствора с массовой долей цитрата натрия 20% , 5 мл раствора с массовой долей ПАР 0,025 %, 1 мл раствора с массовой доле. ЭДТА 10% . Колбы устанавливают на водяную баню ($t = 80\text{ }^{\circ}\text{C}$) и нагревают в течение 30 мин. После охлаждения раствор в колбах доводят до метки раствором с массовой долей ацетата натрия 10% и перемешивают.

Оптическую плотность растворов по отношению к раствору сравнения (колба № 0) измеряют в кюветках с $l = 1\text{ см}$ при $\lambda = 480\text{ нм}$ (светофильтр № 6 синего цвета на ФЭК-56М). Данные заносят в таблицу и строят градуировочную зависимость в координатах $A=f(m_{\text{Co}^{2+}})$

№ колбы	Стандартный раствор Co^{2+} , мл	Объем 2М HCl , мл	$m_{\text{Fe}^{3+}} = T_{\text{Co}^{2+}} \cdot V_{\text{Co}^{2+}}$	A
0	0	5,0		
1	1	4,5		
2	2	4,0		
3	3	3,5		
4	4	3,0		
5	5	2,5		
Исследуемый раствор				

Применяя градуировочный график по A_x находят содержание ионов кобальта Co^{2+} в контрольной пробе (m_x , мг/мл). Концентрацию рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{Co}} = \frac{m_x}{0,01} ,$$

где 0,01 мл – хроматографируемый объем контрольной задачи. Градуировочные графики приклеивают в лабораторном журнале.

Работа 10-х. Качественный анализ смеси простейших аминокислот.

Простейшие аминокислоты (аланин, аспарагиновая кислота, лизин, аргинин) входят в состав белковых веществ растительного и животного происхождения. Они необходимы для жизнедеятельности любых организмов, образуются при гидролизе белков и применяются как ценные пищевые добавки.

Аминокислоты в пищевых продуктах (молоке, мясе, вине, хлебе и хлебобулочных изделиях) определяют методом радиальной круговой распределительной хроматографии.

Приборы и реактивы

1. Сушильный шкаф.
2. Чашки Петри – 2 шт.
3. Пульверизатор.
4. Микрошприц вместимостью 10 мкл.
5. Гидрофильная хроматографическая бумага размером 11 x 11 см.
6. Ножницы.
7. Растворитель (подвижная фаза) – смесь н-бутилового спирта, ледяной уксусной кислоты и воды в объемном соотношении 4:1:1.
8. Проявитель – раствор нингидрина в насыщенном водой н-бутиловом спирте с массовой долей 0,25%.
9. Раствор комплексона III с массовой долей 1,0%.
10. Стандартные растворы аминокислот (аланин, аспарагиновая кислота, лизин, аргинин) с концентрацией 0,100 моль/л.

Выполнение работы

ВНИМАНИЕ ! *Работу следует выполнять в вытяжном шкафу при включенной вентиляции!*

Для удаления следов катионов металлов бумагу обрабатывают раствором комплексона III. Для этого бумагу помещают в раствор комплексона III на 1-2 мин, затем тщательно промывают дистиллированной водой и сушат на воздухе. Если бумага химически чистая и не содержит ионов тяжелых металлов, предварительная обработка не требуется.

Подготовка хроматографической бумаги к работе проводят аналогично работе №9-х.

В две чашки Петри помещают растворитель на $\frac{1}{2}$ высоты. В центр одного хроматографического круга микрошприцом наносят 10 мкл стандартной смеси аминокислот, в центр другого – 10 мкл анализируемой смеси. Каждую хроматограмму помещают в чашки Петри так, чтобы «хвостики» погружались в растворитель (см. рис.12). Чашки закрывают крышками и осуществляют развитие хроматограммы до тех пор, пока подвижная фаза под действием капиллярных сил пройдет почти до границ чашки Петри. На полученных хроматограммах карандашом отмечают фронт растворителя.

Хроматограммы сушат на воздухе и обрабатывают из пульверизатора раствором проявителя. Для четкого проявления концентрических колец хроматограммы помещают в сушильный шкаф ($t=60\div 65\text{ }^{\circ}\text{C}$) на 5 мин.

Аминокислоты на хроматограмме располагаются в определенной последовательности: лизин, аргинин, аспарагиновая кислота, аланин. В местах появления аминокислот появляются концентрические кольца определенной окраски:

Аминокислота	Порядок расположения	Окраска зоны
Лизин	1	Красно-фиолетовая
Аргинин	2	Фиолетово-красная
Аспарагиновая кислота	3	Фиолетово-синяя
Аланин	4	Фиолетовая

Качественный состав смеси аминокислот в анализируемом растворе устанавливают одним из следующих способов:

- сопоставляют положение окрашенных колец на стандартной и исследуемой хроматограммах;
- рассчитывают R_f аминокислот по исследуемой и стандартной хроматограммам и сопоставляют их; результаты заносят в таблицу:

Аминокислота	Хроматограмма					
	стандартная			исследуемая		
	X	X_f	R_f	X	X_f	R_f

По результатам исследования делают вывод о качественном составе исследуемой смеси аминокислот.

2.3. Ионообменная хроматография

2.3.1. Теоретическое введение

Ионообменная хроматография - сорбционный динамический метод разделения смесей ионов на сорбентах, называемых ионообменниками. При пропускании анализируемого раствора электролита через ионообменник в результате гетерогенной химической реакции происходит обратимый стехиометрический эквивалентный обмен ионов раствора на ионы того же знака, входящие в состав ионита.

Ионообменники могут быть неорганического и органического происхождения, природными и синтетическими веществами. Любой ионообменник, органической или неорганической природы, представляет собой матрицу, содержащую ионогенные (функциональные) группы. Большинство современных синтетических органических ионообменников имеет каркас из сополимера стирола с дивинилбензолом. В соответствии с характером ионогенных групп ионообменники подразделяются на отдельные виды (табл.2.1).

Ионообменники, имеющие только один тип ионогенных групп,

называют монофункциональными (гомоионными) обменниками. Смолы, содержащие более одного типа ионогенных групп, называются полифункциональными ионообменниками. Монофункциональные типы ионообменников всегда предпочтительнее в аналитической химии, особенно в методах разделения.

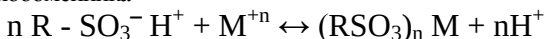
Символически ионообменники записываются как:



При исследовании органических ионообменников установлено, ионогенная группа ($-SO_3^- H^+$) состоит из двух частей. Одна часть группы (SO_3^-) прочно фиксируется на каркасе смолы ковалентной связью, образующей вместе с каркасом (R) определенный тип макроиона. Эта часть ионогенной группы называется фиксированным ионом. Ионы противоположного заряда (H^+) связываются с макроионом электростатическими силами. Они называются проиононами (подвижными ионами). Последние, являются частью ионообменника и могут быть обменены на эквивалентное количество ионов из раствора.

Уравнение ионного обмена в общем виде можно представить реакциями:

- катионообменника



- для анионообменника



Простейший подход к описанию ионообменного равновесия заключается в применении к нему закона действующих масс. Тогда из реакции обмена двух одновалентных ионов A^+ и B^+ получаем выражение для константы ($K_{B/A}$) ионного обмена:

$$\frac{[RB]}{[RA]} = K_{B/A} \frac{[B^+]}{[A^+]}$$

Из уравнения следует, что равновесное отношение концентрации ионов в твердой фазе линейно связано с соответствующим отношением в жидкой фазе с учетом зарядов обменивающихся ионов. С физической точки зрения $K_{B/A}$ количественно характеризует способность ионита к обмену с теми или иными ионами из раствора, т.е. выражает преимущественную сорбцию одного из двух обменивающихся ионов. Поэтому константа ионного обмена может быть названа *коэффициентом селективности*.

Наряду с коэффициентом селективности для количественной характеристики ионитов можно пользоваться коэффициентом распределения K_D , представляющий собой отношение общей

концентрации вещества в ионообменнике к его аналитической концентрации в растворе.

Таблица 2.1.

Классификация синтетических ионообменных материалов

Вид ионообменника	Тип ионообменника	Пример ионогенной группы	Рабочий интервал pH	Марка ионита
Катионообменник	Сильнокислотный	-SO ₃ H (сульфоная) -PO(OH) ₂ (фосфоная)	0÷14	КУ-1; КУ-2-8; КУ-23
	Слабокислотный	-COOH (карбоксильная)	7	КБ-2; КБ-4
Анионообменник	Сильноосновный	-N(CH ₃)OH	0÷14	АВ-16ГС; ЭДЭ-10П
	Слабоосновный	Амины, полиамины	7	АВ-29-12П; АН-21; АН-2ФН
Амфолит	Карбоксильный	-N – (CH ₃) OH COOH	0÷14	АНКБ-1
	Фосфоросодержащий	Аминоэтилфосфоновые кислоты и аминогруппы от аммониевых оснований	0÷14	АНКФ-1; АНКФ-5

Свойство ионообменника поглощать определенное количество ионов из раствора характеризуется обменной емкостью. Обменную емкость выражают количеством моль-эквивалентов обменивающегося иона на единицу массы или объема смолы (моль-экв/г, ммоль-экв/г или моль-экв/мл, ммоль-экв/мл). Обменная емкость ионообменника может быть измерена в статических и динамических условиях. В зависимости от этого подразделяют динамическую и статическую обменную емкости.

Подготовка хроматографической колонки. Взвешивают $5 \div 10$ г ионообменной смолы, помещают в химический стакан, приливают дистиллированную так, чтобы она полностью покрыла слой смолы, и оставляют для набухания на $5 \div 6$ часов. Набухшую смолу помещают в хроматографическую колонку, предварительно заполненную на $1/3$ дистиллированной водой (рис.13).

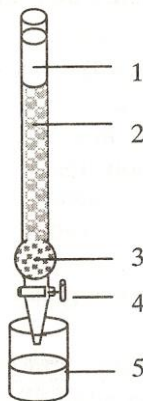


Рис.13 Ионообменная колонка:

1- стеклянная трубка; 2- ионит; 3- стеклянная вата (дренаж); 4- кран или зажим; 5- стакан с элюатом.

После каждого анализа ионообменную смолу регенерируют, восстанавливая ее активную форму. Для регенерации ионообменников проводят обратную ионообменную реакцию, пропуская через катионит раствор кислоты, через анионит – раствор щелочи. Таким образом, ионообменные смолы служат много циклов.

2.3.2. Вопросы для допуска к работам

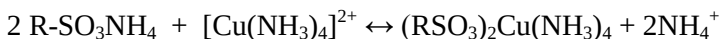
1. Сущность метода ионообменной хроматографии.
2. В чем отличие механизма разделения смеси веществ в ионообменной хроматографии от других хроматографических способов ?

3. Структура и виды ионообменных смол, применяемых в ионообменной хроматографии.
4. Требования, предъявляемые к реакциям ионного обмена.
5. Схемы катионного и анионного обмена.
6. Обменная емкость ионитов, её виды и размерность.
7. Ход выполнения лабораторной работы.

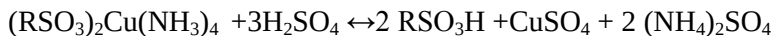
2.3.3. Лабораторные работы

Работа 11-х. Ионообменное разделение и комплексонометрическое определение ионов Fe^{3+} и Cu^{2+} в смеси.

Разделение катионов Fe^{3+} и Cu^{2+} методом ионообменной хроматографии основано на способности этих ионов в аммиачной среде в присутствии лимонной кислоты или цитрата натрия образовывать комплексные ионы противоположного знака – анионы $[FeCit]^{2-}$ и катионы $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$. При пропускании через сильнокислотный катионообменник КУ-2 (в NH_4^+ - форме) из смеси комплексных ионов с катионитом взаимодействуют только ионы $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$. При этом протекает реакция:



Для перевода ионов Cu^{2+} в раствор катионит обрабатывают 2н раствором H_2SO_4 :



Количественное определение содержания ионов Fe^{3+} и Cu^{2+} проводят комплексонометрическим титрованием в присутствии индикаторов: для ионов Fe^{3+} - 4М раствор KSCN , для Cu^{2+} - пиридилазорезорцина (ПАР) с массовой долей 0,1%.

Приборы и реактивы

1. Хроматографическая колонка ($h = 300$ мм, $d = 15$ мм) с катионитом КУ-2.
2. Микронасос для равномерной подачи жидкостей на хроматографическую колонку.
3. Автоматическая микробюретка,
4. Мерная колба вместимостью 250 мл - 2 шт.
5. Пипетка вместимостью 25 мл - 2 шт.
6. стакан для титрования (50 мл) - 5 шт.
7. Водный раствор цитрата натрия 0,2М.

8. Водный раствор аммиака с массовой долей NH_3 - 2 % .
9. Водный раствор NaOH , 3 М.
10. Водный раствор ацетата натрия, 1 М.
11. Серная кислота, 2 Н.
12. Ацетатный буферный раствор, $\text{pH} = 2,5$.
13. Водный раствор KSCN , 4 М.
14. Водный раствор ПАВ, $\omega = 0,1$ % масс.
15. Водный раствор комплексона III (ЭДТА), 0,0125 М.

Выполнение работы

П е р е в о д KY-2 в NH_4^+ - ф о р м у . Опускают входной шланг микронасоса в склянку с раствором аммиака и включают микронасос; выходной шланг опускают в хроматографическую колонку. После появления жидкости в выходном шланге устанавливают краном на колонке скорость вытекания таким образом, чтобы уровень жидкости в колонке был выше катионита на 2 см. При опускании жидкости ниже уровня катионита ионный обмен прекращается, что приводит к неверным результатам.

Вытекающую из колонки жидкость собирают в стакан и прекращают операцию перевода катионита в NH_4^+ -форму, когда объем вытекающей жидкости составит 50 мл. Для остановки процесса ионного обмена сначала перекрывают кран на колонке, а затем удаляют входной шланг из раствора аммиака. Катионообменник отмывают от ионов NH_4^+ 400-500 мл дистиллированной воды (скорость пропускания 2-3 капли/с.).

П о д г о т о в к а о б р а з ц а . К раствору контрольной задачи , содержащей ионы Fe^{3+} и Cu^{2+} , приливают 10 мл 0,2 М цитрата натрия и 30 мл раствора аммиака. Затем содержимое колбы перемешивают. **ВНИМАНИЕ!** Последовательность приливания реагентов менять нельзя..

И о н о о б м е н н о е р а з д е л е н и е . В обработанный раствор контрольной задачи опускают входной шланг микронасоса и подают анализируемую смесь на колонку. Устанавливают краном колонки скорость вытекающей из колонки жидкости (элюата) 1-2 капли/с. Элюат собирают в мерную колбу вместимостью 250 мл. После перекачивания последних капель анализируемого раствора в колбу из-под контрольной задачи добавляют 80 мл водного раствора аммиака и продолжают его перекачивание через катионообменник. При этом элюат собирают в ту же мерную колбу. Данная операция позволяет достигнуть полного вымывания из входного и выходного шлангов, а также из пространства между зернами катионита, раствора цитрата железа (III).

Для элюирования с катионообменника ионов Cu^{2+} в колбу из- под

контрольной задачи добавляют 100 мл 2н H_2SO_4 и перекачивают его через колонку со скоростью вытекающего из колонки раствора 1-2 капли/с. Элюат собирают в другую мерную колбу вместимостью 250 мл. Затем через колонку пропускают 50 мл дистиллированной воды, тщательно собирая элюат в ту же мерную колбу.

О п р е д е л е н и е ж е л е з а (III) . Основано на комплексонометрическом титровании ионов Fe^{3+} при $\text{pH}=2,5$ в присутствии 4 М KSCN (индикатор), образующего с ионами железа (III) комплекс кроваво-красного цвета.

В мерную колбу с цитратом железа приливают цилиндром 50 мл 2 н H_2SO_4 , затем содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой. После тщательного перемешивания отбирают пипеткой 25 мл полученного раствора в стакан для титрования, приливают туда же 15 мл ацетатного буферного раствора и 1 мл 4 М KSCN (добавлять только перед титрованием). Титрование выполняют не менее 5 раз на автоматической микробюретке (рис. 14) раствором ЭДТА до перехода красной окраски в лимонно-желтую. Сходимые результаты титрования вносят в таблицу:

№ пробы	Объем титранта, мл	
	Fe^{3+}	Cu^{2+}
1	$V_{\text{ср.}} =$	$V_{\text{ср.}} =$
2		
3		
4		
5		

Содержание железа вычисляют по формуле:

$$m_{\text{Fe}} = \frac{C_{\text{ЭДТА}} \cdot V_{\text{ЭДТА}} \cdot M_{\text{Fe}} \cdot V_{\text{м.к.}}}{1000 \cdot V_{\text{п.}}},$$

где $C_{\text{ЭДТА}}$ – молярная концентрация титранта, моль/л; $V_{\text{ЭДТА}}$ – объем титранта, мл; M_{Fe} – молярная масса железа, г/моль; $V_{\text{м.к.}}$ – вместимость мерной колбы, мл; $V_{\text{п.}}$ – вместимость пипетки, мл.

О п р е д е л е н и е м е д и (II) . Основано на комплексонометрическом титровании ионов Cu^{2+} при $\text{pH}=6-7$ в присутствии металлоиндикатора ПАР, образующего с ионами Cu^{2+} окрашенный комплекс красного цвета..

В мерную колбу, содержащую ионы Cu^{2+} , приливают 25 мл 3 М NaOH,

доводят содержимое колбы до метки дистиллированной водой к тщательно перемешивают. Отбирают пипеткой 25 мл полученного раствора в стакан для титрования, добавляют 20 мл ацетата натрия, 5-6 капель индикатора ПАР и титруют на автоматической микро бюретке раствором Na-ЭДТА до перехода красной окраски раствора до лимонно-желтой. Титрование повторяют до получения пяти сходимых результатов. Данные заносят в вышеприведенную таблицу. Содержание ионов меди (II) в контрольной задаче рассчитывают по формуле, аналогичной для расчета содержания железа (III).

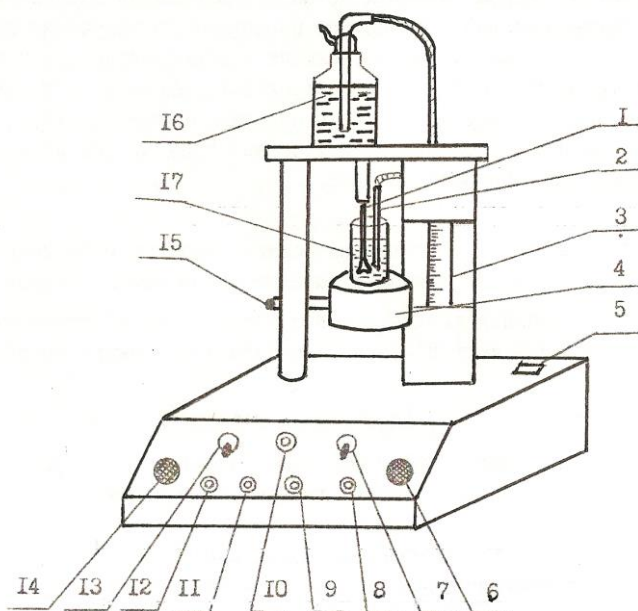


Рис.14. Схема автоматической микробюретки и порядок работы на ней:

Включить прибор в сеть. Тумблер (8) перевести в положение «вкл.», при этом должна загореться индикаторная лампочка (10). Тумблером (12) включить подсвет стакана. Стакан с титруемым раствором (17) поставить на стол (4). Нажатием кнопки (13) заполнить шприц (3) титрантом (16). Барабаном (14) включить мешалку (1) на необходимое число оборотов. Провести титрование до перехода окраски индикатора, нажав кнопку (11). Остановить поступление титранта из иглы (2) шприца нажатием кнопки (9). Довести титрование до точки

эквивалентности, приливая титрант по каплям нажатием кнопки (7). Снять показания прибора (результаты титрования) в окошке (5).

Для оценки достоверности полученных результатов проводят статистическую обработку данных.

Работа 12-х. Определение хлоридов и сульфатов в минеральной воде.

Хлориды и сульфаты – основные компоненты растворимых солей в составе многих минеральных вод. На долю солей кальция, магния и натрия приходится от 60 до 99% от общего содержания растворимых компонентов минеральных вод. Раздельное определение хлоридов и сульфатов в водах осуществляют методом ионного обмена с применением катионита КУ-2 в Н-форме.

Приборы и реактивы

1. Хроматографические колонки, длиной 30см, диаметр 2 см – 2 шт.
2. Катионит КУ-2 в Н-форме.
3. Химический стакан вместимостью 150 мл.
4. Конические колбы вместимостью 250 мл – 2 шт.
5. Бюретка вместимостью 25 мл.
6. Пипетка вместимостью 10 мл.
7. Воронка диаметром см.
8. Бумажный фильтр.
9. Гидроксид натрия, раствор с концентрацией 0,1 моль/л
10. Хлорид бария, раствор с концентрацией 0,1 моль/л
11. Метиловый оранжевый, водный раствор с массовой долей 0,1%.
12. Фенолфталеин, раствор в этиловом спирте с массовой долей 0,1 %.
13. Анализируемая минеральная вода

Выполнение работы

Пробу минеральной воды, содержащую взвеси, фильтруют. Отбирают пипеткой 10 мл минеральной воды (или фильтрата) и пропускают через первую колдонку со скоростью 1-2 капли/с. Промывают колонку 50÷80 мл дистиллированной воды до нейтральной среды (контроль рН по метиловому оранжевому). Элюат минеральной воды, вытекающий из колонки, вместе с промывными водами собирают в коническую колбу, добавляют 2-3 капли фенолфталеина и титруют раствором NaOH до появления устойчивой малиновой окраски.

Вторую пробу воды отбирают пипеткой в химический стакан и добавляют 5 мл раствора BaCl_2 . Раствор фильтруют, осадок на фильтре промывают 20-30 мл дистиллированной воды. Фильтрат и промывные воды собирают в химический стакан. Полученный раствор пропускают через вторую колонку с катионитом в H^+ - форме со скоростью 1-2 капли/с. Колонку промывают дистиллированной водой до нейтральной реакции (контроль pH по метиловому оранжевому). Элюат, вытекающий из колонки, вместе с промывными водами собирают в коническую колбу, добавляют 2-3 капли фенолфталеина и титруют раствором NaOH до появления устойчивой малиновой окраски.

Общее содержание солей в минеральной воде (Q_C , моль/л) вычисляют по формуле:

$$Q_C = C_{(\text{NaOH})} \cdot V_1 \cdot 100 ,$$

где $C_{(\text{NaOH})}$ - концентрация титранта, моль/л; V_1 - объем раствора NaOH, израсходованный на титрование первой пробы минеральной воды, мл.

Содержание хлоридов (Q_{Cl} , ммоль/л) рассчитывают по формуле:

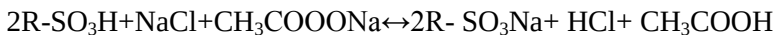
$$Q_{\text{Cl}} = C_{(\text{NaOH})} \cdot V_2 \cdot C_{(\text{BaCl}_2)} \cdot V_{(\text{BaCl}_2)} / 100 ,$$

где V_2 - объем раствора NaOH, пошедший на титрование второй пробы минеральной воды, мл; $C_{(\text{BaCl}_2)}$ - концентрация раствора BaCl_2 , моль/л; $V_{(\text{BaCl}_2)}$ - объем раствора BaCl_2 , равный 5 мл.

Содержание сульфатов (ммоль/л) находят по разности Q_C и Q_{Cl} .

Работа 13-х. Определение смеси солей методом ионного обмена и потенциометрического титрования

При пропускании анализируемого раствора солей через сильнокислотный катионообменник в H^+ - форме в результате реакции ионного обмена:



Получают смесь кислот HCl и CH_3COOH , содержание которых затем определяют потенциометрически, титруя элюат раствором щелочи.

Приборы и реактивы

1. Хроматографическая колонка ($h = 300$ мм, $d = 15$ мм), содержащая 5 г катионообменника КУ-2 в H^+ -форме.
2. Потенциометр со стеклянным и хлорсеребряным электродами.
3. Магнитная мешалка.
4. Мерная колба вместимостью 250 мл.

5. Пипетка вместимостью 25 мл.
6. Стаканы для титрования вместимостью 50 мл - 3 шт.
7. Бюретка вместимостью 25 мл.
8. Серная кислота , 2 Н.
9. Водный раствор гидроксида натрия, 0,1 М,
10. Раствор индикатора метиловый оранжевый.

Выполнение работы

П е р е в о д к а т и о н и т а в H^+ - ф о р м у .
 Для перевода катионообменника в H^+ -форму через колонку пропускают 50 мл 2 н H_2SO_4 со скоростью 2-3 капли/с. Затем катионит отмывают от кислоты 300-400 мл дистиллированной воды (скорость пропускания 3-4 капли/с.) . Периодически отбирают элюат на часовое стекло (или в пробирку) и проверяют pH среды с помощью индикатора метилового оранжевого. Промывание проводят до получения желтой окраски индикатора. ВНИМАНИЕ! Над слоем катионообменника на протяжении всей работы должна находиться жидкость. В случае образования в колонке пузырьков воздуха катионообменник следует взрыхлить стеклянной палочкой.

П р о в е д е н и е и о н н о г о о б м е н а .
 Анализируемый раствор смеси солей пропускают через колонку со скоростью 1-2 капли/с. Вытекающий из колонки элюат собирают в мерную колбу вместимостью 250 мл. Для полного вымывания выделившихся кислот через колонку пропускают дистиллированную воду, тщательно собирая элюат в ту же мерную колбу, доводя раствор в ней до метки. Содержимое колбы перемешивают.

П о т е н ц и о м е т р и ч е с к о е т и т р о в а н и е .
 В стакан вместимостью 50 мл отбирают 25 мл раствора кислот, погружают электроды (индикаторный - стеклянный, электрод сравнения - хлорсеребряный), бюретку заполняют раствором NaOH, включают магнитную мешалку и приступают к титрованию. Сначала титрант добавляют порциями по 0,5 мл и постоянно следят за изменением pH анализируемой системы. Как только изменение pH станет заметно отличаться от предыдущих показаний (наступает скачок титрования), титрант добавляют порциями по 0,1 мл. Первый скачок на кривой потенциометрического титрования смеси кислот соответствует нейтрализации HCl, второй скачок – CH_3COOH (рис. 15).

Потенциометрическое титрование анализируемой смеси кислот повторяют 3 раза. Результаты титрования заносят в таблицу:

Титрование №1		Титрование №2		Титрование №3	
V, мл	pH	V, мл	pH	V, мл	pH

--	--	--	--	--	--

На основании кривых потенциометрического титрования, используя метод трех касательных, находят объем титранта, пошедших на титрование CH_3COOH и HCl .

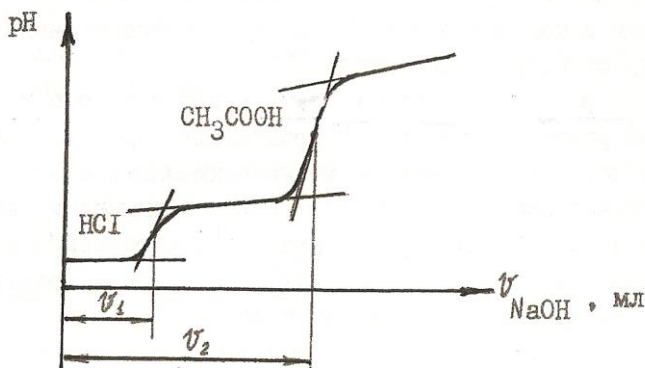


Рис. 15. Вид кривых потенциометрического титрования смеси кислот HCl и CH_3COOH .

По средним значениям объемов ($V_{\text{сп1}}$ и $V_{\text{сп2}}$) рассчитывают содержание CH_3COONa и NaCl (в г.) по формулам:

$$m_{\text{NaCl}} = \frac{V_{\text{сп.1}} \cdot C_{\text{NaOH}} \cdot M_{\text{NaCl}} \cdot V_{\text{к.}}}{1000 \cdot V_{\text{n.}}};$$

$$m_{\text{CH}_3\text{COONa}} = \frac{(V_{\text{нд.2}} - V_{\text{нд.1}}) \cdot C_{\text{NaOH}} \cdot M_{\text{CH}_3\text{COONa}} \cdot V_{\text{ê.}}}{1000 \cdot V_{\text{т.}}},$$

где C_{NaOH} – молярная концентрация титранта, моль/л; M – молярная масса соли, г/моль; $V_{\text{к.}}$, $V_{\text{п.}}$ – вместимость колбы и пипетки, соответственно, мл.

Для оценки достоверности полученных результатов проводят статистическую обработку данных.

3. Рекомендуемая литература

1. Айвазов Б.В. Введение в хроматографию.-М.: Изд-во «Высш. шк.», 1983.-240с.
2. Бёккер Ю. Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза. – М.: Изд-во «Техносфера», 2009г.-264с.
3. Руководство по газовой хроматографии: в 2-хч. Пер с нем./ Под ред. Э.Лейбница, Х.Г.Штруппе.- М.: Изд-во «Мир», 1988г.
4. Яшин Я.И., Яшин Е.Я., Яшин А.Я. Газовая хроматография. - М.: Изд-во «ТрансЛит», 2009 г.-528с.
5. Сычев К.С.Практическое руководство по жидкостной хроматографии.- М.: Изд-во «Техносфера», 2010г.- 272 с.
6. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии.- Воронеж.: Изд-во «Водолей», 2004 г.-528с.
7. Хенке Х. Жидкостная хроматография.- М.: Изд-во «Техносфера», 2009г.- 264с.
8. Садек П. Растворители для ВЭЖХ.- М.: Изд-во «БИНОМ. Лаборатория знаний», 2006г.-704с.
9. Стыскин Е.Л., Ициксон Л.Б., Брауде Е.В. практическая высокоэффективная жидкостная хроматография.- М.: Изд-во «Химия», 1986г.-250 с.
10. Сверхкритическая флюидная хроматография.:Пер. с англ./ Под ред. Р.Смита.- М.: Изд-во «Мир», 1991г.-280с.
11. Мархол М. Ионообменники в аналитической химии. В 2-х ч.-М.: Изд-во «Мир», 1985г.
12. Аналитическая химия. Физические и физико-химические методы анализа: Учебник для вузов/ А.Ф.Жуков, И.Ф.Колосова, В.В. Кузнецов и др.; Под ред. О.М. Петрухина.- М.: Изд-во «Химия», 2001г.-496 с.