

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Методические указания для студентов
III курса химического факультета (в/о)

Издательско-полиграфический центр
Воронежского государственного университета
2010

Содержание

Введение	4
Характеристики хроматографических пиков	5
Параметры разделения. Селективность колонки	8
Теория теоретических тарелок (ТТТ). Эффективность колонки	10
Влияние параметров колонки на размывание зоны (Кинетическая теория хроматографии)	11
Параметры хроматографирования и эффективность разделения в планарной хроматографии	13
Методы количественного анализа	15
Задачи	18
Лабораторные работы	30
Работа 1. Определение аминокислот методом тонкослойной хроматографии и методом бумажной хроматографии	30
Работа 2. Определение концентрации соли никеля методом осадочной хроматографии на бумаге	33
Работа 3. Разделение и идентификация дикарбоновых кислот методом тонкослойной хроматографии в водно-органических подвижных фазах	36
Работа 4. Определение содержания примесей в препаратах лекарственных веществ	39
Работа 5. Качественное и количественное определение флавоноидов методом ТСХ	42
Вопросы	47
Литература	49

$$t_R = t_m + t'_R, \quad (1)$$

t'_R – время пребывания вещества в неподвижной фазе, которое является характеристикой истинной удерживающей способности и называется исправленным временем удерживания:

$$t'_R = t_R - t_m. \quad (2)$$

Для несорбируемого компонента смеси пик на хроматограмме появляется раньше. На рис. 1 показаны времена t_R, t_m, t'_R .

Скорость движения вещества определяется по формуле

$$v = \frac{L}{t_R}, \quad (3)$$

где L – длина колонки.

Скорость движения растворителя и несорбируемого компонента определяется по формуле

$$v_m = \frac{L}{t_m}. \quad (4)$$

Коэффициентом удерживания (замедления) называется отношение скорости движения вещества к скорости движения растворителя:

$$R = \frac{v}{v_m} = \frac{L/t_R}{L/t_m} = \frac{t_m}{t_R}. \quad (5)$$

Коэффициент удерживания показывает, какую долю времени вещество находится в подвижной фазе. Для несорбируемого компонента $t_R = t_m$, коэффициент удерживания равен 1. R может быть записан в виде

$$R = \frac{t_m}{t_m + t'_R} = \frac{I}{I + \frac{t'_R}{t_m}}. \quad (6)$$

Если время пребывания в подвижной и неподвижной фазах одинаково ($t_m = t'_R$), то $R = 0,5$.

Для характеристики удерживания используют также *удерживаемый объем* V_R – объем подвижной фазы, который нужно пропустить через колонку с определенной скоростью, чтобы элюировать вещество:

$$V_R = F \cdot t_R, \quad (7)$$

где $F, \frac{\text{см}^3}{\text{с}}$ – объемная скорость потока (объем, проходящий через колонку в единицу времени). Объем для вымывания несорбируемого компонента, мертвый объем:

$$V_m = F \cdot t_m. \quad (8)$$

Исправленный удерживаемый объем соответственно равен

$$V_R' = V_R - V_m. \quad (9)$$

При постоянных условиях хроматографирования (скорость потока, давление, температура, состав фаз) t_R и V_R строго воспроизводимы и могут быть использованы для идентификации веществ.

При регистрации параметров удерживания с использованием самописца время и объем удерживания можно пересчитывать в расстояние удерживания l_R , исправленное расстояние удерживания l_R' , мертвое расстояние удерживания l_m , которые можно представить как

$$l_R = v_{\text{д.л.}} \cdot t_R \quad (10)$$

$$l_R' = v_{\text{д.л.}} \cdot t_R' \quad (11)$$

$$l_m = v_{\text{д.л.}} \cdot t_m, \quad (12)$$

где $v_{\text{д.л.}}$ – скорость диаграммной ленты.

Коэффициент удерживания R может быть выражен через удерживаемый объем:

$$R = \frac{t_m}{t_R} = \frac{V_m / F}{V_R / F} = \frac{V_m}{V_R}. \quad (13)$$

Распределение вещества между двумя фазами можно характеризовать также коэффициентом распределения и коэффициентом емкости. Коэффициент распределения равен отношению равновесных концентраций веществ в неподвижной (C_s) и подвижной (C_m) фазах:

$$D = \frac{C_s}{C_m}. \quad (14)$$

Подставляя в формулу (6) выражение $\frac{t'_R}{t_m} = \frac{C_s V_s}{C_m V_m} = D \frac{V_s}{V_m}$, вытекающее из условия равенства отношения времен пребывания вещества в подвижной и неподвижной фазах отношению количеств вещества в фазах, V_s – объем сорбента, получим с учетом выражения (13):

$$R = \frac{1}{1 + D \frac{V_s}{V_m}} = \frac{V_m}{V_R}.$$

Отсюда

$$V_R = V_m + D V_s. \quad (15)$$

Величина

$$k = D \frac{V_s}{V_m} = \frac{t'_R}{t_m} \quad (16)$$

называется *коэффициентом емкости k*. Она показывает, насколько сильно вещество удерживается сорбентом. Чем выше k , тем большее время данный компонент находится в неподвижной фазе. Из формулы (15) следует соотношение, связывающее исправленный удерживаемый объем и коэффициент распределения

$$V'_R = V_R - V_m = D V_s. \quad (17)$$

Уравнения (15), (16), (17) называют основными уравнениями хроматографии.

Параметры разделения. Селективность колонки

Размывание пика характеризуется шириной пика у основания w или полушириной пика $w_{1/2}$ – шириной пика на половине высоты пика (рис. 3).

К параметрам разделения веществ относят степень и коэффициент разделения.

Степень разделения количественно характеризует разделение двух пиков на хроматограмме и рассчитывается по формуле

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w(1)_{1/2} + w(2)_{1/2}} = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w(1) + w(2)} = \frac{\Delta t_R}{w(1)_{1/2} + w(2)_{1/2}}. \quad (18)$$