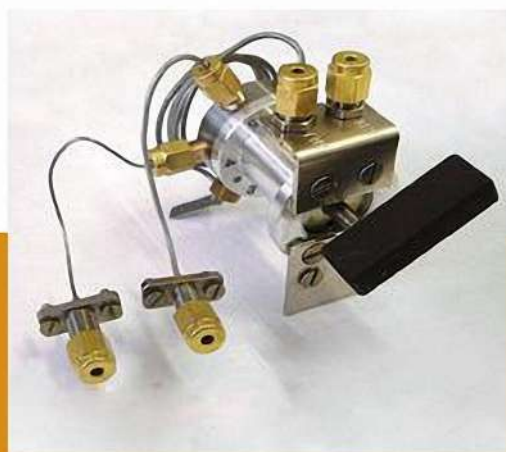


ВЫСШЕЕ ОБРАЗОВАНИЕ

ХРОМАТОГРАФИЯ В ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Практикум

В. Ю. Конюхов
Г. М. Бондарева



E.LANBOOK.COM

В. Ю. КОНЮХОВ,
Г. М. БОНДАРЕВА

ХРОМАТОГРАФИЯ В ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ ПРАКТИКУМ

Учебное пособие



ЛАНЬ

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
МОСКВА
КРАСНОДАР
2022

УДК 543.544
ББК 24.58я73

К 65 Конюхов В. Ю. Хроматография в физической химии.
Практикум : учебное пособие для вузов / В. Ю. Конюхов, Г. М. Бондарева. — Санкт-Петербург : Лань, 2022. — 252 с. : ил. — Текст : непосредственный.

ISBN 978-5-8114-8441-6

Учебное пособие представляет собой сборник лабораторных работ по физической химии, в которых физико-химические свойства систем исследуются с помощью хроматографии, а также работ, в которых с помощью хроматографических методов анализируется состав равновесных фаз при термодинамическом описании систем. Приведены основные хроматографические методы анализа и исследований физико-химических свойств веществ, изложены теоретические основы методов, их особенности и аппаратное оформление.

Учебное пособие предназначено для студентов всех направлений подготовки, изучающих физическую и аналитическую химию, для научных работников, аспирантов и сотрудников лабораторий.

УДК 543.544
ББК 24.58я73

Рецензенты:

В. В. КУЗНЕЦОВ — доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии Российского химикотехнологического университета им. Д. И. Менделеева;

И. И. МИХАЛЕНКО — доктор химических наук, профессор кафедры физической и коллоидной химии Российского университета дружбы народов.

Обложка
П. И. ПОЛЯКОВА

© Издательство «Лань», 2022
© В. Ю. Конюхов, Г. М. Бондарева, 2022
© Издательство «Лань»,
художественное оформление, 2022

Оглавление

Введение	6
Глава 1. ОСНОВЫ ХРОМАТОГРАФИИ	8
1.1. Классификации методов хроматографии	8
1.2. Газовая хроматография.....	14
1.2.1. Аппаратурное оформление газового хроматографа и функционирование его систем.....	15
1.2.1.1. Газовая система хроматографа	16
1.2.1.2. Устройства для ввода пробы.....	18
1.2.1.3. Хроматографические колонки	20
1.2.1.4. Система термостатирования	23
1.2.1.5. Хроматографические детекторы	25
1.2.1.5.1. Классификации детекторов	26
1.2.1.5.2. Основные характеристики детекторов	27
1.2.1.5.3. Основные детекторы, применяемые в газовой хроматографии	30
1.2.1.5.4. Система обработки сигнала детектора	37
1.2.1.6. Неподвижная фаза.....	38
1.2.1.6.1. Неподвижная жидкая фаза (НЖФ).....	38
1.2.1.6.2. Твердый носитель.....	47
1.2.1.6.3. Адсорбенты для хроматографии.....	52
1.2.2. Элюационные характеристики, селективность и эффективность фазы (колонки)	61
1.2.2.1. Хроматографические пики.....	61
1.2.2.2. Элюационные характеристики хроматографии	62
1.2.2.3. Эффективность колонки.....	67
1.2.2.4. Селективность фазы (колонки)	69
1.2.3. Теории газовой хроматографии	76
1.2.3.1. Общие идеи.....	76
1.2.3.2. Скорость движения хроматографической зоны	77
1.2.3.3. Размывание хроматографических зон	79
1.2.4. Проведение качественного и количественного хроматографического анализа	86
1.2.4.1. Качественный анализ.....	86
1.2.4.2. Количественный анализ	91
1.3. Применение хроматографии в физико-химических исследованиях	96
1.3.1. Получение изотерм адсорбции	97
1.3.2. Определение теплоты растворения (абсорбции) и теплоты адсорбции веществ в неподвижной фазе хроматографа	99
1.3.3. Определение коэффициента диффузии вещества в неподвижной фазе	100
1.3.4. Определение температуры стеклования полимеров	101
1.3.5. Определение термодинамических параметров взаимодействия полимер – растворитель	103
1.4. Жидкостная хроматография	104
1.4.1. Колоночная жидкостная хроматография (КЖХ)	104
1.4.1.1. Адсорбционная и распределительная КЖХ	104

1.4.1.1.1. Конструктивные особенности аппаратуры для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).....	104
1.4.1.1.2. Детекторы для ВЭЖХ.....	107
1.4.1.1.3. ВЭЖХ с градиентом состава растворителя	111
1.4.1.1.4. Неподвижная фаза ВЭЖХ	114
1.4.1.1.5. Теория разделения ВЭЖХ	118
1.4.1.2. Ионообменная хроматография	119
1.4.1.3. Эксклюзионная хроматография (гель-хроматография)	121
1.4.1.4. Аффинная хроматография.....	129
1.4.2. Планарная хроматография	129
1.4.2.1. Тонкослойная хроматография (ТСХ).....	129
Глава 2. ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ ПО ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ.....	131
2.1. Лабораторные работы, в которых с помощью хроматографии исследуют сорбционные свойства неподвижной фазы	131
2.1.1. Физикохимия сорбции	131
2.1.1.1. Основные понятия и определения.....	131
2.1.1.2. Адсорбция газов и паров твердыми адсорбентами. Теория мономолекулярной адсорбции Лэнгмюра	136
2.1.1.3. Изотермы полимолекулярной адсорбции	142
2.1.1.4. Основные закономерности адсорбции из жидких растворов на твердых адсорбентах.....	144
Лабораторная работа 1. Исследование адсорбционных свойств поверхности методом обращённой газовой хроматографии	146
Работа 1а. Построение изотермы адсорбции методом обращённой газовой хроматографии	146
Работа 1б. Определение удельной поверхности адсорбента методом обращённой газовой хроматографии	150
Работа 1в. Газохроматографическое определение удельной поверхности методом термодесорбции азота	152
Работа 1г. Газохроматографическое определение удельной поверхности методом «адсорбции-десорбции» азота	154
Лабораторная работа 2. Определение изостерической теплоты адсорбции из изотерм адсорбции методом обращённой газовой хроматографии.....	158
Лабораторная работа 3. Определение дифференциально-молярной теплоты адсорбции при максимальной концентрации адсорбата в газовой фазе	163
Лабораторная работа 4. Определение теплоты и энтропии растворения газохроматографическим методом	168
2.2. Лабораторные работы, в которых с помощью хроматографии исследуют физико-химические свойства полимеров (неподвижной фазы).....	173
2.2.1. Общие сведения о физической химии полимеров	173
2.2.2. Физические и фазовые состояния полимеров	175
2.2.2.1. Фазовые состояния полимеров.....	175
2.2.2.2. Физические состояния аморфного полимера.....	176

2.2.2.3. Термодинамика систем полимер – растворитель	177
Лабораторная работа 5. Исследование термодинамики систем «полимер – растворитель» методом обращенной газовой хроматографии	182
Лабораторная работа 6. Определение температуры стеклования полимеров методом обращенной газовой хроматографии	188
Лабораторная работа 7. Определение коэффициента диффузии веществ в полимерах (неподвижной фазе) методом обращенной газовой хроматографии.	192
Лабораторная работа 8. Определение молярной массы полимера методом эксклюзионной (гель-проникающей) хроматографии.....	196
2.3. Лабораторные работы по физической химии, в которых хроматография применяется для анализа смеси веществ	202
Лабораторная работа 9. Исследование фазового равновесия в системе ограниченно растворимых жидкостей хроматографическим методом	202
Лабораторная работа 10. Исследование фазового равновесия в трехкомпонентной системе ограниченно растворимых жидкостей хроматографическим методом	208
Работа 10а. Построение изотермы взаимной растворимости в трёхкомпонентной жидкой системе (построение бинодальной кривой)	211
Работа 10б. Определение хроматографическим методом состава равновесных фаз ограниченно растворимых жидкостей в трехкомпонентной системе	213
Лабораторная работа 11. Определение состава равновесных фаз азеотропной системы хроматографическим методом	217
Приложение 1	223
Приложение 2	226
Приложение 3	237
Литература	245

Введение

Принято считать, что хроматография входит в двадцатку выдающихся открытий XX века, которые в наибольшей степени изменили науку и тем самым повысили уровень развития техники, промышленности и цивилизации в целом. «Открытие хроматографии по значению можно сравнить с созданием микроскопа. Благодаря ей открылся новый, неведомый ранее мир многих компонентов, примесей и микропримесей» (А. А. Жуховицкий). В настоящее время хроматография представляет собой:

- самый распространенный и совершенный метод разделения смесей атомов, изотопов, молекул, всех типов изомерных молекул, включая и оптические изомеры, макромолекул (синтетических полимеров и биополимеров), ионов, устойчивых свободных радикалов, комплексов, ассоциатов, микрочастиц;
- уникальный метод качественного и количественного анализа сложных многокомпонентных смесей;
- самостоятельное научное направление и важный физико-химический метод исследования;
- препаративный метод выделения веществ в чистом виде;
- самостоятельную отрасль научного приборостроения.

Ни один аналитический метод не может конкурировать с хроматографией по универсальности применения и эффективности разделения самых сложных многокомпонентных смесей. На современных газохроматографических капиллярных колонках в одном эксперименте могут быть разделены более 1000 индивидуальных компонентов, например в бензиновых фракциях нефти.

В основе хроматографии лежат физико-химические процессы, поэтому хроматографические методы могут использоваться при изучении термодинамики систем и кинетики протекающих в них процессов. Уникальная информация может быть получена при исследовании хроматографическим методом химической природы и свойств поверхности твердых тел: адсорбентов, катализаторов, полимеров, композиционных материалов, при изучении изменения структуры и свойств поверхности материалов в результате их термообработки, химического или адсорбционного модифицирования.

Методом обращенной газовой хроматографии можно изучать термодинамику физических и фазовых переходов в полимерных материалах, термодинамическую совместимость в системах «полимер — растворитель».

Обращенная жидкостная хроматография дает надежные сведения о диаметре пор и распределении их по размерам пористых полимеров разной природы, силикагелей, оксидов титана и циркония, целлюлозы, каолинитов, катализаторов и т. д.

Можно привести еще множество примеров успешного применения хроматографии. Круг решаемых ею задач и практическое использование непрерывно расширяются. Данное учебное пособие ставит своей задачей показать возможности хроматографии в практических работах по физической химии.

Пособие состоит из двух глав: в первой из них излагаются теоретические основы хроматографии, аппаратурная ее реализация, методики хроматографических исследований.

Во второй главе описаны лабораторные работы по физической химии, в которых с помощью хроматографии исследуют сорбционные свойства неподвижной фазы, а также рассматривают применение хроматографии для исследования термодинамических свойств полимеров (неподвижной фазы). Приведены работы, в которых хроматография применяется как метод анализа равновесных фаз при термодинамическом описании систем.

Пособие полезно хроматографистам, которые смогут расширить перечень лабораторных работ в практикумах для студентов, изучающих хроматографию. Физикохимики также могут пополнить арсенал своих лабораторных работ раскрывающими возможности исследований физико-химических свойств систем.

Глава 1. ОСНОВЫ ХРОМАТОГРАФИИ

1.1. Классификации методов хроматографии

Согласно определению, данному международной комиссией ИЮПАК, хроматография — физический метод разделения, в котором разделяемые компоненты распределены между двумя фазами, одна из которых является неподвижной (стационарная или неподвижная фаза), в то время как другая (подвижная фаза) движется в определенном направлении. К сожалению, это определение неполное и оно сводит хроматографию только к *физическому методу разделения*, а это сильно сужает область ее применения. Действительно, в *обращенной газовой хроматографии*, которая в большей степени используется в практических работах по физической химии, не разделяют вещества, а исследуют физико-химические свойства неподвижной фазы, помещенной в колонку. К тому же во многих видах хроматографии используют не только физические методы разделения, но и химические.

Методы хроматографии можно классифицировать по различным признакам: по агрегатному состоянию фаз, способу их относительного перемещения, аппаратному оформлению процесса и т. п. В практикуме по физической химии в большей степени применяют элюентную газoadсорбционную и газожидкостную хроматографию, а также некоторые варианты жидкостной хроматографии. Рассмотрим некоторые методы хроматографии подробнее.

В случае *элюентного (проявительного) метода* через колонку непрерывно пропускают элюент: газ-носитель или жидкий растворитель, адсорбционная способность которого ниже, чем у любого из компонентов смеси. Далее в определенный момент времени с помощью шприца (в случае жидкости) или крана-дозатора (при анализе газа) в колонку вводят порцию анализируемой смеси. При движении вдоль колонки компоненты смеси разделяются на зоны, перемещающиеся с различной скоростью: сильно сорбирующееся вещество В отстает, а слабо сорбирующееся А «вырывается вперед». Типичная хроматограмма изображена на рис. 1. В газе или жидкости, выходящих из колонки, сначала появляется компонент А, далее — чистый элюент (нулевая линия), затем компонент В. Чем больше концентрация компонента в смеси, тем выше пик и больше его площадь.

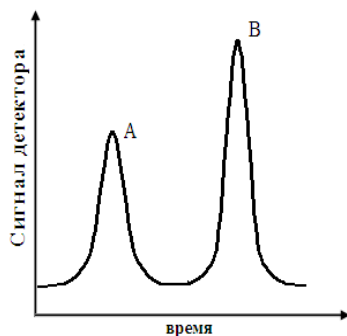


Рис. 1. Хроматограмма элюентного метода

Основные преимущества элюэнтного метода хроматографии заключаются в следующем:

- при выборе соответствующих условий компоненты могут быть практически полностью изолированы друг от друга и будут находиться лишь в смеси с элюентом, т. е. возможно полное разделение анализируемых веществ;
- сорбент непрерывно регенерируется элюентом, поэтому после выхода наиболее сильно сорбирующегося компонента смеси сразу возможен следующий анализ;
- если концентрация исследуемого компонента соответствует линейному участку изотермы его сорбции, то время элюирования компонента при заданных условиях является постоянной величиной, которая может быть использована для целей идентификации;
- возможна работа с малыми количествами смеси.

К недостаткам метода относится необходимость использования больших количеств элюента, так как он постоянно пропускается через неподвижную фазу.

В зависимости от природы процесса, обеспечивающего распределение компонентов между подвижной и неподвижной фазами, различают *сорбционно-ситовую* и *полевую* хроматографию. В свою очередь, сорбционно-ситовая хроматография бывает распределительной, ионообменной, адсорбционной, аффинной, эксклюзионной, осадочной.

В *распределительной хроматографии* роль неподвижной фазы выполняет нелетучая жидкость, нанесенная в виде тонкой пленки на поверхность твердого сорбента или стенки капиллярной колонки. Сорбент с жидкой фазой помещают в хроматографическую колонку (колоночная хроматография) или на поверхность пластинки (планарная хроматография). Через колонку продувают поток газа (газожидкостная хроматография) или прокачивают жидкость (жидкостная

хроматография). Анализируемую смесь веществ подают в поток подвижной фазы (газа или жидкости). Вещества смеси имеют различную растворимость (константу распределения) в пленке неподвижной жидкости, и в результате многократных актов сорбции-десорбции в потоке подвижной фазы происходит их разделение: слабо растворимые двигаются по слою неподвижной фазы быстрее, а сильно растворимые отстают. В результате один и тот же путь (длину колонки) они пройдут за разное время.

В случае плоскостной хроматографии анализируемую смесь капают на пластинку, покрытую сорбентом с нанесенной на нем жидкостью, пластинку помещают в растворитель — элюент. За счет капиллярных сил элюент перемещается вдоль слоя сорбента, увлекая за собой разделяемые вещества. Слабо сорбирующиеся вещества двигаются с большей скоростью и проходят больший путь за то же время (время анализа), сильно сорбирующиеся вещества проходят при этом меньший путь. Разделяемые вещества оказываются при этом в разных частях плоскости.

Ионообменная хроматография основана на различии констант ионообменного равновесия анализируемых веществ между фазой адсорбента (неподвижной фазой) и подвижной жидкой фазой.

В *адсорбционной хроматографии* разделение веществ смеси происходит из-за различия в их адсорбируемости на поверхности твердой неподвижной фазы. Как и в случае распределительной хроматографии, неподвижную фазу (адсорбент) помещают в колонку, через которую продувают поток газа (газо-адсорбционная хроматография) или прокачивают поток жидкости (жидкостная хроматография). Анализируемую смесь веществ подают в поток. В процессе хроматографирования осуществляются многократные акты адсорбции и десорбции компонентов на поверхности адсорбента. Среднее время пребывания на поверхности молекул слабо адсорбирующихся веществ меньше, чем у сильно адсорбирующихся, в результате они первыми выходят из колонки, последними выходят молекулы наиболее сильно адсорбирующихся веществ.

Осадочная хроматография основана на различной растворимости осадков в подвижной фазе.

Разделение веществ в *аффинной хроматографии* происходит за счет биоспецифического взаимодействия компонентов с аффинным лигандом, кова-

лентно связанным с нерастворимым носителем. Лигандами могут быть, например, ингибиторы, кофакторы, субстраты, а носителями — силикаты, полиалкиламиды, декстрины, целлюлоза, хитин, крахмал и т. п.

В *эксклюзионной хроматографии* разделение основано на различии проницаемости молекул разделяемых веществ в неподвижную фазу (в случае гель-хроматографии неподвижной фазой служит гель) и обусловлено различными размерами разделяемых молекул. Компоненты элюируются в порядке уменьшения их молярной массы. Первыми из колонки выходят вещества, которые из-за больших размеров молекул слабо проникают вглубь неподвижной фазы и двигаются практически вместе с фронтом элюента. Последними выходят молекулы, способные проникать в поры неподвижной фазы и задерживаемые ею дольше всего.

В *полевой хроматографии* разделение компонентов происходит под действием внешнего поля: гравитационного, электромагнитного и т. п. Наибольшее распространение получил метод проточного фракционирования в поле сил (ППФ) (за рубежом — *FFF* (Flow, Field, Fractionation)).

В зависимости от агрегатного состояния подвижной фазы различают газовую и жидкостную хроматографию. В табл. 1.1 приведены названия хроматографических методов в зависимости от природы подвижной и неподвижной фаз.

Таблица 1.1

Классификация хроматографических методов в зависимости от агрегатного состояния фаз

Неподвижная фаза	Подвижная фаза	
	газообразная	жидкая
Твердая	Газоадсорбционная хроматография	Жидкостная адсорбционная, ионообменная, осадочная, плоскостная (планарная) хроматография
Жидкая	Газожидкостная (распределительная) хроматография	Жидкостная распределительная, высокоэффективная жидкостная, гель-хроматография

В *газовой хроматографии* подвижной фазой является газ, а в качестве неподвижной фазы выступает или твердый адсорбент (газоадсорбционная хроматография), или пленка нелетучей жидкости, нанесенная на инертный носитель

(газожидкостная хроматография). В газоадсорбционной хроматографии разделение осуществляется вследствие различной адсорбируемости компонентов смеси. В *газожидкостной хроматографии* разделение осуществляется вследствие различной растворимости (коэффициентов распределения) компонентов пробы в жидкости. Получила распространение *газовая хроматография на модифицированном сорбенте*. В этом случае неподвижной фазой служит твердый адсорбент, модифицированный небольшим количеством жидкости. Здесь в процессе разделения играет роль как адсорбция на твердой поверхности, так и растворимость веществ в модифицирующей жидкости.

В *жидкостной хроматографии* подвижной фазой является жидкость, а в качестве неподвижной фазы выступает твердый адсорбент (жидкостно-адсорбционная хроматография) или жидкость, нанесенная на твердый инертный носитель (жидкостно-жидкостная хроматография).

Промежуточное положение между жидкостной и газовой хроматографией занимает *сверхкритическая флюидная хроматография*. В этом методе используется то обстоятельство, что коэффициенты диффузии сорбатов в сверхкритическом диоксиде углерода (давление более 7,3 МПа и температура выше 31,3°C) близки к высоким значениям коэффициентов диффузии в газах, а растворяющая способность флюида CO₂, особенно в присутствии добавок метанола, примерно такая же, как у органических жидкостей. Сверхкритическая флюидная хроматография обеспечивает высокоэффективное разделение смесей многих веществ, вплоть до олигомерных молекул, причем экологическая безвредность диоксида углерода выгодно отличает этот метод.

В зависимости от способа оформления процесса различают колоночную и плоскостную (планарную) хроматографию.

В *колоночной хроматографии* процесс разделения осуществляют в насадочной или капиллярной колонке. В последнем случае хроматография часто называется *капиллярной* или *высокоэффективной газовой хроматографией*. Получили распространение и *поликapиллярные колонки* (ПКК), состоящие из большого числа тонких параллельных капилляров. ПКК сочетают в себе достоинства капиллярных и насадочных колонок, но практически лишены их недостатков.

Применяют и *монолитные капиллярные колонки* (МКК). В этом варианте хроматографии осуществляют полимеризацию мономеров внутри кварцевых капилляров, создавая в них пористую неподвижную фазу различной полярности.

Насадочную колонку заполняют сорбентом, селективным к разделяемым веществам. В капиллярной хроматографии разделение компонентов смеси происходит на внутренних стенках очень тонкой колонки (капилляра), покрытых слоем нелетучей жидкости. Длина колонки при этом может составлять десятки и сотни метров.

В последние годы широкое распространение получила *хромато-масс-спектрометрия* — совмещение газового хроматографа и масс-спектрометра. В капиллярной колонке (вследствие ее большой длины) происходит разделение смеси веществ практически любой сложности и сочетания. Разделенные вещества последовательно попадают в анализатор масс-спектрометра, совмещенного с ЭВМ, в памяти которой находятся спектры практически всех полученных веществ.

Известны два варианта *плоскостной хроматографии*: *хроматография на бумаге* и *тонкослойная хроматография* (ТСХ). Здесь роль неподвижной фазы играют либо специальная (хроматографическая) бумага, либо сорбент, нанесенный тонким слоем на поверхность пластинки. Развитием ТСХ является так называемая *высокоэффективная тонкослойная хроматография* (ВЭТСХ), в ней используют тонкодисперсный адсорбент: микроколичество пробы наносят в центре пластинки и элюирование осуществляют в специальных круговых камерах.

В зависимости от цели процесса хроматографию разделяют на аналитическую, препаративную и обращенную.

Аналитическая хроматография предназначена для проведения качественного и количественного анализа смесей веществ.

Препаративная хроматография применяется для выделения небольших количеств чистых компонентов из смеси.

В *обращенной* (неаналитической) *хроматографии* объектом исследования является не жидкая или газовая проба, подаваемая в колонку хроматографа, а сама неподвижная фаза колонки. Исследуемое вещество либо в чистом виде, либо в виде пленки, нанесенной на инертный носитель, помещают в хроматографическую колонку и далее в токе газа или жидкости подают тестирующие вещества (сорбаты). Выписывают хроматограммы тестирующих веществ при различных температурах. Из полученной температурной зависимости времени удерживания определяют теплоты адсорбции, коэффициенты диффузии тестирующих веществ, температуры физических и фазовых переходов вещества неподвижной фазы и т. п.

Помимо перечисленных, выделяют еще и *промышленную (производственную) хроматографию*, где применяют колонки очень большого диаметра (до 1–3 м) для получения чистых веществ в значительных количествах (несколько десятков и сотен тысяч килограммов).

1.2. Газовая хроматография

В газовой хроматографии в качестве подвижной фазы (элюента) выступает инертный газ (газ-носитель), а в качестве неподвижной фазы — нелетучая (обычно высокомолекулярная) жидкость, нанесенная на инертный носитель в насадочной колонке или на стенки капиллярной колонки. Такой вариант газовой хроматографии называют *газо-жидкостной* или *распределительной* хроматографией. Неподвижной фазой может также служить твердый адсорбент, помещенный в хроматографическую колонку. В этом случае мы имеем газoadсорбционную хроматографию.

Газовая хроматография — универсальный метод разделения смесей разнообразных *летучих веществ*, испаряющихся без разложения. При этом компоненты разделяемой смеси перемещаются по хроматографической колонке с потоком газа-носителя. По мере их движения молекулы компонентов испытывают многократные акты сорбции-десорбции на неподвижной фазе колонки. Время такого акта (среднее время жизни τ) зависит от энергии взаимодействия E между молекулами анализируемого вещества и неподвижной фазой:

$$\tau = \tau_0 \cdot e^{E/RT}. \quad (1.1)$$

Компоненты смеси, различающиеся по энергии взаимодействия с данной неподвижной фазой, будут иметь различные значения τ , и время их прохождения слоя неподвижной фазы различно. В качестве примера рассмотрим движение веществ *A* и *B* вдоль колонки.

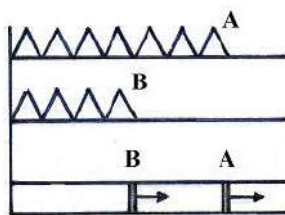


Рис. 2. Схематическое изображение актов сорбции-десорбции веществ *A* и *B* при их движении вдоль колонки

Пусть время жизни молекул *A* меньше, чем молекул *B*. Через одно и то же время *t* молекулы вещества *A* за счет малого времени их пребывания в неподвижной фазе совершат больше актов сорбции и десорбции, чем молекулы *B* (рис. 2). При каждом акте десорбции молекулы подхватываются потоком газа-носителя и перемещаются по направлению к выходу из колонки. И чем больше актов десорбции испытает молекула, тем больший путь она пройдет за одно и то же время. В итоге компоненты смеси перемещаются вдоль колонки с различной скоростью, что и приводит к их разделению. Чем слабее сорбируется вещество, тем быстрее оно движется вдоль колонки.

На выходе из колонки вещества регистрируются детектором. Сигнал детектора записывается в виде хроматограммы.

1.2.1. Аппаратурное оформление газового хроматографа и функционирование его систем

Газовый хроматограф представляет собой прибор, реализующий метод проявительной (элюентной) хроматографии в системах газ-адсорбент или газ – жидкость. В аппаратном оформлении он представляет собой совокупность нескольких самостоятельных, параллельно функционирующих систем: источника газа-носителя и блока подготовки газов, испарителя, термостата колонок и самих хроматографических колонок, детектора, системы регистрации и обработки данных. Типичная блок-схема газового хроматографа изображена на рис. 3.

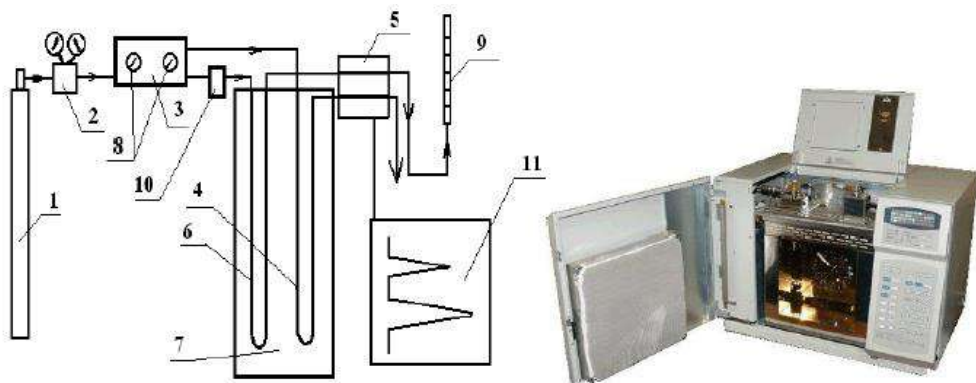


Рис. 3. Фотография и схема газового хроматографа: 1 — баллон с газом-носителем; 2 — редуктор; 3 — блок подготовки газов; 4 — колонка сравнения; 5 — детектор; 6 — рабочая колонка; 7 — термостат колонок; 8 — манометры; 9 — пенный расходомер (на старых хроматографах); 10 — испаритель; 11 — потенциометр или экран монитора.

1.2.1.1. Газовая система хроматографа

Газовая система хроматографа включает в себя баллон с газом-носителем, редуктор и блок подготовки газов.

В качестве газа-носителя обычно применяют сжатые до давления ~15 МПа газы, поставляемые в баллонах емкостью 40 дм³ (позиция 1 на рис. 3).

Требования к газу-носителю:

- инертность к разделяемым веществам и неподвижной фазе колонки;
- малая вязкость, необходимая для поддержания минимального перепада давления в колонке;
- обеспечение высокой чувствительности детектора;
- доступность.

Выбор того или иного газа-носителя определяется в первую очередь доступностью (низкой его стоимостью) и обеспечением высокой чувствительности применяемого детектора. Если в работе используется *катарометр* (см. разд. 1.2.1.5.3), то предпочтительнее применять гелий, так как его теплопроводность сильно отличается от теплопроводности большинства веществ, что обеспечивает более высокую чувствительность детектора, чем при работе с более дешевым азотом. Детектор электронного захвата имеет большую чувствительность при работе с аргоном и азотом, нежели с гелием. При использовании ДИП можно применять дешевый азот, так как влияние свойств газа-носителя на чувствительность детектора здесь минимально, и т. д.

Баллоны с газами принято маркировать, как это приведено ниже в табл. 1.2.

Таблица 1.2

Маркировка баллонов с газом

Наименование газа	Цвет баллона	Цвет надписи	Цвет полосы
Азот	Черный	Желтый	Коричневый
Аммиак	Желтый	Черный	—
Аргон сырой	Черный	Белый	Белый
Аргон технический	Черный	Синий	Синий
Аргон чистый	Серый	Зеленый	Зеленый
Ацетилен	Белый	Красный	—
Бутилен	Красный	Желтый	Черный

Наименование газа	Цвет баллона	Цвет надписи	Цвет полосы
Водород	Зеленый	Красный	—
Гелий	Коричневый	Белый	—
Закись азота	Серый	Черный	—
Кислород	Голубой	Черный	—
Кислород медицинский	Голубой	Черный	—
Сероводород	Белый	Красный	Красный
Сжатый воздух	Черный	Белый	—
CO ₂	Черный	Желтый	—
Фреон-11	Серебристый	Черный	Синий

Редуктор (позиция 2 на рис. 3) понижает давление с 15 до 0,15–0,5 МПа. Входной манометр редуктора показывает давление в баллоне, выходной — давление на входе в блок подготовки газов.

Блок подготовки газов (позиция 3 на рис. 3) включает в себя:

- систему очистки — фильтры, очищающие газ от пыли, и колонки с молекулярными ситами, очищающими газ от воды, масла и т. п.;
- регуляторы расхода газа-носителя — они позволяют поддерживать определенную объемную скорость ω газа-носителя, протекающего через хроматографические колонки. В современных хроматографах скорость ω задают и поддерживают с помощью компьютерной программы автоматически. В старых хроматографах (они еще могут встречаться в лабораторном практикуме) контроль ω осуществляют на выходе из хроматографа с помощью *пенного расходомера*. Для этого измеряют время прохождения мыльной пленкой определенного объема бюретки расходомера.

Очистка газов. Аргон обычно поставляют достаточно чистым, и он не нуждается в дополнительной очистке. Азот, применяемый в хроматографии, обычно имеет степень чистоты, равную 99,99%, поэтому его также не следует дополнительно очищать. То же относится и к гелию при использовании катарометра или ДИП. Однако в случае применения гелиевого ионизационного детектора газ не должен содержать даже следов примесей.

Присутствие примесей в газах обычно не влияет на сам процесс разделения, однако они могут оказывать вредное воздействие на неподвижную фазу

в колонке. Так, кислород и водяной пар при температурах выше 100°C могут разлагать полигликоли, полиэфиры и некоторые силиконовые фазы, что приводит к изменению термостойкости и хроматографических свойств неподвижных фаз.

Для осушки газов обычно применяют молекулярные сита. Они обладают большой емкостью (до 30% от собственной массы), способностью адсорбировать воду даже при температурах выше температуры ее кипения и легко регенерируются.

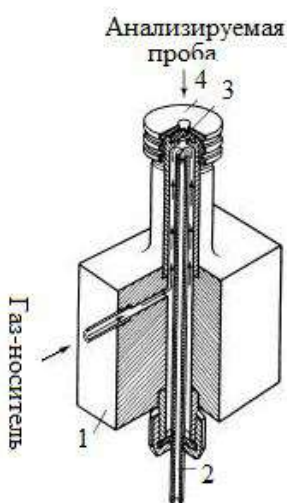


Рис. 4. Схема испарителя: 1 — корпус испарителя; 2 — хроматографическая колонка; 3 — прокладка инжектора; 4 — накручиваемая головка испарителя.

Кислород, водород, CO_2 обычно удаляют из газов с помощью каталитических реакций. Так, для очистки водорода или газов, содержащих водород, от следов кислорода систему пропускают через палладиевый катализатор, работающий уже при комнатной температуре. Образующаяся при этом вода улавливается молекулярными ситами. Следы CO_2 , метана и других углеводородов удаляют с помощью медного или никелевого катализаторов, нагретых до 600°C .

1.2.1.2. Устройства для ввода пробы

Анализируемую смесь вводят в рабочую колонку хроматографа. При подаче пробы смеси должно достигаться как можно меньшее ее разбавление газом-носителем, чтобы зона смеси, а далее — и зоны анализируемых веществ зани-

мали в колонке как можно меньший объем. Такие меры снижают размытость пиков на хроматограмме. С другой стороны, при введении пробы не должны резко изменяться условия хроматографирования (работы колонки и детектора).

Жидкую пробу вводят с помощью микрошприца (1–10 мкл), прокалывая им резиновую мембрану — *прокладку инжектора* в испарителе (рис. 4). Проба мгновенно испаряется, подхватывается потоком газа-носителя и поступает на вход хроматографической колонки.

Для быстрого испарения пробы с целью получения узкой зоны вещества в колонке температура испарителя должна быть выше температуры кипения самого высококипящего компонента смеси на $\sim 30\text{--}50^\circ\text{C}$.

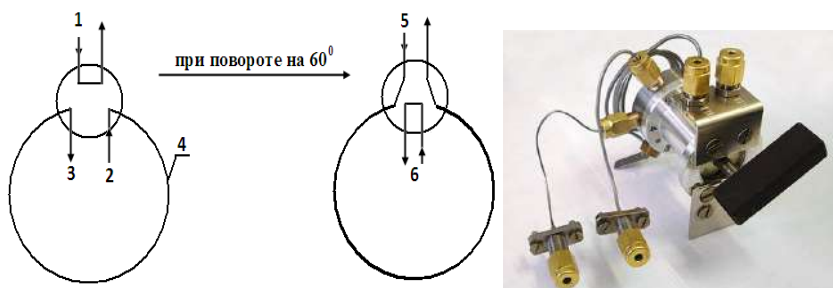


Рис. 5. Фотография и схема, иллюстрирующая работу крана-дозатора:

1 — поток газа-носителя; 2, 3 — вход и выход потока анализируемой смеси; 4 — дозированная петля; 5 — поток газа-носителя через петлю; 6 — поток анализируемой смеси, минуя петлю.

Анализ твердых веществ проводят по описанной методике, растворяя их в подходящем растворителе.

Ввод газовых проб осуществляют либо с помощью шприца, либо с помощью крана-дозатора, схема которого показана на рис. 5. В обычном его положении анализируемая газовая смесь и газ-носитель движутся в кране по независимым каналам. При этом анализируемый газ проходит через дозированную петлю определенного объема (в комплекте хроматографа дается несколько петель разного объема). Переключение крана направляет газ-носитель через дозированную петлю, наполненную смесью, увлекая ее в колонку. Анализируемый газ при этом идет другим путем. Обратный поворот крана возвращает потоки в прежние каналы.

При работе с капиллярными колонками требуемый расход газа-носителя во много раз меньше, чем при использовании насадочных колонок. Для того

чтобы сделать хроматограф универсальным, т. е. пригодным для работы как с насадочными, так и с капиллярными колонками, в конструкцию испарителя добавили делитель потока, который «вырезает» и направляет в капиллярную колонку только часть потока, а остальная его часть сбрасывается в атмосферу. Специальный вентиль позволяет регулировать сброс газа и тем самым — долю потока, поступающего в капиллярную колонку.

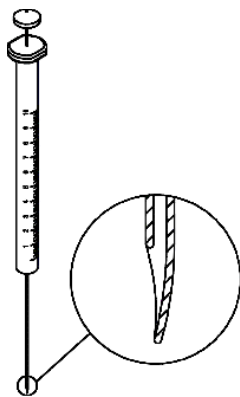


Рис. 6. Микрошприц Hamilton 701N объемом 10 мкл

Микрошприцы. Для ввода жидких проб используют микрошприцы (см. рис. б). Обычные шприцы и микрошприцы объемом свыше 5 мкл представляют собой цилиндрические трубки из стекла или пластмассы, внутри которых находится поршень, соединенный с толкателем. Поршень и цилиндр взаимно притерты и не требуют смазки. Герметичность шприца достигается за счет смачивания сопряженных поверхностей цилиндра и плунжера дозируемой жидкостью.

При использовании микрошприцев объемом менее 5 мкл жидкая проба набирается только в иглу, в которой в качестве плунжера используется вольфрамовая или стальная проволочка.

Для дозирования порошкообразных проб используются специальные шприцы, внутри которых имеется твердый металлический плунжер, выдавливающий пробу в инжектор. Для анализа полимеров используют специальные пиролитические приставки.

1.2.1.3. Хроматографические колонки

Хроматографическая колонка представляет собой трубку из нержавеющей стали, стекла или фторопласта с помещенной в нее неподвижной фазой. Через колонку протекает поток газа-носителя (подвижной фазы). Колонки бывают

насадочными (набивными), микронасадочными и капиллярными. Разновидностью капиллярных колонок являются *поликapиллярные колонки* (ПКК), состоящие из большого числа тонких параллельных капилляров. ПКК сочетают в себе достоинства капиллярных и насадочных колонок и практически лишены их недостатков. Для увеличения эффективности ПКК закручивают вокруг продольной оси на целое число оборотов. Характеристики хроматографических колонок приведены в табл. 1.3.

Таблица 1.3

Типы и характеристики хроматографических колонок

Тип колонки	Внутренний диаметр d , мм	Длина L , м	Объем V , см ³
Насадочные	2,0–6,0	0,5–3,0	1,5–85
Микронасадочные	0,5–1,0	0,1–2,0	0,02–1,5
Капиллярные	0,05–0,5	10–200	0,02–39,2

В препаративной хроматографии для увеличения производительности применяют колонки диаметром 10–50 мм. Использование столь толстых колонок приводит к трудностям с теплообменом: температура центральной части сорбента в них может сильно отличаться от радиальной. Это снижает эффективность работы колонки (см. разд. 1.2.3).

Так как колонки длиннее 3 м, достаточно сложно равномерно заполнять их сорбентом. Обычно серийные хроматографы комплектуются колонками длиной 1 и 3 м, более длинные колонки получают, последовательно соединяя указанные короткие.

Насадочные (набивные) колонки. Насадочные колонки наполняют либо адсорбентом (для газоадсорбционной хроматографии), либо инертным твердым носителем с нанесенной на него нелетучей жидкостью (для газожидкостной хроматографии).

Колонки из нержавеющей стали отличаются прочностью и легко термостатируются (быстро прогреваются).

Колонки из фторопласта (тефлона) используют для анализа коррозионно-активных веществ и при выполнении анализов на содержание примесей высокополярных соединений (воды, аммиака и т. п.).

Достоинством стеклянных колонок (из пирекса) является возможность визуального наблюдения за состоянием неподвижной фазы как в процессе набивки колонки, так и при проведении анализа. Недостатком их является хрупкость.

Микронасадочные колонки отличаются от насадочных только длиной и внутренним диаметром (см. табл. 1.3).

Капиллярные колонки. Неподвижную фазу, твердую или жидкую, в капиллярных колонках наносят в виде тонкого слоя (толщиной в несколько мкм) на внутреннюю стенку колонки, остальное пространство остается полым. Гидравлическое сопротивление такого капилляра невелико, поэтому поток газа-носителя движется по колонке с достаточно большой линейной скоростью. Несмотря на значительную длину (десятки и сотни метров), для обеспечения необходимого расхода газа-носителя через капиллярную колонку оказывается достаточным примерно такое же входное давление газа, что и при работе с насадочными колонками.

Капиллярные колонки изготавливают из нержавеющей стали, меди, стекла и кварца. Широкое распространение получили колонки из стекла, позволяющие анализировать термически и каталитически неустойчивые соединения, а также ВМС.

В хроматографе колонки устанавливаются между дозатором (испарителем) и детектором. Концы колонок крепятся так, чтобы свести к минимуму «мертвое пространство», непродуваемое газом-носителем. В случае насадочной колонки игла микрошприца при закалывании пробы должна касаться насадки, а начало капиллярной колонки при введении пробы должно находиться на расстоянии 10–15 мм от конца иглы.

Выходной конец капиллярной колонки выводят непосредственно под форсунку горелки пламенно-ионизационного детектора, а в случае детектора электронного захвата — в пространство излучения.

Чтобы не допустить утечки газа, колонки крепят накидными гайками и уплотняют специальными прокладками (даются в комплекте хроматографа). Обычно в современных хроматографах применяют прокладки из графита. Стеклянные и кварцевые капиллярные колонки уплотняют силиконовой резиной, кальрезом, вспелем и прессованной смесью графита с фторопластом.

Современные газовые хроматографы позволяют применять одновременно две и более колонки. Колонки можно устанавливать либо параллельно, либо последовательно в зависимости от целей хроматографирования.

1.2.1.4. Система термостатирования

Система термостатирования необходима для поддержания заданного (оптимального) температурного режима хроматографических колонок, детекторов и испарителя. Температура детекторов и испарителя должна быть, как правило, на 30–50°C выше температуры колонок.

В настоящее время большинство отечественных и зарубежных хроматографов снабжено воздушными *термостатами колонок* (позиция 7 на рис. 3). Они представляют собой камеры с двойными стенками, пространство между которыми заполнено теплоизоляционным материалом. Вентилятор создает интенсивный поток воздуха, проходящий через электрические нагреватели, камеру термостата и колонки, поддерживая необходимую температуру с точностью $\pm 0,5^\circ\text{C}$.

В термостате колонок либо сохраняется заданная температура — *изотермический режим* работы хроматографа, либо ее изменяют по определенной программе с заданной скоростью нагрева или скоростью охлаждения — *режим программирования температуры*.

Программирование температуры — контролируемое (с определенной скоростью) изменение температуры колонки во время анализа. Оно применяется для улучшения, упрощения и ускорения разделения компонентов пробы. Необходимость режима программирования температуры возникла в связи с ограниченными возможностями изотермической хроматографии при анализе сложных смесей, состоящих из компонентов с широким диапазоном температур кипения (более 100°C). Это иллюстрирует хроматограмма на рис. 7: при выбранной температуре низкокипящие компоненты выходят очень быстро в виде перекрывающихся пиков (1 и 2), в то время как высококипящим компонентам соответствуют плоские широкие пики (5 и 6), площади которых не могут быть измерены с требуемой точностью.

В некоторых случаях высококипящие компоненты не элюируются из колонки вовсе и могут проявляться при последующих анализах в виде шума нулевой линии на хроматограмме или многократно повторяющихся пиков неизвестного происхождения.

Хроматографирование с программированием температуры начинают с низкой температуры, при которой первые пики хорошо разделяются (рис. 8). По-

вышение температуры в ходе анализа способствует более раннему выходу каждого последующего высококипящего компонента. При этом образуются узкие пики. Общее время анализа сокращается, и расширяется диапазон анализируемых веществ: при изотермическом режиме пик 6 (C_{14}) уже не определялся, при программировании же температуры стал возможным анализ всех веществ смеси (до C_{14} и далее).

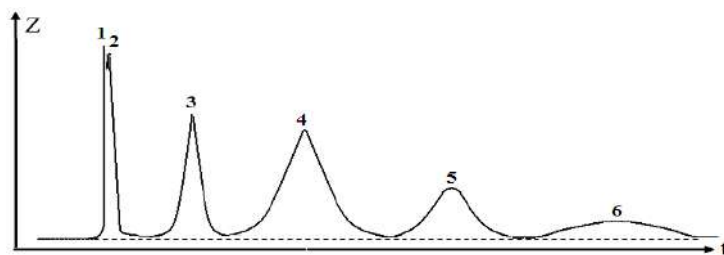


Рис. 7. Хроматограмма многокомпонентной смеси с сильно различающимися температурами кипения в изотермическом режиме: 1 — C_3 ; 2 — C_4 ; 3 — C_6 ; 4 — C_8 ; 5 — C_{12} ; 6 — C_{14} .

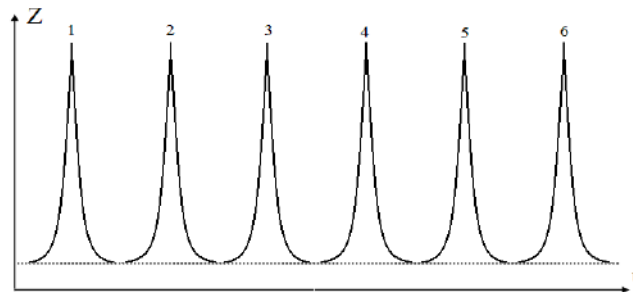


Рис. 8. Хроматограмма многокомпонентной смеси с сильно различающимися температурами кипения в режиме программирования температуры: 1 — C_3 ; 2 — C_4 ; 3 — C_6 ; 4 — C_8 ; 5 — C_{12} ; 6 — C_{14} .

Для каждого компонента пробы происходит как бы автоматический выбор температуры, при которой происходит его передвижение и отделение от других компонентов внутри колонки. Прежде чем эта температура достигается, каждый компонент «вымораживается» в начале колонки, ожидая своей очереди выхода из колонки.

Программирование температуры применяют также в препаративной хроматографии и в газодсорбционной хроматографии.

Режимы программирования. На рис. 9 показаны некоторые из возможных режимов программирования температуры. В первом случае (a) температура

термостата колонок непрерывно повышается от 373 до 493 К со скоростью 6 град/мин (все параметры программы задаются на блоке хроматографа). Во втором случае (б) при анализе необходима температурная остановка для выхода пиков веществ с близкими температурами кипения, далее идет нагрев с другой скоростью и т. д.

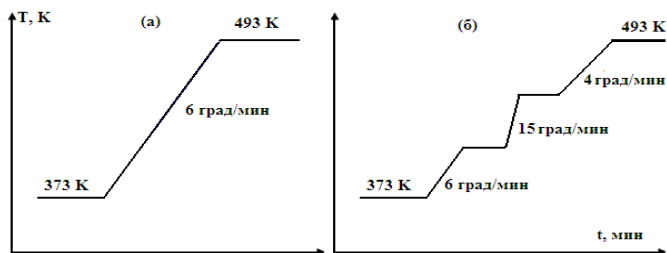


Рис. 9. Различные режимы программирования температуры: *а* — с постоянной скоростью нагрева; *б* — с температурными остановками.

Используя хроматографию с программированием температуры, можно упростить определение следовых количеств *высококипящих* компонентов. Для этого осуществляют многократный ввод анализируемой смеси при низкой температуре колонки: растворитель быстро элюируется и происходит концентрирование высококипящих примесей в начале колонки. После ввода в колонку достаточного количества пробы производят программирование температуры, в результате чего «замороженные» примеси выходят из колонки, давая на хроматограмме острые пики.

1.2.1.5. Хроматографические детекторы

Пройдя хроматографическую колонку, анализируемая смесь разделяется на последовательность бинарных растворов каждого из компонентов смеси в газе-носителе. Хроматографический детектор — это устройство, позволяющее обнаруживать выходящие из колонки компоненты смеси, измеряя какое-либо их физико-химическое свойство. Такими физико-химическими свойствами, зависящими от состава бинарной смеси, являются теплопроводность, плотность, способность к ионизации и т. п.

Кроме того, для успешного проведения количественного хроматографического анализа сигнал детектора должен быть пропорционален концентрации или массовому потоку компонентов в газе-носителе.

Основные требования к детектору:

- детектор должен быть достаточно чувствителен, т. е. он должен фиксировать малые концентрации или количества веществ в газе-носителе;
- должен обладать малой инерционностью (постоянной времени), т. е. малым временем от момента поступления компонента в детектор до появления сигнала детектора Z;
- должен иметь линейную зависимость величины сигнала от концентрации (количества) анализируемого вещества;
- должен иметь слабую зависимость интенсивности сигнала от условий хроматографирования: температуры колонки, давления газа, расхода газа-носителя и т. п. В противном случае воспроизводимость результатов анализа будет очень низкой.

1.2.1.5.1. Классификации детекторов

1. *Интегральные и дифференциальные детекторы.* В настоящее время в хроматографии применяют только дифференциальные детекторы, в них выходящий сигнал пропорционален концентрации или массовому потоку анализируемого вещества в газе-носителе. Так как концентрация в зоне вещества в колонке меняется от нуля до максимума, а потом вновь до нуля, то на хроматограмме каждое вещество выписывается в виде пика (рис. 10). Суммарное количество вещества, элюированного из колонки, пропорционально интегралу сигнала во время элюирования. Поэтому площадь пика пропорциональна концентрации компонента в исходной смеси.

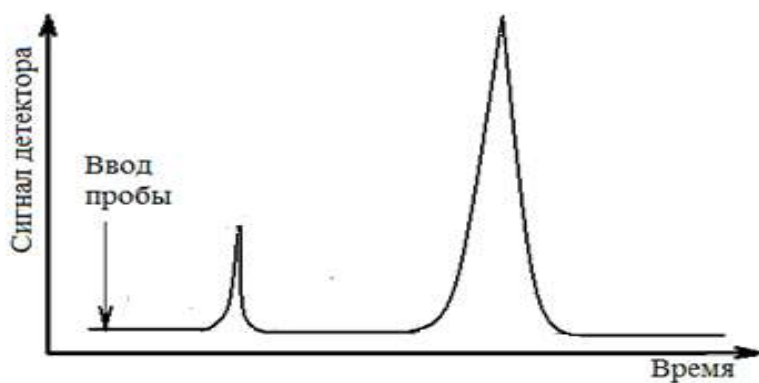


Рис. 10. Вид хроматограммы, получаемой с помощью дифференциального детектора

2. *Деструктивные и недеструктивные детекторы.* В недеструктивном детекторе вещества, выходящие из колонки, не претерпевают изменений. Применение таких детекторов позволяет проводить повторное детектирование компонентов в следующем детекторе. Примером может служить катарометр.

В деструктивных детекторах компоненты смеси претерпевают химические превращения и полностью или частично теряют свою индивидуальность. Это важно учитывать, когда необходимо применение нескольких последовательно расположенных детекторов. В таких случаях деструктивный детектор ставят последним. Примером может служить пламенно-ионизационный детектор (ДИП).

3. *Концентрационные и потоковые детекторы.* Электрический сигнал концентрационных детекторов пропорционален концентрации анализируемого вещества. Электрический сигнал потокового детектора пропорционален массовому потоку вещества.

4. *Детекторы универсальные и селективные.* Универсальные детекторы чувствительны практически ко всем веществам. Примером может служить детектор по теплопроводности (катарометр) или детектор по плотности: всегда можно подобрать такой газ-носитель, чтобы он отличался по теплопроводности или плотности от остальных газов смеси и обеспечивал требуемую чувствительность ко всем компонентам смеси.

Селективные детекторы чувствительны лишь в отношении какого-то одного класса соединений. Например, ДТИ — высокочувствительный и селективный детектор к фосфорорганическим веществам.

1.2.1.5.2. Основные характеристики детекторов

Исходя из цели анализа и условий его проведения, следует выбирать такой детектор, характеристики которого соответствуют им в наибольшей степени. Характеристики детекторов общеприняты для всех систем детектирования. К ним относятся:

- чувствительность;
- уровень шума;
- скорость дрейфа нулевой линии;
- минимально детектируемая концентрация (предел обнаружения);
- фоновый сигнал;
- диапазон линейности детектора;

- эффективный объем и время отклика (быстродействие);
- селективность.

1. *Чувствительность детектора* характеризует интенсивность взаимодействия анализируемого вещества с детектором, она определяет величину сигнала детектора на ту или иную концентрацию или массовый поток вещества в газе-носителе.

Применение микронасадочных и капиллярных колонок требует использования высокочувствительных детекторов (например, ДИП), а при работе с насадочными колонками — детекторов средней чувствительности (ДТП, детектора по плотности).

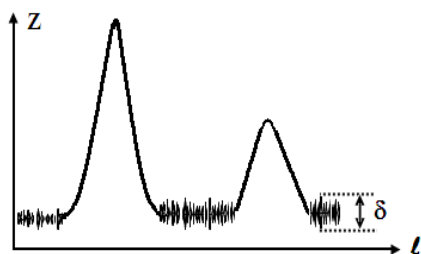


Рис. 11. Иллюстрация понятий «уровень шума» и «пик» на хроматограмме

Сигнал детектора хроматографа, работающего в отсутствие анализируемых веществ, называют *фоновым*. Графическим отражением фонового сигнала является *нулевая линия* на хроматограмме. Быстрое и хаотическое изменение фонового сигнала (нулевой линии) называют *шумом*.

2. *Уровень шумов (δ)* — высокочастотные флуктуации сигнала нулевой линии детектора (рис. 11). Помимо детектора определенный вклад в величину δ вносят измерительная система хроматографа (электроника) и «газящая» жидкость неподвижной фазы колонки.

Медленное одностороннее изменение фонового сигнала называют *дрейфом*.

3. *Порог чувствительности (предел детектирования)* — минимальная концентрация или массовый поток компонента, которые могут еще фиксироваться детектором. Порог чувствительности зависит от уровня шумов и чувствительности детектора. Высота сигнала, равная или большая 2δ , считается пиком вещества (см. рис. 11).

4. *Линейный диапазон детектора* определяется разностью максимальной и минимальной концентраций вещества ($C_{\max} - C_{\min}$), между которыми сохраняется линейная зависимость сигнала детектора от C (рис. 12). В пределах диапазона линейности чувствительность детектора не зависит от концентрации и равна угловому коэффициенту прямой. Однако с превышением C_{\max} детектор теряет линейность, а его чувствительность становится зависимой от концентрации вещества, т. е. площадь пика изменяется непропорционально увеличению количества вещества в смеси. Поэтому количественный анализ в условиях нелинейной работы детектора требует тщательной калибровки в области рабочих концентраций.

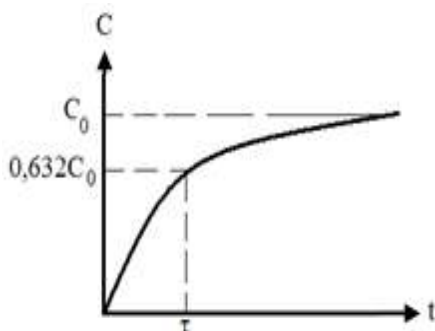


Рис. 12. Иллюстрация понятий «линейный диапазон детектора» и «постоянная времени детектора» τ

Величина диапазонов линейности различна у разных детекторов и зависит, помимо всего прочего, от природы анализируемого вещества. Поэтому важно в каждом конкретном случае соотносить рабочую концентрацию с C_{\max} .

5. *Постоянная времени (инерционность детектора)* τ — время, в течение которого после попадания в детектор определенной концентрации вещества детектор зафиксирует $((1 - 1/e) = 0,632)$ долю полного сигнала, это мера инерционности детектора. Величина τ зависит от объема ячейки V детектора и расхода газа-носителя ω , т. е. от так называемого времени пребывания $t_{np} = V/\omega$: чем больше t_{np} , тем медленнее нарастает сигнал во времени и тем инерционнее детектор.

Увеличение τ уширяет пики, искажает их форму, поэтому следует добиваться минимальной инерционности детектора. В случае использования ДТП (катарометра), например, следует применять проточную ячейку (см. разд. 1.2.1.5.3).

7. *Селективность* — способность детектора избирательно регистрировать соединения определенной группы веществ. Селективные детекторы имеют повышенную чувствительность — интенсивность сигнала (как правило, не меньше, чем на порядок) к некоторым классам или группам соединений. Например, детектор электронного захвата (ДЭЗ) избирательно регистрирует галоген- и азот-содержащие соединения, пламенно-фотометрический детектор (ПФД) — фосфор- и серосодержащие вещества.

Различие чувствительности детектора к веществам оценивается с помощью *коэффициента относительной чувствительности*:

$$K_{\text{отн}} = \frac{A_x}{A_{\text{см}}}, \quad (1.2)$$

где A_x — чувствительность детектора к анализируемому веществу; $A_{\text{см}}$ — чувствительность детектора к веществу, в качестве стандарта.

В случае универсальных детекторов $K_{\text{отн}}$ для самых различных веществ близки друг к другу. Например, универсальным детектором для анализа многих веществ является катарометр при использовании в качестве газа-носителя гелия.

1.2.1.5.3. Основные детекторы, применяемые в газовой хроматографии

Чаще всего в практикуме по физической химии применяют в качестве детектора катарометры и пламенно-ионизационные детекторы. Рассмотрим принцип их работы.

1. *Детектор по теплопроводности* (ДТП), или *катарометр*, является дифференциальным универсальным и неdestructивным детектором. Это наиболее распространенный детектор, он отличается надежностью в работе и простотой конструкции.

В основу работы ДТП положен процесс передачи тепла от нагретого чувствительного элемента (обычно металлической спирали) к более холодному корпусу детектора за счет теплопроводности потока газа-носителя. Через элемент пропускают электрический ток, который нагревает его до определенной температуры. Сопротивление металла, как известно, зависит от температуры — с повышением температуры оно увеличивается. В свою очередь, температура элемента (спирали) зависит от теплопроводности газа, поступающего в катарометр из хроматографической колонки. В качестве элюента обычно выбирают газ, обладающий большей теплопроводностью, чем теплопроводность анализируемых веществ. Поток газа-носителя эффективно отводит тепло, и температура спиралей

поддерживается достаточно низкой. При попадании в детектор анализируемого вещества уменьшается теплопроводность газового потока и количество тепла, отводимого от чувствительного элемента. Это, в свою очередь, приводит к увеличению его температуры, а следовательно, и электрического сопротивления. В измерительной схеме ДТП возникает сигнал в виде разности потенциалов, величина которой пропорциональна концентрации анализируемого вещества в газе-носителе. Чувствительность детектора при этом пропорциональна разности теплопроводностей газа-носителя и анализируемого вещества.

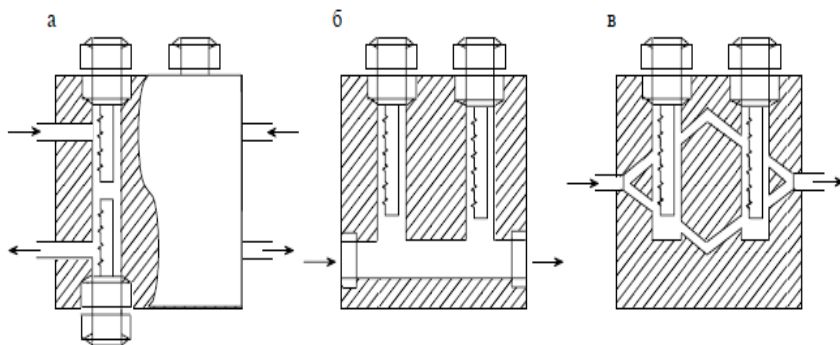


Рис. 13. Типы ячеек детектора по теплопроводности: *а* — проточные; *б* — диффузионные; *в* — полудиффузионные (стрелками показано направление потока газа-носителя).

В корпусе катарометра имеется два канала (линии), в один из которых подается газ-носитель из рабочей колонки, а в другой — из колонки сравнения (рис. 13). Оба канала равноценны, и в каждый из них может подаваться газ как из рабочей, так и из колонки сравнения. В каналы помещены чувствительные элементы (феломенты), и в катарометре производится сравнение теплопроводностей «чистого» газа-носителя и газа-носителя, содержащего разделенные в рабочей колонке анализируемые вещества.

Чувствительными элементами могут служить платиновые, вольфрамовые или никелевые спирали диаметром около 5 мкм, а также полупроводниковые сопротивления — *термисторы*.

Термисторы обладают некоторыми преимуществами перед металлическими спиралями: они меньше по размерам, обладают значительно большим сопротивлением и температурным коэффициентом сопротивления. При этом сила тока, проходящего через термистор, составляет всего 15–25 мА. Однако инерционность термистора существенно выше инерционности металлической спирали.

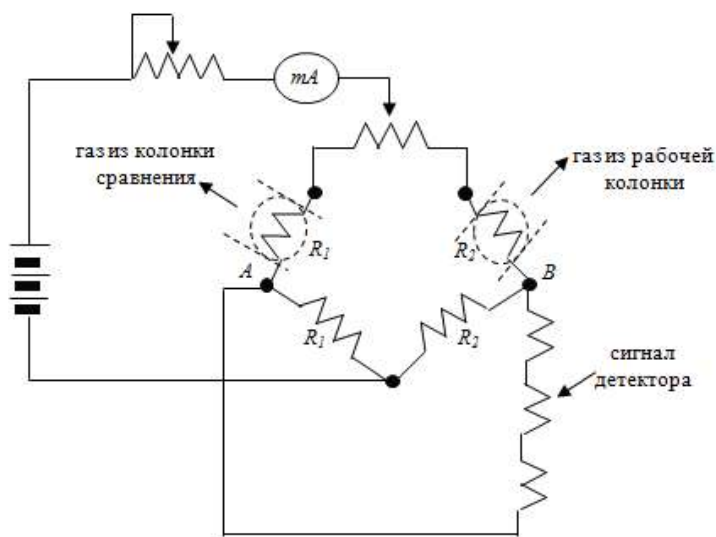


Рис. 14. Электронная схема двухплечевого катарометра

Чувствительность термистора заметно снижается с повышением температуры, поэтому рекомендуется при температурах выше 100–150°C использовать катарометры с металлическими спиралями или со специальными высокотемпературными термисторами.

Чувствительные элементы катарометра включают плечи моста Уитстона (рис. 14) и через них пропускают постоянный электрический ток, разогревающий их до определенной температуры. Когда температура и, следовательно, сопротивление чувствительных элементов R_1 и R_2 одинаковы, мост сбалансирован и на хроматограмме пишется нулевая линия. При попадании в измерительную ячейку анализируемого компонента из рабочей колонки сопротивление чувствительного элемента R_2 изменяется, а сопротивление элемента R_1 остается прежним. Возникает дисбаланс моста, и между точками A и B появляется разность потенциалов, которая преобразуется в сигнал, записываемый в итоге на хроматограмме в виде пика.

Чувствительность катарометра S принято выражать уравнением:

$$S = K \cdot I^2 \cdot R \frac{\lambda_c - \lambda_s}{\lambda_c} (T_f - T_B), \quad (1.3)$$

где K — константа ячейки; I — сила тока, нагревающего спираль; R — сопротивление спирали; λ_c — теплопроводность газа-носителя; λ_s — теплопроводность анализируемого газа; T_f — температура спирали; T_B — температура газа.

Таблица 1.4

Теплопроводность газов и анализируемых веществ при 100°C

Вещества	Теплопроводность	
	$\lambda \cdot 10^3$, Вт/м·К	% от теплопроводности гелия
Газ-носитель:		
Гелий	174,2	100
Водород	221	128
Азот	31,4	18,0
Аргон	21,8	12,5
Анализируемые вещества:		
Этанол	22,2	12,7
Гексан	21,0	12,0
Бензол	17,2	9,9
Ацетон	16,7	9,6
Сероводород	15,5	9,0
H ₂ O(пар)	24,4	14,0
Метан	46,5	26,7
Аммиак	31,4	18

Из уравнения следует, что при использовании газа-носителя с высокой теплопроводностью (табл. 1.4), например водорода или гелия, можно работать при повышенном токе накала элементов, что сильно увеличивает чувствительность детектора (водород из-за его взрывоопасности в качестве газа-носителя обычно не применяют, чаще используют гелий). Действительно, сила тока входит в уравнение в квадрате, да еще при ее увеличении растет R и разность $(T_f - T_B)$, что также повышает S . Считается, что двукратное увеличение тока детектора увеличивает его чувствительность в 8–10 раз. Однако слишком большой ток накала может вызвать перегорание спирали чувствительного элемента. Предельная величина тока детектора, которую нельзя превышать, определяется природой газа-носителя и температурой детектора (табл. 1.5).

При работе с азотом, теплопроводность которого близка к теплопроводности большинства органических соединений, величина сигнала детектора при по-

ступлении в него анализируемого компонента существенно меньше. Поэтому калибровка детектора в широких диапазонах концентрации, температуры и т. п. сопряжена с некоторыми трудностями. Иногда при изменении условий хроматографирования, особенно в случае анализа углеводородов, может наблюдаться даже *инверсия пиков* (они становятся направленными вниз от нулевой линии).

В современных хроматографах, работа которых контролируется компьютером, оптимальный ток накала спиралей устанавливается автоматически по заданной программе.

Таблица 1.5

Максимально допустимый ток детектора (мА) в зависимости от условий его работы

Газ-носитель	Температура ДТП, °С			
	50	150	300	400
Гелий	350	250	120	100
Азот	200	150	90	80

Поскольку теплопроводности анализируемых веществ различны, величины сигнала от различных компонентов неодинаковы. В связи с этим при проведении количественного анализа необходимо вводить поправочные коэффициенты к площадям пиков (см. разд. 1.4.2).

Разумеется, при использовании азота эти коэффициенты будут заметнее отличаться друг от друга, чем при использовании легких газов (H_2 , He). В зависимости от соотношения теплопроводностей газа-носителя и определяемого вещества пик последнего может лежать по ту или другую сторону от нулевой линии. Так, при работе с гелием инверсионные пики дает только водород, теплопроводность которого больше теплопроводности гелия, при работе с азотом таких веществ существенно больше: водород, гелий, метан и т. д.

Ячейки катарометра бывают проточными, полудиффузионными или диффузионными (см. рис. 13). В проточной ячейке (рис. 13а) весь газовый поток проходит через чувствительные элементы, в диффузионном (рис. 13б) поток проходит мимо, а газовая смесь диффундирует к чувствительному элементу через специальный канал. Конструкция полудиффузионной ячейки (рис. 13в) является промежуточной между проточной и диффузионной.

Каждый из соответствующих катарометров имеет свои преимущества и недостатки. Так, катарометр с проточной ячейкой характеризуется большей чувствительностью и меньшей инерционностью, чем катарометр с диффузионной ячейкой, зато последний практически не чувствителен к колебаниям расхода газа-носителя.

Следует помнить, что катарометры непригодны для работы с капиллярными и микронасадочными колонками. Причина этого не в относительно низкой их чувствительности, а в недопустимо высокой инерционности.

2. *Пламенно-ионизационный детектор (ДИП).* Как известно, газы при обычных условиях — изоляторы, т. е. они не проводят электрический ток. Под воздействием пламени или радиоактивного излучения в них могут образовываться ионы и свободные электроны, и газы становятся проводниками электрического тока. На этом основана работа пламенно-ионизационного детектора.

Детектор представляет собой камеру, в которой горит водородное пламя, являющееся источником ионов. Газ-носитель в смеси с водородом подается в форсунку горелки, где в пламени происходит образование ионов. Одновременно горелка выполняет функцию одного из электродов, а пластинка из нержавеющей стали, свернутая в цилиндр и укрепленная над пламенем, образует второй собирающий электрод — коллектор (рис. 15).

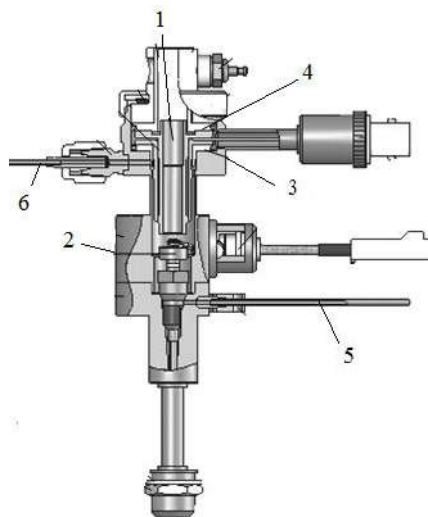
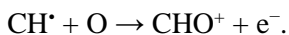


Рис. 15. Схема пламенно-ионизационного детектора: 1 — электрод-коллектор; 2 — горелка; 3, 4 — изоляторы; 5 — подвод водорода; 6 — подвод воздуха.

Воздух подается в детектор через другой канал и распределяется в камере детектора диффузором. Горелка (один из электродов) изолирована от корпуса детектора и соединена с источником стабилизированного напряжения. Во внешнюю цепь детектора включен электрометр, измеряющий ток, который протекает между электродами.

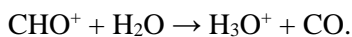
Поскольку в пламени *чистого водорода* число ионов незначительно, сопротивление межэлектродного газового пространства велико и ток в цепи очень мал. Этот ток, возникающий за счет ионизации примесей, содержащихся в газе-носителе, водороде и воздухе, является постоянным фоновым током детектора. При попадании в пламя анализируемого вещества из колонки число ионов резко увеличивается, сопротивление пламени падает и во внешней цепи детектора регистрируется соответствующее возрастание ионного тока. Это изменение ионного тока регистрируется как сигнал детектора.

Механизм возникновения ионного тока следующий. В нижней части зоны пламени (у среза горелки) происходит термическая деструкция молекул анализируемого вещества с образованием радикалов, которые далее взаимодействуют с кислородом воздуха:



При этом энергия реакции окисления не дессипируется в окружающей среде, нагревая ее, а идет только на хемиионизацию.

Основными носителями положительных зарядов в пламени являются ионы гидроксония, образующиеся в реакции:



Именно ионы гидроксония обуславливают электрическую проводимость пламени. Однако примеси паров воды в газах снижают чувствительность ДИП к органическим веществам. Этот эффект обусловлен уменьшением температуры пламени вследствие увеличения теплоемкости газовой системы за счет высокой теплоемкости паров воды. Кроме того, при избытке воды в пламени образуются малоподвижные гидратированные ионы гидроксония $\text{H}_3\text{O}^+ \cdot \text{H}_2\text{O}$ и $\text{H}_3\text{O}^+ \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, которые не всегда достигают коллекторного электрода.

Чувствительность детектора в значительной степени зависит от соотношения расходов подаваемых в горелку водорода и воздуха, а также от расстояния между электродами. Оптимальные значения объемной скорости газов зависят от конструктивных особенностей горелки и обычно подбираются эмпирически. Обычно расход воздуха в 10 раз превышает расход водорода.

Важной характеристикой ДИП, а также других ионизационных детекторов является *эффективность ионизации*, т. е. отношение суммарного заряда ионов, получаемых при сжигании 1 моль компонента, к тому заряду, который образовался бы при полной ионизации. Для ДИП эффективность ионизации невелика и обычно составляет $\sim 10^{-5}$, рабочий ток при этом 10^{-7} – 10^{-8} А. Но так как фоновый ток крайне мал и обычно равен 10^{-11} – 10^{-12} А, а флуктуации его ничтожны, то чувствительность ДИП одна из самых высоких среди детекторов. При этом его линейный диапазон велик и достигает $\sim 10^6$. ДИП относится к потоковым детекторам, его сигнал пропорционален массовому потоку анализируемых веществ.

Высокая чувствительность ДИП накладывает дополнительные требования, которые необходимо соблюдать при хроматографировании. Так, применение достаточно летучих жидкостей в качестве неподвижной фазы резко увеличивает фоновый ток. В связи с этим выбор фазы при работе с ДИП более ограничен, чем при работе, например, с катарометром.

Далее при работе с пламенно-ионизационным детектором необходимо особенно тщательно очищать используемые газы от примесей, которые также могут вызывать усиление фонового тока. В ряде случаев для компенсации фона используют детектор с двумя горелками. Для анализа галогенсодержащих и некоторых других соединений используют ДИП специальной конструкции.

Достоинства ДИП способствуют его широкому применению при работе как с насадочными, так и с капиллярными колонками.

1.2.1.5.4. Система обработки сигнала детектора

В настоящее время практически все хроматографы комплектуются компьютером, управляющим их работой. Измеряемый сигнал выводится на экран монитора. Обработка хроматограмм производится по поставляемой вместе с хроматографом программе.

В старых хроматографах, которые еще встречаются в лабораторном практикуме, сигналы детекторов усиливаются и записываются с помощью стандартных автоматических компенсационных потенциометров общего назначения со шкалой 1–10 мВ, например «КСП-4». Для измерения и регистрации сигнала используют также электронные интеграторы и микропроцессорные системы обработки хроматографической информации.

1.2.1.6. Неподвижная фаза

Неподвижную фазу помещают в хроматографические колонки (насадочные или капиллярные). Это может быть либо адсорбент (газоадсорбционная хроматография), либо инертный носитель, покрытый пленкой нелетучей жидкости (газожидкостная хроматография).

1.2.1.6.1. Неподвижная жидкая фаза (НЖФ)

1.2.1.6.1.1. Выбор НЖФ

Описано более тысячи различных видов стационарных жидких фаз. В аналитической же практике используются в основном 10–15 типов НЖФ. Каких-либо универсальных рецептов выбора оптимальной неподвижной жидкой фазы для решения конкретной задачи разделения смеси не существует. Однако, руководствуясь определенными требованиями, предъявляемыми к НЖФ, в большинстве случаев удастся осуществить правильный ее выбор. К числу таких требований относятся:

- НЖФ должна быть хорошим растворителем для всех компонентов смеси, в противном случае анализируемые вещества будут быстро выходить из колонки без разделения;
- растворимость анализируемых веществ в НЖФ должна достаточно сильно различаться, это достигается применением веществ различной полярности, способных образовывать водородные связи, и т. п.;
- жидкая фаза должна быть нелетучей (малолетучей) и не разлагаться при рабочей температуре колонки;
- должно отсутствовать химическое взаимодействие между анализируемыми веществами и жидкой фазой, а также между твердым носителем и газом-носителем.

При выборе НЖФ обычно пользуются известным правилом: «подобное растворяется в подобном». Чем полярнее неподвижная жидкая фаза, тем больше удерживание в ней полярного растворенного вещества по сравнению с неполярным, имеющим близкую температуру кипения. В свою очередь, полярность фазы определяется полярностью входящих в ее молекулы функциональных групп. Основываясь на этих соображениях, для анализа смеси двух веществ выбирают неподвижную фазу, подобную по физико-химическим свойствам одному из компонентов смеси. Так, если необходимо разделить смесь соединений различных классов, но имеющих близкие температуры кипения, например спирта и предельного углеводорода, то следует в качестве НЖФ выбрать либо вещество, содержащее полярные

группы (-ОН, -COOC-), либо углеводород. В первой НЖФ лучше растворяется спирт, и следовательно, он будет выходить из колонки последним. В случае второй НЖФ картина будет обратной.

Для облегчения выбора НЖФ анализируемые вещества разделены на пять классов. К классу I относятся соединения, молекулы которых образуют трехмерную сетку из водородных связей (вода, гликоль, глицерин и т. д., аминокспирты, оксикислоты, полифенолы, двухосновные кислоты). Молекулы веществ II класса обладают активными водородными атомами и сильно электроноакцепторными атомами (спирты, жирные кислоты, фенолы, первичные и вторичные амины, оксимы, нитросоединения и нитрилы с атомами водорода в α -положении, NH_3 , HF , N_2H_4 , HCN). К III классу отнесены вещества, молекулы которых имеют только электроноакцепторные атомы (простые эфиры, кетоны, альдегиды, сложные эфиры, третичные амины, нитросоединения и нитрилы, не содержащие атома водорода в α -положении). В IV классе молекулы веществ содержат активные водородные атомы (CHCl_3 , CH_2Cl_2 , CH_3CHCl_2 , $\text{CH}_2\text{ClCH}_2\text{Cl}$, $\text{CH}_2\text{ClCHCl}_2$ и т. д., ароматические углеводороды, непредельные углеводороды). Наконец, к V классу отнесены вещества, молекулы которых не содержат функциональных групп (насыщенные углеводороды CS_2 , меркаптаны, сульфиды, галогеноуглероды, не отнесенные к классу IV, такие как CCl_4).

Вещества неподвижной жидкой фазы также разделены на пять классов. Ниже приведены некоторые обычно применяемые жидкие фазы, они расположены в соответствии с обсуждаемой классификацией анализируемых веществ.

Класс А (I): FFAP, 20М-ТРА, карбовакс, юкон, версамид 900, халькомид, квадрол, Theed, манит, диглицерин, касторвакс.

Класс В (II): зонил Е-7, этофат, β, β' -оксидипропионитрил, ХЕ-60, XF-1150, амин 220, эпон 1001, цианэтилсахароза.

Класс С (III): все полиэфиры, дибутилтетрахлорфталат, Saib, трикрезилфосфат, Star, бензилцианид, лексан, пропиленкарбонат, QF-1, диметилсульфолан.

Класс D (IV и V): SE-30, SF-96, DC-220, DOW-11, сквалан, гексадекан, апиезоны.

Анализируемое вещество удерживается сильнее всего неподвижной жидкой фазой одинакового класса. Как правило, это отвечает большей растворимости вещества в жидкой фазе и лучшему разделению от веществ других классов.

В табл. 1.6 приведены некоторые НЖФ, чаще всего рекомендуемые для анализа смеси веществ. Обычно даются их торговые названия, так как состав некоторых фаз является коммерческим секретом фирм-производителей.

Таблица 1.6

Неподвижные жидкие фазы, рекомендуемые для анализа

Вещества	НЖФ
Кислоты C ₁ -C ₁₈ (свободные), желчные и мочева кислота, метиловые эфиры жирных кислот	апиэзон L, FFAP, SE-30
Спирты C ₁ -C ₅ , C ₁ -C ₁₈ , диолы — полиолы	халькомид, карбовакс 600, FFAP
Углеводороды: алифатические, ароматические	пропиленкарбонат, карбовакс (Carbowax) 400, трибутилфосфат, дидецилфталат, SE-30
Пестициды	Dow 11, QF-1 (FS-1265), SE-30, OV-1
Фосфорсодержащие соединения	SE-30, Stap
Стероиды	Stap, XE-60, QF-1 (FS-1265), SE-30, OV-1, OV-17
Серосодержащие соединения	карбовакс (Carbowax) 20M, Fear, динонолфталат

Правило подобия является качественным, поэтому его предсказания при выборе НЖФ для разделения сложных смесей часто не оправдываются, особенно для разделения смесей изомеров.

При выборе веществ, используемых в качестве НЖФ, следует учитывать также *интенсивность межмолекулярных сил* — сил Ван-дер-Ваальса взаимодействия анализируемых веществ и фазы. Эти силы подразделяются на ориентационные, индукционные, дисперсионные и специфические. Последние наиболее важны в выборе НЖФ для разделения смеси очень близких по структуре веществ, например пространственных изомеров. К специфическим взаимодействиям относят: водородные связи, донорно-акцепторное взаимодействие, комплексообразование и т. п. Например, нитрат серебра, растворенный в этиленгликоле, глицерине или в бензилцианиде, способен образовывать с олефинами комплексы, благодаря чему олефины, задерживаясь в колонке, хорошо разделяются с веществами других классов.

Другим примером использования специфических взаимодействий для разделения близких по природе веществ может служить применение в качестве НЖФ бентона-34, который представляет собой продукт замещения катионов природной глины ионами диметилдиокта-дециламмония. Бентон смешивают с эфиром фталевой кислоты или же с силиконовым маслом и наносят на инертный твердый носитель. На бентоне-34 удается разделить смеси изомеров ксилола, диэтилбензола, этилтолуола и дихлорбензола. Считается, что природа селективного действия бентона-34 связана с его слоистой структурой. Разделение указанных изомеров обусловлено стерическими факторами: различной геометрической формой их молекул.

Специфически действующими веществами могут быть также так называемые жидкие кристаллы, которые проявляют большее сродство к линейным молекулам. Они удерживают, например, *n*-замещенные бензолы сильнее, чем другие изомеры.

При выборе веществ для НЖФ следует учитывать и их *полярность*. Для количественного выражения полярности жидкой фазы разработано несколько шкал. Наибольшее распространение получила *шкала относительной полярности Роринайдера*, в которой полярность сквалана (неполярной фазы) принята за 0, а β , β' -оксидипропионитрила (полярной фазы) — за 100. Относительная полярность других фаз выражается через *индекс полярности* — это число, заключенное между 0 и 100. Некоторые характеристики наиболее распространенных НЖФ приведены в табл. 1.7.

Таблица 1.7

Полярность некоторых распространенных неподвижных жидких фаз

Полярность, %	Название	Максимальная рабочая T , °C	Применяются для разделения веществ:
Неполярные, 0–0	Сквалан (C30)	120	ароматических соединений, неполярных алифатических, смеси полярных и неполярных соединений
	Апиезон (C62)	300	
	Аполан (C87)	260	
Малополярные, 20–40	Фталаты	100–180	слабополярных кислородсодержащих и ароматических соединений
	Полипропиленгликоли	100–200	
	ПФМС-4	280	
	ХЕ-61	300	
	DC-550 (США)	225	
	OV-17 (США)	300	

Продолжение табл. 1.7

Полярность, %	Название	Максимальная рабочая T , °C	Применяются для разделения веществ:
Среднеполярные, 40–60	Кремнийорганические жидкости с привитыми CN-группами НСКТ, ХЕ-1150, ОУ-225 (США)	До 250	углеводородов с несколькими ароматическими кольцами
Полярные, 60–80	Полиэтиленгликоли ПЭГ-20М, карбовакс-20М, полиэтиленгликольадипинат, (ПЭГА), реоплекс-400	200	кислородсодержащих соединений
Сильнополярные, 80–100	1,2,3-Трис-(β -цианэтокси)пропан Гексацианэтиловый эфир маннита (6С)	180 200	сильнополярных соединений

Существует множество неподвижных жидких фаз с близкими свойствами, поэтому подавляющее большинство задач разделения можно решить, используя всего лишь десяток жидких фаз и их различные комбинации (смешанные сорбенты).

Известно несколько способов смешения сорбентов.

1. Колонки, заполненные носителями с индивидуальными жидкими фазами, соединяют последовательно. В этом случае получают *составную колонку*.

2. Индивидуальные жидкости наносят отдельно на твердые носители, затем равномерно их перемешивают и загружают в одну колонку. Такую колонку называют *колонкой со смешанным сорбентом*.

3. На твердый носитель наносят смесь двух или нескольких неподвижных фаз и загружают в колонку. В этом случае получают *колонку со смешанной фазой*.

1.2.1.6.1.2. Температурные ограничения применения НЖФ

Верхний предел рабочей температуры колонки диктуется давлением пара неподвижной жидкости и ее термической устойчивостью. Потери неподвижной фазы в процессе работы, ее изменение вследствие термического разложения, а также высокое давление ее насыщенного пара снижают эффективность работы колонки и создают трудности в проведении детектирования веществ. Поэтому в

качестве неподвижных жидких фаз могут применяться лишь жидкости, упругость пара которых при рабочей температуре колонки достаточно низка. Считается, что температура кипения неподвижной фазы должна быть по крайней мере на 100°C выше рабочей температуры колонки, а давление насыщенного пара неподвижной фазы при рабочей температуре не должно превышать 1 мм рт. ст. В случае чувствительных детекторов (например, ДИП) требования к давлению насыщенного пара неподвижной фазы еще более жесткие.

При использовании в качестве неподвижных фаз полимеров термическая устойчивость играет большую роль, чем упругость пара, так как последняя и при достаточно высоких температурах ничтожно мала, тогда как термическая деградация может иметь место.

Наиболее распространенные неподвижные жидкие фазы (см. табл. 1.6), такие как сквалан, фталаты и т. п., имеют относительно низкую рабочую температуру 100–160°C. Однако применяются неподвижные фазы со значительно более высокими рабочими температурами, например дексил-300GC (поликарборанметилсилоксан) способен работать при ~500°C.

Нижний температурный предел НЖФ связан с ее вязкостью. При хроматографировании анализируемые вещества растворяются в НЖФ, т. е. абсорбируются и диффундируют вглубь нее. Так как коэффициент диффузии веществ обратно пропорционален вязкости жидкости, а скорость диффузии определяет эффективность работы, то очевидно, что неподвижные фазы при рабочей температуре колонки должны обладать достаточно низкой вязкостью.

1.2.1.6.1.3. Количество неподвижной жидкой фазы

Количество НЖФ, необходимое для покрытия твердого носителя, зависит от многих факторов. Во-первых, оно не должно быть настолько велико, чтобы сорбент становился клейким и частицы его слипались. Это значительно снижает эффективность колонки. С другой стороны, нанесенная неподвижная фаза должна полностью покрывать поверхность сорбента, чтобы исключить вредное влияние остаточной его химической и адсорбционной активности.

Максимальная способность твердого носителя к поглощению жидкости зависит от величины и структуры его поверхности, а также от способа нанесения жидкости. Чем сильнее развита поверхность носителя, тем больше НЖФ можно на нее нанести.

От количества неподвижной фазы зависит также и величина подаваемой в испаритель пробы анализируемых веществ. Если количество НЖФ мало, то и объем пробы также должен быть небольшим, это обстоятельство вызывает необходимость применения высоко-чувствительных детекторов.

И, наконец, с увеличением количества неподвижной фазы существенно возрастает продолжительность анализа.

Таким образом, количество неподвижной фазы, наносимой на твердый носитель, зависит от задач хроматографического анализа, от активности применяемых твердых носителей, а также от некоторых других факторов. Поэтому обычно оно определяется эмпирически при решении конкретной проблемы. В большинстве случаев количество неподвижной фазы составляет 5–30% от массы твердого носителя.

При нанесении неподвижной жидкой фазы менее чем 5% от массы даже инертного носителя (например, хроматона-N) удерживание как полярных, так и неполярных соединений в колонке существенно возрастает. Это связано с усилением адсорбции анализируемых веществ на поверхности непокрытого твердого носителя. Из-за нелинейности изотерм адсорбции получающиеся хроматографические пики имеют «хвосты», что несколько осложняет проведение количественного анализа.

При использовании капиллярных колонок уменьшение количества НЖФ приводит к снижению *емкости колонок по пробе*, которая определяет возможность анализа проб, содержащих высокие концентрации компонентов. При превышении емкости колонки, при *перезгрузке* наблюдается ухудшение ее хроматографических характеристик, что выражается в появлении на хроматограмме широких асимметричных пиков с размытым фронтом.

Можно утверждать, что «чистая» газожидкостная хроматография, при которой удерживание вещества в колонке определялось бы только свойствами НЖФ и анализируемых веществ, на практике не реализуется. В действительности система в колонке полифазная, в которой одновременно имеют место взаимодействия на поверхностях раздела: газ — НЖФ, газ — твердый носитель, НЖФ — твердый носитель. Таким образом, удержание вещества в колонке обуславливается всеми указанными взаимодействиями.

1.2.1.6.1.4. Методы нанесения неподвижной жидкой фазы

Метод испарения растворителя («испарения из чашечки»). В коническую колбу помещают необходимую навеску НЖФ, рассчитывая ее в зависимости от

массы требуемого твердого носителя. Фазу растворяют в низкокипящем растворителе и полученным раствором заливают навеску твердого носителя. Объем растворителя должен быть таким, чтобы полученный раствор полностью смачивал носитель. Перемешивая полученную таким образом суспензию, испаряют растворитель вначале на водяной бане, а затем, когда насадка станет сыпучей и исчезнет запах растворителя, ее досушивают при температуре 70–100°C в сушильном шкафу (3–4 ч). После этого полученный сорбент охлаждают и набивают им колонку.

Фильтрационный метод. Твердый носитель смешивают с раствором НЖФ, при этом устанавливается равновесное распределение НЖФ между раствором жидкой фазы и поверхностью твердого носителя. Затем суспензию переносят на фильтр, растворитель отсасывают, а мокрый сорбент сушат сначала на воздухе, а затем — в сушильном шкафу.

Фильтрационный метод целесообразно применять при приготовлении сорбентов с низким содержанием НЖФ (от 1 до 3%). Количество НЖФ, оставшейся на твердом носителе, зависит от концентрации ее в растворе и от константы распределения молекул НЖФ на границе раздела раствора НЖФ и твердого носителя.

Фронтальный метод. Раствор НЖФ в подходящем растворителе медленно пропускают через хроматографическую колонку, заполненную твердым носителем, до установления равновесия между твердой фазой и подаваемым раствором (следует пропустить объем раствора в 2–3 раза больший, чем объем твердого носителя). Сорбированный растворитель удаляют нагреванием колонки под вакуумом в токе инертного газа.

Обычно этот метод применяют при нанесении НЖФ на носители с непористой внешней поверхностью (стеклянные, металлические и фторопластовые шарики). Недостатком метода является получающееся неравномерное распределение НЖФ вдоль колонки.

Метод нанесения НЖФ в вакууме. Твердый носитель и раствор неподвижной жидкой фазы смешивают в круглодонной колбе, подсоединенной к вакуумному насосу. Испарение растворителя производят в вакууме при комнатной температуре. Далее сорбент выгружают, досушивают в сушильном шкафу и хранят в эксикаторе.

Нанесение НЖФ на пористые полимеры. Нанесение НЖФ на пористые полимерные твердые носители производят одним из приведенных выше способов, однако количество НЖФ, которое можно наносить, не должно превышать 10 масс. %.

Полученную одним из приведенных выше методов неподвижную фазу набивают в хроматографическую колонку длиной 1 или 3 м. Для этого рассчитывают внутренний объем колонки $V = S \cdot L (\text{см}^3)$, где L — длина колонки (см), $S = \pi \cdot r^2$ — площадь поперечного сечения колонки (см^2). Отмеряют $\sim 1,2 \cdot V$ фазы и взвешивают ее.

Колонку длиной 1 м выпрямляют, один из ее концов затыкают кусочком стекловаты (или свернутой в трубочку медной сеткой), а на другой конец надевают воронку (она, как правило, входит в комплект хроматографа). Осторожно засыпают в воронку первую порцию фазы, постукивая по стенкам колонки (если колонка стеклянная, то деревянной палочкой), добиваются высыпания фазы из воронки в колонку. Далее насыпают в воронку новую порцию фазы и т. д. Заполнение ведут до тех пор, пока уровень фазы в воронке не перестанет понижаться.

Далее снимают воронку и затыкают конец колонки кусочком стекловаты (или свернутой в трубочку медной сеткой). Взвешивают оставшуюся не засыпанной в колонку фазу и по разности определяют массу фазы в колонке. Массу фазы в колонке можно определить также, взвешивая пустую колонку и набитую фазой.

Для набивки длинной колонки (3 м) следует использовать вакуум-насос (форвакуумный или водоструйный), который присоединяют к концу колонки, заткнутому стекловатой.

Заполненную колонку устанавливают в термостат колонок и *кондиционируют*. Цель кондиционирования — удаление имеющихся в фазе примесей, летучих материалов. Примеси вызывают смещение нулевой линии в детекторе и дают шумовой фон на его выходе.

При этом второй конец колонки не подсоединяют к детектору, а на входной его штуцер устанавливают заглушку и от детектора отключают все питающие газы. Продувают колонку в течение 2–3 часов газом-носителем с расходом 15–20 $\text{см}^3/\text{мин}$, сбрасывая газ, выходящий из колонки, в атмосферу. Температуру в термостате колонок задают при этом на 20% выше предполагаемой рабочей температуры.

1.2.1.6.2. Твердый носитель

Твердый носитель в насадочных колонках газо-жидкостной хроматографии служит для закрепления на его поверхности определенного количества неподвижной жидкой фазы. Твердый носитель должен отвечать следующим требованиям:

- иметь достаточную удельную поверхность для удержания требуемого количества НЖФ;
- иметь оптимальное для данной конкретной задачи распределение пор по радиусам;
- быть химически инертным к НЖФ, химически и адсорбционно инертным к разделяемым веществам;
- иметь близкие по форме и по размерам частицы;
- хорошо смачиваться неподвижной фазой;
- иметь высокую механическую прочность.

Идеальных твердых носителей не существует, однако в распоряжении экспериментатора в настоящее время имеется достаточный набор носителей, в той или иной степени удовлетворяющих перечисленным требованиям.

1.2.1.6.2.1. Поверхность носителя

Наносимая на твердый носитель пленка неподвижной жидкой фазы должна обладать достаточной удельной поверхностью и быть по возможности равномерно распределена по поверхности носителя. Для этого твердый носитель должен обладать определенной структурой и удельной поверхностью (оптимальной считается поверхность 1–3 м²/г).

Удельная поверхность твердого носителя определяется главным образом размером пор. Принимается, что носители с порами диаметром от 0,5 до 1,5 мкм наиболее пригодны для газожидкостной хроматографии.

Не следует выбирать в качестве твердых носителей материалы с порами ≤0,5 мкм. Массообмен между фазами замедленный, что вызывает размывание зоны каждого разделяемого вещества при его движении через колонку. Однако тонкие поры можно расширить соответствующей обработкой.

1.2.1.6.2.2. Активность носителя

Химическая и адсорбционная активности носителя неблагоприятно сказываются на работе хроматографической колонки. Например, многие силикатные

носители либо отщепляют воду от спиртов, либо оказывают каталитическое воздействие и вызывают химические превращения хроматографируемых веществ. Только при использовании полиэтилена или политетрафторэтилена (тефлона) в качестве носителя практически исключаются химическое и адсорбционное взаимодействие.

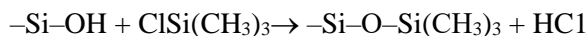
При адсорбционном взаимодействии анализируемое вещество не только растворяется в пленке неподвижной жидкости, но и адсорбируется поверхностью твердого носителя. *Криволинейность изотермы адсорбции* обычно проявляется при меньших концентрациях анализируемого вещества, чем в случае изотерм растворения. Это проявляет себя в несимметричности хроматографических пиков: у них появляются «хвосты».

Адсорбционная активность проявляется особенно сильно, когда удельная поверхность носителя превышает $2 \text{ м}^2/\text{г}$ и она недостаточно покрыта жидкой фазой, а также при хроматографировании полярных веществ на неполярных НЖФ. В последнем случае менее полярная неподвижная жидкость может вытесняться с поверхности носителя более полярным веществом.

Чтобы устранить или, по крайней мере, свести к минимуму нежелательную активность, присущую большинству твердых носителей, применяют их химическую или физическую *модификацию*.

При физическом модифицировании поверхность адсорбента покрывают слоем сильно сорбирующей жидкости. Поверхность адсорбента может быть заблокирована также слоем твердого вещества: различными неорганическими солями, фталоцианинами металлов и т. п. Осуществляют и полимеризацию нанесенных мономеров с образованием на поверхности плотной полимерной пленки. Во всех случаях физического модифицирования происходит снижение удельной поверхности за счет заполнения микро- и мезопор адсорбента. Химическая однородность вновь полученной поверхности зависит от толщины нанесенного слоя, а также от его устойчивости при повышенных температурах.

При химическом модифицировании адсорбентов изменяется природа их поверхности. Так, для уменьшения адсорбционной активности силикагелей, пористых стекол, диатомитовых твердых носителей и других кремнеземных адсорбентов их обрабатывают триметилхлорсиланом, диметилдихлорсиланом и гексаметилдисилазаном. В случае применения триметилхлорсилана происходит поверхностная реакция:



Гидроксильная группа поверхности заменяется на силильный эфир. Гидрофильная поверхность кремнезема становится гидрофобной (гидрофобизация поверхности). Обработку триметилхлорсиланом проводят как в газовой фазе, так и в растворе бензола. Очень важно, чтобы адсорбент и растворитель перед реакцией были обезвожены, так как триметилхлорсилан разлагается водой.

Полное модифицирование тонкопористых силикагелей при комнатной температуре продолжается не менее 7–8 дней, для модифицирования макропористых носителей достаточно нескольких часов.

Модифицирование в газовой фазе проводят путем пропускания потока сухого инертного газа, насыщенного парами триметилхлорсилана, через колонку с сорбентом. Этот процесс обычно проводят непосредственно в термостате хроматографа при повышенных температурах с отсоединенной от детектора колонкой.

При модифицировании в жидкой фазе адсорбент с раствором запаивают в толстостенную ампулу и выдерживают несколько часов при температуре выше точки кипения триметилхлорсилана (57,3°C). Следует помнить, что давление в ампуле в ходе процесса возрастает, так как в реакции образуется газообразный HCl.

1.2.1.6.2.3. Величина зерна носителя

При выборе размера зерна твердого носителя следует иметь в виду, что значение имеет не только сам размер, но и фракционный состав частиц носителя, т. е. распределение частиц по размерам. Следует добиваться близкой дисперсности зерен носителя. В противном случае сильно возрастает неоднородность заполнения колонки, что снижает ее эффективность.

Для каждого диаметра колонки существует оптимальный размер зерен твердого носителя. При наиболее применяемых диаметрах колонок (3–4 мм) оптимальный размер зерен твердого носителя должен составлять 0,15–0,30 мм.

1.2.1.6.2.4. Материалы для носителей

В качестве твердых носителей предложено достаточно много веществ, но лишь немногие из них отвечают всем соответствующим требованиям. Большей частью применяют носители, приготовленные на основе кизельгура или диатомита.

Малой каталитической и адсорбционной активностью обладают многие сорта стеклянных микрошариков. Применение стеклянных шариков в качестве твердого носителя позволяет работать с малым содержанием неподвижной фазы

(0,05–3% от массы шариков) и обеспечивает высокую изодисперсность носителя. Однако слишком малая поверхность стеклянных шариков препятствует равномерному ее смачиванию и приводит к слипанию уже при содержании неподвижной фазы около 0,06% от массы носителя. Для преодоления этого недостатка шарики из боросиликатного стекла подвергают обработке кислотами. При этом на поверхности получаются поры ~ 1 мкм с весьма узким распределением их по радиусу. Таким путем удастся получить носитель, сочетающий прочность и правильную геометрическую форму с требуемой удельной поверхностью, обладающей однородными порами.

Из твердых носителей органической природы следует выделить *политетрафторэтилен* (тефлон). Его можно применять в хроматографических колонках при рабочей температуре до 180°C. Большое преимущество этого носителя заключается в его минимальной химической активности и практически полном отсутствии адсорбционной активности.

Сырьем для большинства твердых носителей, используемых в газовой хроматографии, является *диатомит*, известный также под названием диатомового кремнезема, диатомовой земли или *кизельгура*. Диатомит состоит из панцирей диатомовых микроскопических одноклеточных водорослей, которые по своему химическому составу представляют микроаморфную фазу, содержащую воду, оксид кремния, примеси оксидов металлов и т. д.

Широкое применение в качестве носителя и адсорбента в хроматографии получил *хромосорб*. Существует 5 его типов: А, G, P, W, Т.

Хромосорб А предназначен для использования в препаративной газовой хроматографии. Он обладает достаточно большой емкостью по отношению к жидкой фазе (до 25 масс. %), механической прочностью и небольшой адсорбционной активностью поверхности. Выпускают хромосорб А трех видов с размерами частиц: 10–20, 20–30 и 30–40 меш. Указанные его свойства позволяют применять длинные колонки с небольшим гидравлическим сопротивлением.

Хромосорб G применяется для разделения полярных соединений. Благодаря малой удельной поверхности и высокой прочности он явился хорошей заменой для легких хрупких носителей, таких как хромосорб W. В связи с меньшей удельной поверхностью и большей плотностью на хромосорб G наносят меньшее количество жидкой фазы (5 масс. % фазы на хромосорбе G аналогичны по свойствам 12 масс. % на хромосорбе W).

Хромосорб Р изготавливается из огнеупорного кирпича С-22, выпускаемого фирмой Johns Manville. Он представляет собой относительно твердый кальцинированный диатомит розового цвета. Хромосорб Р обладает большей адсорбционной активностью по сравнению с другими видами хромосорба и поэтому используется в основном для разделения углеводов, межмолекулярные взаимодействия с которыми минимальны.

Хромосорб Т представляет собой частицы тефлона 6 определенного размера. Этот носитель рекомендуется использовать при разделении высокополярных или реакционноспособных соединений, таких как вода, гидразин, двуокись серы и галогены. Поверхность такого носителя инертна по отношению к перечисленным соединениям, благодаря чему пики получают достаточно симметричными. Однако в связи с относительно невысокой эффективностью колонок, заполненных хромосорбом Т, его следует использовать только в тех случаях, когда требуется очень инертный носитель.

Хромосорб W — кальцинированный диатомитовый носитель, выпускаемый фирмой Johns Manville в связи с производством фильтрующих материалов типа целита, например целита 545. Хромосорб по своим свойствам похож на целит 545. Он имеет белый цвет, является более хрупким, чем хромосорб G. Поверхность его относительно инертна, и он используется для разделения полярных соединений.

Физические свойства хромосорбов различной модификации приведены в табл. 1.8.

Таблица 1.8

Физические свойства некоторых носителей

Хромосорб	Насыпная масса, г/см ³	Плотность, г/см ³	Удельная поверхность, м ² /г	pH
Т	0,42	0,49	7,8	
G	0,47	0,58	0,5	8,5
W	0,18	0,24	1,0	8,5
A	0,40	0,48	2,7	7,1
P	0,38	0,47	4,0	6,5

Аэропак 30 больше всех приближается по своим свойствам к идеальному носителю, пригодному для разделения неполярных и полярных соединений.

Аэропак 30 представляет собой хромосорб W нейтрализованный, обработанный диметилдихлорсиланом и с частицами близкого размера.

1.2.1.6.3. Адсорбенты для хроматографии

В газoadсорбционной хроматографии неподвижной фазой является адсорбент (без НЖФ). Адсорбент должен удовлетворять следующим требованиям:

- иметь различную адсорбционную способность к анализируемым веществам (т. е. быть достаточно селективным);
- обладать химической и каталитической инертностью;
- иметь изотерму адсорбции, близкую к линейной в достаточно широком интервале концентрации для всех анализируемых веществ;
- обладать достаточно высокой механической прочностью.

Селективность адсорбента определяется в первую очередь силами взаимодействия адсорбата с поверхностью адсорбента. Как уже упоминалось, они бывают ориентационными, индукционными, дисперсионными и специфическими. Дисперсионные силы вызывают адсорбцию неполярных веществ на неполярных же адсорбентах. При взаимодействии полярных веществ с поверхностью полярных адсорбентов задействованы все виды сил Ван-дер-Ваальса. Существенную роль при адсорбции могут играть специфические взаимодействия, например образование водородных связей. Поэтому рассмотренные ранее зависимости сорбционных характеристик для неподвижных жидких фаз остаются в основном справедливыми и для адсорбентов.

Согласно классификации Киселева, адсорбенты делят на три типа.

1. *Неспецифические адсорбенты*, на поверхности которых отсутствуют функциональные группы или ионы, способные к обмену. К этому же типу адсорбентов можно отнести полимеры углеводородов, например полиэтилен и графитированную сажу.

2. *Специфические адсорбенты*, имеющие на поверхности локально сконцентрированные положительные заряды, например гидроксильные группы силикагелей, катионы цеолитов. Для этих адсорбентов характерно специфическое взаимодействие с молекулами, имеющими сосредоточенную электронную плотность на отдельных звеньях своей периферии.

3. *Специфические адсорбенты*, на поверхности которых имеются связи или группы атомов со сосредоточенной электронной плотностью. Получить та-

кие адсорбенты можно, нанося на поверхность неспецифичных адсорбентов монослой молекул, обладающих сосредоточенной электронной плотностью. К этому же типу адсорбентов относятся полярные пористые полимеры.

Важной характеристикой системы адсорбат-адсорбент является протяженность линейной части изотермы адсорбции (изотермы Генри). Только хроматографирование при концентрациях анализируемых веществ, относящихся к линейной части изотермы, дает симметричные пики на хроматограмме. В противном случае — пики асимметричные, с «хвостами» или с размытым фронтом.

Подобно неподвижным жидким фазам, твердые адсорбенты редко удовлетворяют всем перечисленным выше требованиям. Ряд адсорбентов адсорбирует анализируемые вещества практически необратимо, другие адсорбенты оказывают каталитическое действие, например способствуют полимеризации исследуемых веществ. Поэтому в практике газoadсорбционной хроматографии часто прибегают к модификации адсорбентов. Модификацию адсорбентов проводят:

- обработкой их кислотами, щелочами или неорганическими солями;
- заменой полярных групп, расположенных на поверхности адсорбентов, неполярными группами;
- насыщением адсорбентов парами воды;
- геометрической модификацией.

Первый способ модификации удаляет примеси, главным образом — оксиды металлов, содержащиеся во многих адсорбентах, например в силикагелях. Второй прием модификации заменяет имеющиеся на поверхности адсорбента адсорбционно-активные группы на неактивные. Например, силанизация силикагеля приводит к замене гидроксильных групп поверхности на метильные.

Насыщение адсорбента парами воды вызывает его дезактивацию. Например, изменяя содержание воды в оксиде алюминия, можно варьировать его адсорбционную активность к различным веществам.

Геометрическая модификация обычно сводится к прокаливанию адсорбентов при 900–1000°C. Прокаливание приводит к спеканию и вследствие этого — к изменению структуры пор адсорбента: микро- и мезопоры исчезают и на поверхности остаются лишь макропоры. Кроме того, при такой обработке поверхность многих адсорбентов, например силикагеля, сильно дегидроксيليруется.

Еще один способ модификации адсорбентов состоит в нанесении на инертный твердый носитель мельчайших частиц (пыли) адсорбента. Получаются так называемые *поверхностнослойные сорбенты*. Можно наносить такую пыль и на внутренние стенки капиллярной колонки. При этом газожидкостная капиллярная хроматография переходит в газoadсорбционный ее вариант.

В газoadсорбционной хроматографии применяют как полярные адсорбенты (силикагели и Al_2O_3), так и неполярные (активированные угли, графитированные сажи и т. п.). Для разделения смеси веществ, молекулы которых различаются размерами или формой, например смеси нормальных и изосоединений, часто применяют молекулярные сита — цеолиты, образующие с веществами разделяемых смесей соединения включения. Широко применяются в качестве адсорбентов пористые стекла и пористые полимеры. Ниже приводятся некоторые адсорбенты.

Силикагель получают конденсацией ортокремневой кислоты или реакцией водорастворимых силикатов (жидкого стекла) с минеральными кислотами. Для достижения требуемой в хроматографии широкопористой структуры полученный силикагель подвергают гидротермальной обработке, т. е. воздействию водяного пара при высокой температуре.

Адсорбционная способность силикагеля обусловлена наличием на его поверхности силанольных групп $-\text{Si}-\text{OH}$, способных к образованию водородных связей с молекулами сорбатов. В зависимости от содержания указанных групп поверхность силикагелей может быть гидроксильной и дегидроксильной. Гидроксильная поверхность устойчива до $\sim 400^\circ\text{C}$, далее начинается процесс ее дегидроксильирования (соседние гидроксильные группы соединяются с выделением молекулы воды).

В присутствии водяных паров дегидроксильрованная поверхность медленно переходит в гидроксильную. Для ускорения этого процесса силикагель кипятят в дистиллированной воде в течение суток и более.

Гидроксильная поверхность лучше адсорбирует полярные и слабополярные вещества, чем дегидроксильрованная. Неполярные соединения, например алканы, адсорбируются с одинаковой интенсивностью на обеих поверхностях, на дегидроксильрованной поверхности удерживаемые объемы алканов даже несколько выше.

Тонкопористые силикагели используют для газохроматографического разделения постоянных и углеводородных газов, за исключением кислорода и азота, которые на них практически не делятся даже при низких температурах.

Непредельные углеводороды дольше удерживаются в колонке с силикагелем, чем соответствующие предельные алканы, и хорошо разделяются. Например, этилен и пропилен выходят из колонки с силикагелем позднее этана и пропана соответственно. Двуокись углерода элюируется позднее этана.

Силикагели получили широкое применение для разделения серосодержащих газов. Например, смесь CO_2 , COS , H_2S , CS_2 и SO_2 легко разделяется на колонке с силикагелем длиной ≤ 1 м.

Макропористые силикагели используют для разделения слабополярных и неполярных соединений. Например, их применяют для высокотемпературного разделения насыщенных и ароматических углеводородов, сложных эфиров, в частности фталатов, используемых в качестве пластификаторов.

Сильнополярные соединения дают на хроматограммах несимметричные пики, особенно если силикагель содержит примеси других оксидов. По этой причине для уменьшения адсорбционной активности и повышения химической однородности поверхность силикагелей подвергают физическому или химическому модифицированию. Для этого на поверхность макропористых силикагелей наносят небольшие количества (до монослоя) высококипящих жидкостей или напыляют высокодисперсные порошки.

Химическое модифицирование сводится к силанизации поверхности, в результате которой гидроксильные группы заменяются на группы $-\text{SiCH}_3$, из-за чего водородные связи образоваться уже не могут.

При хранении силикагелей на открытом воздухе на его поверхности адсорбируется влага из воздуха (их используют в качестве осушителей). Поэтому перед заполнением колонки силикагели прокаливают при $200\text{--}250^\circ\text{C}$ до постоянной массы. Процесс удаления влаги идет существенно быстрее, если прокаливание вести под вакуумом или непосредственно в хроматографической колонке в потоке сухого инертного газа-носителя (при этом колонку необходимо отсоединить от детектора).

Оксид алюминия получают осаждением алюминиевых солей раствором аммиака или разложением алюмината натрия минеральными кислотами. В про-

мышленности оксид алюминия с высокоразвитой поверхностью получают действием на гидроксид алюминия раствора NaOH. Образующийся алюминат натрия обрабатывают азотной кислотой с последующим осаждением $\text{Al}(\text{OH})_3$. Осадок отфильтровывают, промывают, сушат и прокаливают.

Оксид алюминия существует в нескольких кристаллических формах (известно семь форм), для газoadсорбционной хроматографии обычно применяют γ -модификацию. Удельная поверхность промышленных образцов Al_2O_3 составляет 170–300 м²/г. Адсорбционная активность в сильной степени зависит от температуры прокаливания $\text{Al}(\text{OH})_3$: от нее зависит содержание влаги в Al_2O_3 . Обычно используют продукт, содержащий около 2–3 масс. % воды. Присутствие воды сильно уменьшает время удерживания большинства веществ. Безводный γ - Al_2O_3 селективно удерживают непредельные и ароматические углеводороды. На совершенно обезвоженном γ - Al_2O_3 этилен выходит даже позднее пропана.

Для уменьшения адсорбционной активности на поверхность оксида наносят малые количества нелетучих жидкостей: сквалана, силиконов и др. Модифицированный таким образом адсорбент используют для разделения легких углеводородных газов. Так, в микронасадочных колонках, наполненных γ - Al_2O_3 с небольшим количеством сквалана (до 5–8 масс.%), можно полностью разделить все компоненты смеси углеводородов C_1 – C_4 .

Для высокотемпературной хроматографии используют оксид алюминия, на поверхность которого нанесены различные неорганические соли и щелочи. На таких адсорбентах разделяются углеводороды с числом атомов углерода до 36 при сравнительно невысоких температурах (как в изотермическом режиме, так и в режиме программирования температуры).

Оксид алюминия используют в газовой хроматографии также для разделения изотопов водорода.

Перед заполнением хроматографической колонки Al_2O_3 следует прокалить при 200–300°C до постоянной массы.

Цеолиты — синтетические сорбенты со строго определенным размером пор в кристаллической решетке, по этой причине их называют еще *молекулярными ситами*.

Кристаллическая решетка цеолитов состоит из кремний-алюмо-кислородных кубооктаэдров, связанных в простой кубической координации (тип А) или в

более рыхлой тетраэдрической координации (тип X). Остов пористых кристаллов цеолитов содержит обменные катионы, по этой причине они обладают большим сродством к молекулам, несущим π -связи, свободные электронные пары у атомов кислорода и азота и т. п. (цеолиты применяют для очистки и осушки различных газов). Поэтому для стабильной работы колонки с цеолитами необходимо тщательно удалять влагу и CO_2 из анализируемого газа и газа-носителя. Цеолиты, подготовленные для газохроматографических опытов, хранят в запаянных или герметично закрытых сосудах.

Разделительная способность цеолитов зависит от выбора катионной формы. На цеолите типа AgX возможно необратимое поглощение H_2 , CO и ненасыщенных углеводородов.

Цеолит типа CaA (молекулярные сита) используют для отделения тяжелых нормальных углеводородов от ароматических и разветвленных углеводородов. Последние не могут проникать в поры цеолита и потому свободно проходят через его слой в колонке. Например, цеолит CaA применяют для промышленного отделения и определения нормальных углеводородов в бензиновых и керосиновых фракциях.

На цеолитах CaA, CaX и NaX хорошо разделяется смесь водорода, кислорода, азота, метана и оксида углерода II, при этом CO_2 десорбируется только при температурах выше 200°C .

Эффективность колонки с цеолитом может быть значительно увеличена (~в 6 раз), если мелкие кристаллы цеолита, например типа CaA, нанести на поверхность крупнопористого носителя, например хромосорба. Высокая эффективность разделения на цеолитах достигается и при использовании капиллярных колонок, на внутренней поверхности которых нанесен слой из мелких кристаллов.

Перед вводом в колонку цеолиты необходимо обезвоживать при $450\text{--}500^\circ\text{C}$ (при более высоких температурах разрушается их кристаллическая структура) в течение 4–5 ч, особенно для селективного разделения смеси кислорода и азота.

Пористые стекла представляют собой боросиликатные стекла с жесткой пространственной сетью соединяющихся пор. Они применяются как в качестве инертных твердых носителей в газожидкостной хроматографии, так и в качестве адсорбентов в газоадсорбционной хроматографии. Адсорбционные свойства по-

ристых стекол обусловлены наличием силанольных групп, способных к образованию водородных связей с веществами, содержащими электронодонорные функциональные группы. Химическая природа поверхности хорошо промытых пористых стекол идентична поверхности силикагелей.

Главными отличительными особенностями пористых стекол по сравнению с другими материалами того же назначения являются их высокая химическая инертность, строго контролируемый размер пор и легкость регенерации. Возможность управления структурой пор боросиликатных стекол позволяет широко использовать их в газовой хроматографии. Мелкопористые стекла с порами диаметром 10 \AA применяют наряду с цеолитами для разделения низкокипящих газов. По сравнению с последними пористые стекла более механические и кислотостойкие.

Пористые стекла с порами диаметром от 30 до 100 \AA используют для разделения газов и паров низкокипящих жидкостей, в частности — для анализа легких углеводородов.

Здесь пористые стекла, благодаря однородности пор, имеют преимущества перед силикагелем и алюмогелем. Высокая разделительная способность для таких смесей (например, CH_4 , C_2H_6 и C_2H_4) сохраняется даже при высоких температурах (до 95°C). Более высокая по сравнению с силикагелями однородность пористого стекла позволяет определять примеси в чистых веществах, в частности — в мономерах.

Макропористые стекла с порами размером более 500 \AA можно использовать для разделения жидких смесей нормальных и ароматических углеводородов.

Для газохроматографических опытов пористые стекла необходимо подготавливать так же, как и силикагели.

Активированные угли обычно получают путем удаления из угля-сырца смолистых веществ и последующей обработкой окисляющими агентами H_2O и CO_2 при высокой температуре, а также пропиткой различных органических материалов активирующими солями (K_2S , ZnCl_2), прокаливанием их без доступа воздуха и отмывкой полученного угля водой.

Активированные угли имеют сложную структуру пор. По классификации М. М. Дубинина поры активированных углей подразделяются на три группы:

сильноадсорбирующие микропоры размерами 1,00–3,00 нм, переходные поры, в которых происходит капиллярная конденсация паров, и макропоры.

Удельная поверхность активированных углей, зависящая в основном от содержания микропор, может достигать 1000 м²/г и более. Поверхность геометрически и химически весьма неоднородна: в зависимости от способа получения и обработки угля она оказывается в различной степени окисленной и потому по-разному адсорбирует воду. На поверхности слабоокисленных углей адсорбция паров воды невелика.

Активированные угли используют в газовой хроматографии для анализа низкокипящих газов, в частности благородных, а также легких углеводородных газов.

Однородные тонкопористые активированные угли получают разложением поливинилиденхлорида (*сарановые угли*). При удалении из полученного продукта хлора и хлористого водорода в фазе такого угля образуется углеродный каркас. За счет упорядоченной структуры исходного полимера получается тонкопористый однородный в геометрическом отношении адсорбент с удельной поверхностью около 1000 м²/г и со средним радиусом пор 1–1,2 нм. Такой активированный уголь называют *углеродными ситами*. Это неполярный адсорбент, более неполярный даже, чем сквалан. Поэтому вода при хроматографировании выходит раньше многих органических соединений, даже раньше метана. Вследствие слабого удерживания воды углеродные сита рекомендуют для анализа микропримесей воды в органических растворителях (вода всегда элюирует раньше основного вещества).

Углеродные сита используются для разделения газов (благородных, углеводородных, серосодержащих и азотсодержащих). Углеродные сита могут быть применены для определения микропримесей ацетилена в этилене, для разделения метилацетилена, аллена, пропилена и пропана. С программированием температуры можно разделять смесь N₂ + O₂, CO, CH₄, CO₂, C₂H₂, C₂H₄, C₂H₆.

Перед использованием все активированные угли следует прокалывать при высокой температуре в потоке инертного газа, лучше всего непосредственно в колонке (ее следует отсоединить от детектора).

Графитированные сажи получают обработкой обычных саж при ~3000°C в вакууме или инертном газе. При такой обработке частицы сажи приобретают

форму полиэдров, грани которых образованы монокристаллами графита, растущими изнутри частицы. Поверхность графитированных саж не содержит функциональных групп и π -связей. Поэтому они относятся к неспецифическим адсорбентам. Иногда пыль графитированной сажи наносят на поверхность инертных носителей или же на внутренние стенки капиллярных колонок.

Графитированную сажу наносят также на поверхность модифицированного широкопористого силикагеля или пористого тefлона. Применяют также вплавление частичек сажи на внешнюю поверхность непористых полиэтиленовых или стеклянных шариков. В первом случае термостойкость носителя невелика.

Из-за слабой адсорбции влаги на поверхности графитированной сажи нет необходимости прокалывать ее перед заполнением колонки.

Полимерные сорбенты широко применяются в газовой хроматографии. Наибольшее распространение нашли пористые материалы на основе сополимеров стирола, этилстирола и дивинилбензола.

Пористые полимеры обладают хорошей механической прочностью, высокоразвитой поверхностью ($20\text{--}700\text{ м}^2/\text{г}$), высокой селективностью и достаточной термической стабильностью. Типичным пористым полимерным сорбентом является порапак.

Порапак (торговое название) — пористый полимер, состоящий из этилвинилбензола, сшитого с дивинилбензолом. Он обладает однородной структурой, характеризующейся определенным размером пор. Порапак модифицируют сополимеризацией с различными полярными соединениями, в результате получают полярные адсорбенты. Порапак выпускается в виде шариков 50–80 до 150–200 меш. В настоящее время в продаже имеется шесть типов порапака: Р, Q, R, S и Т, N. Типы Р и Q неполярны, R, S, Т и N — полимеры средней полярности.

Все порапаки стабильны до $\sim 250^\circ\text{C}$, за исключением порапака Т ($\sim 200^\circ\text{C}$). Одно из исключительных свойств этих сорбентов — вода и другие высокополярные соединения быстро выходят из колонки, причем «хвост» у пиков практически отсутствует. Порапак используют главным образом для эффективного разделения низкокипящих углеводородов, спиртов, сложных эфиров, кетонов, низкомолекулярных соединений, содержащих галогены и серу. Наиболее универсален поропака Q.

Полисорб — сополимер стирола (60%) и дивинилбензола (40%). Удельная поверхность — $320\text{ м}^2/\text{г}$, насыпная масса — $1,80\text{ г}/\text{см}^3$, размер зерен — 0,25–0,50 мм. Применяется для разделения сильно полярных веществ.

Тефлон — неполярный неспецифический адсорбент. Энергия взаимодействия адсорбент — адсорбат в этом случае определяется только дисперсионными силами. Применяется как адсорбент и как носитель в ГЖХ для разделения высококипящих веществ. Размер зерен составляет 0,5–1 мм, плотность — 2,20 г/см³.

1.2.2. Элюационные характеристики, селективность и эффективность фазы (колонок)

1.2.2.1. Хроматографические пики

Кривую зависимости сигнала детектора от времени называют *хроматограммой* (реже — элюиционной или выходной кривой). В зависимости от типа используемого детектора получают дифференциальные (рис. 16а) и интегральные хроматограммы (рис. 16б).

На дифференциальной хроматограмме выделяют: нулевую линию 1 — участок хроматограммы, полученной при регистрации сигнала дифференциального детектора во время выхода из колонки чистого элюента; пик 2 — участок хроматограммы, полученный при регистрации сигнала детектора во время выхода из колонки несорбирующегося компонента; пик 3 и т. д. — участок хроматограммы, полученный при регистрации сигнала детектора во время выхода из колонки одного из определяемых компонентов.

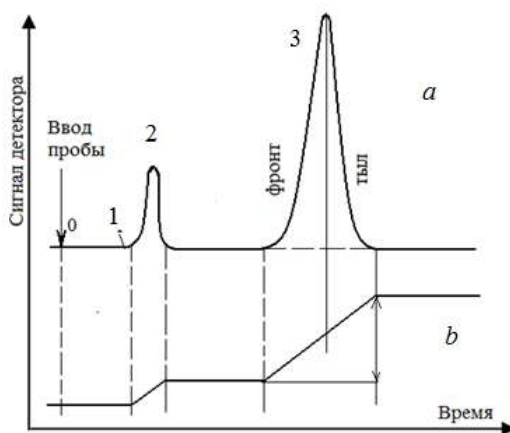


Рис. 16. Дифференциальная (а) и интегральная (б) хроматограммы: 1 — нулевая линия; 2 — пик несорбирующего вещества; 3 — пик определяемого вещества.

Пик ограничивается фронтом, соответствующим возрастанию концентрации компонента до максимальной, и тылом, отвечающим убыванию концентрации компонента в газе-носителе.

Расширение зоны компонента по мере прохождения ее через колонку, приводящее к получению широкого пика, называют *размытием пика*. Размытие может быть симметричным и асимметричным. В последнем случае образуется пик либо с размытым фронтом, либо с размытым тылом (с «хвостом»).

1.2.2.2. Элюационные характеристики хроматографии

Основой для хроматографических исследований служат элюационные характеристики (рис. 17).

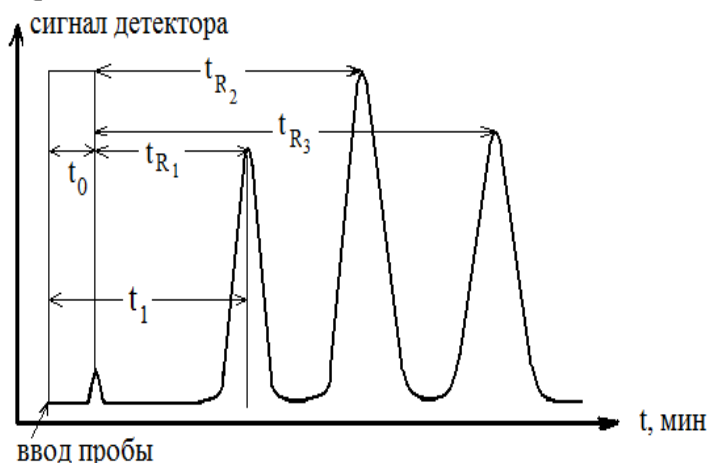


Рис. 17. Хроматограмма разделения трехкомпонентной смеси: t_0 — мертвое время; t_1 — время удерживания первого компонента; t_{R1} , t_{R2} , t_{R3} — исправленное время удерживания компонентов смеси.

Время удерживания (t) — это время, прошедшее от момента ввода пробы до выхода максимума пика (максимальной концентрации определяемого компонента). На рис. 17 — это t_1 .

Молекулы вещества могут двигаться через колонку только вместе с потоком газа-носителя. При сорбции они связываются с неподвижной фазой и не двигаются до тех пор, пока не произойдет их десорбция и они снова не войдут в поток газа. Таким образом, время прохождения молекул вещества через слой неподвижной фазы складывается из времени их движения с потоком подвижной фазы (t_0) и времени пребывания в сорбированном состоянии (t_R):

$$t = t_0 + t_R. \quad (1.4)$$

Время t_0 (иногда употребляют термин «мертвое» время») для всех компонентов разделяемой смеси одинаково и зависит лишь от объема хроматографической системы W (объема колонки, занимаемого газом, объема дозатора, детектора и соединительных газовых линий) и объемной скорости потока подвижной фазы ω :

$$t_0 = \frac{W}{\omega}. \quad (1.5)$$

С другой стороны, t_0 — это время удерживания несорбирующегося вещества. Обычно при работе с катарометром t_0 экспериментально определяют, измеряя время удерживания воздуха. При работе с ДИП t_0 чаще всего приравнивают к времени удерживания метана.

Время выхода несорбирующегося вещества зависит от плотности упаковки насадки в колонке и длины колонки: для колонок одинаковой длины с ростом плотности упаковки насадки в колонке это время уменьшается.

Исправленное время удерживания (t_R)¹ — время, прошедшее с момента появления пика несорбирующегося газа до появления пика анализируемого вещества:

$$t_R = t - t_0. \quad (1.6)$$

Отношение исправленного времени удерживания к «мертвому» времени называют *коэффициентом ёмкости* или *коэффициентом извлечения* (k'):

$$k' = \frac{t_R}{t_0}. \quad (1.7)$$

Этот параметр колонки является мерой сорбционного торможения анализируемого вещества по сравнению с несорбирующимся веществом при их движении через колонку. С другой стороны, k' — это отношение количества вещества $n_{\text{нф}}$, находящегося в данный момент в неподвижной фазе, к его количеству в подвижной фазе $n_{\text{пф}}$:

$$k' = \frac{n_{\text{нф}}}{n_{\text{пф}}}. \quad (1.8)$$

Объем удерживания, или *удерживаемый объем* (V) — это объем газа-носителя (в см³), прошедший через хроматографическую колонку от момента ввода пробы до момента выхода вершины пика (максимальной концентрации определяемого вещества в потоке газа-носителя), измеренный при давлении и температуре на выходе из колонки. Объем удерживания вычисляют по уравнению:

¹Иногда t_R называют приведенным временем удерживания.

$$V = t \cdot \omega, \quad (1.9)$$

где ω — объемная скорость газа-носителя, см³/мин.

При наличии специальных измерительных блоков в комплекте хроматографа величины ω определяют по их показаниям. В противном случае объемную скорость газа-носителя измеряют с помощью пенного расходомера. Поэтому при вычислении удерживаемых объемов следует использовать значение объемной скорости, учитывающей температуру колонки и давление водяного пара при температуре измерения:

$$\omega = \omega_{\text{изм}} \frac{T_K}{T_{\text{сп}}} \left(1 - \frac{P_{\text{H}_2\text{O}}}{P_B}\right), \quad (1.10)$$

где $\omega_{\text{изм}}$ — измеренная объемная скорость, см³/мин; T_K — температура колонки, К; $T_{\text{сп}}$ — температура окружающей среды, К; $P_{\text{H}_2\text{O}}$ — давление насыщенного пара воды при температуре измерения, Па; P_B — атмосферное (барометрическое) давление, Па.

*Исправленный объем удерживания*² (V_R) рассчитывают по уравнению:

$$V_R = t_R \cdot \omega = (t - t_0) \cdot \omega. \quad (1.11)$$

*Приведенный объем удерживания*³ (V'_R) — объем удерживания, пересчитанный на температуру 273,15 К:

$$V'_R = V_R \frac{273,15}{T_K}. \quad (1.12)$$

Приведенный объем удерживания, исправленный с учетом перепада давления вдоль слоя неподвижной фазы, называют *эффективным (чистым) объемом удерживания* V_N :

$$V_N = V_R \frac{273,15}{T_K} j, \quad (1.13)$$

где j — коэффициент сжимаемости, вычисляемый по уравнению

$$j = \frac{3 \left(\frac{P_B}{P_0} \right)^2 - 1}{2 \left(\frac{P_B}{P_0} \right)^3 - 1}, \quad (1.14)$$

где P_B — давление на входе в колонку; P_0 — давление на выходе из колонки.

² Иногда исправленным объемом удерживания называют произведение $V_R j$.

³ В литературе можно встретить, что приведенный объем удерживания — это $(V - V_0)$, т. е. исправленный объем удерживания V_R .

Таким образом, эффективный объем удерживания не зависит от «мертвого» объема и приведен к среднему давлению в колонке и температуре 273,15 К, но он зависит от количества неподвижной фазы в колонке. Эту зависимость исключают введением *удельного объема удерживания* (V_g)⁴. Он равен чистому объему удерживания, отнесенному к массе неподвижной жидкой фазы или к массе сорбента в колонке g :

$$V_g = \frac{V_N}{g} = V_R \frac{273,15}{g \cdot T_K} j. \quad (1.15)$$

Иногда удельным объемом удерживания называют величину:

$$V_g = \frac{V_R}{g} j.$$

Объем V_g является такой же характерной константой исследуемого вещества, как его температура плавления (кипения), показатель преломления, плотность и т. п. В справочной литературе приводятся данные по удельным удерживаемым объемам различных веществ на различных фазах. Используя эти данные, можно проводить качественный анализ смесей веществ.

Однако в повседневной практике получили большее распространение относительные параметры удерживания.

Относительное время удерживания ($t_{отн}$) — отношение исправленного времени удерживания (t_{Ri}) данного i -го вещества к соответствующему времени удерживания соединения, выбранного в качестве стандарта (t_{Rct}):

$$t_{отн_i} = \frac{t_{R_i}}{t_{R_{cm}}}. \quad (1.16)$$

Относительный объем удерживания ($V_{Rотн}$), или *относительное удерживание* (α) — отношение исправленного, чистого или удельного объема удерживания данного i -го соединения к соответствующему объему удерживания вещества, выбранного в качестве стандарта (ст):

$$V_{отн_i} = \frac{V_{R_i}}{V_{R_{cm}}}, \quad (1.17)$$

где V_{Ri} — исправленный объем удерживания исследуемого i -го вещества; V_{Rct} — исправленный объем удерживания вещества, принятого за стандарт.

⁴ В литературе можно встретить и термин абсолютный удельный удерживаемый объем.

Стандартом может быть любое вещество, однако в большинстве случаев используются нормальные парафины, бензол или вещество, принадлежащее к тому же классу, что и определяемое.

Относительные величины удерживания не зависят от количества сорбента в колонке, от объема колонки, занятого газовой фазой, от перепада давления в колонке, от скорости газа-носителя. Они используются для идентификации анализируемых веществ, их публикуют в виде таблиц как в оригинальной литературе, так и в справочниках.

Как уже неоднократно отмечалось, удерживание вещества в колонке зависит от интенсивности его межмолекулярного взаимодействия с неподвижной фазой. Чем интенсивнее указанные взаимодействия, тем медленнее движется вещество вдоль колонки, тем больше его удерживание. В случае газо-жидкостной хроматографии мерой такого межмолекулярного взаимодействия может служить *коэффициент распределения* вещества между подвижной и неподвижной фазами — *коэффициент Генри*. Он равен отношению количества анализируемого вещества, содержащегося в единице объема неподвижной фазы $C_{нф}$, к количеству этого вещества, содержащегося в единице объема газовой фазы C :

$$\Gamma = \frac{C_{нф}}{C}. \quad (1.18)$$

Константа распределения связана с коэффициентом емкости колонки (1.7) соотношением:

$$k' = \frac{n_{нф}}{n} = \frac{C_{нф} V_{нф}}{C \cdot V} = \Gamma \frac{1}{\beta},$$

где $V_{нф}$ и V — объемы неподвижной и газовой фазы в колонке; β — величина, равная отношению этих объемов, называемая *фазовым отношением*. Отсюда следует выражение для константы распределения:

$$\Gamma = k' \cdot \beta.$$

В хроматографии также вводится понятие *общего коэффициента Генри* — Γ_0 , равного отношению количества анализируемого вещества, содержащегося в единице объема колонки $C_{кол}$, к количеству этого вещества, содержащегося в единице объема газовой фазы C :

$$\Gamma_0 = \frac{C_{кол}}{C}. \quad (1.19)$$

Величины Γ и Γ_0 тем выше, чем больше доля вещества, удерживаемая неподвижной фазой. Так как по колонке движется только та часть вещества, которая в данный момент времени находится в газовой фазе, то $V_R(t_R)$ пропорционален Γ . Окончательно для относительного объема удерживания i -го вещества имеем выражение:

$$V_{\text{отн}i} = V_{Ri}/V_{R\text{ст}} = \Gamma_i/\Gamma_{\text{ст}} = \Gamma_{0i}/\Gamma_{0\text{ст}}. \quad (1.20)$$

В случае газoadсорбционной хроматографии мерой указанных межмолекулярных взаимодействий исследуемого вещества и адсорбента в колонке может служить *адсорбционный коэффициент* b (константа адсорбционного равновесия). Тогда относительный объем удерживания i -го вещества выражается уравнением:

$$V_{\text{отн}i} = V_{Ri}/V_{R\text{ст}} = b_i/b_{\text{ст}}. \quad (1.21)$$

1.2.2.3. Эффективность колонки

Время удерживания и все производные от него величины являются по существу термодинамическими характеристиками процесса. Однако, как в любом другом химическом процессе, в хроматографии результат определяется совместным влиянием термодинамических и кинетических факторов. Если в хроматографической системе данного состава при данной температуре у двух веществ значения t_R близки, то никакие изменения геометрии колонки, расхода элюента и других параметров не приведут к успешному разделению этой пары. Но, с другой стороны, различие значений t_R вовсе не означает, что разделение, а тем более хорошее, будет достигнуто. Для этого используемая колонка должна обладать достаточно высокими кинетическими характеристиками. Акты сорбции-десорбции должны совершаться с большой скоростью, чтобы реализовалась потенциальная возможность разделения, заложенная в различии t_R .

Основная кинетическая характеристика любого процесса разделения — *высота* H , эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ). Эта величина соответствует слою сорбента (неподвижной фазы), в пределах которого устанавливается равновесие между подвижной и неподвижной фазами. Она отражает, по существу, качество использованного сорбента, качество заполнения колонки и правильность выбора режима хроматографирования.

Чаше применяют обратную величину — *число теоретических тарелок* N :

$$N = L/H,$$

где L — длина колонки.

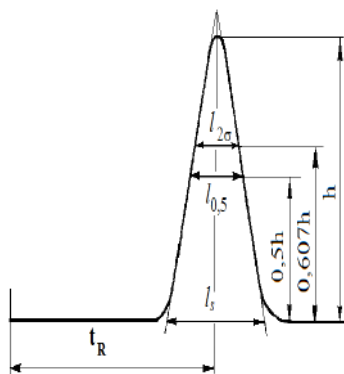


Рис. 18. Иллюстрация понятия «эффективность колонки» (H)

Число теоретических тарелок служит мерой *эффективности колонки*. Его рассчитывают как функцию времени удерживания и ширины пика (рис. 18) по уравнению

$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{l_{0,5}} \right)^2 = \left(\frac{t_R}{l_s} \right)^2 = 4 \left(\frac{t_R}{l_{2\sigma}} \right)^2, \quad (1.22)$$

где l_s — ширина пика у основания; $l_{0,5}$ — ширина пика на уровне 0,5 высоты; $l_{2\sigma}$ — ширина пика на уровне 0,607 высоты.

В литературе для определения числа теоретических тарелок иногда вместо уравнения (1.21) используют выражение, учитывающее коэффициент емкости k' (1.7):

$$N = 5,54 \frac{k'}{k' + 1} \left(\frac{t_R}{l_{0,5}} \right)^2.$$

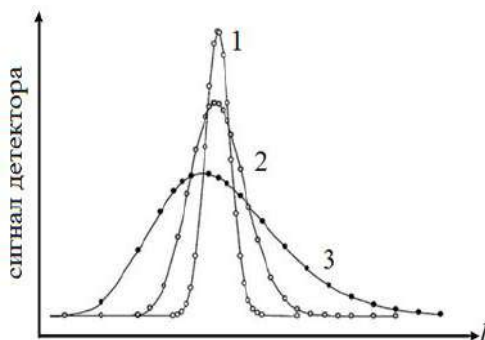


Рис. 19. Вид пика при различном значении числа теоретических тарелок N :
1 — 250, 2 — 50, 3 — 10.

Чем сильнее размыт пик, тем меньше N и больше H . Это видно на рис. 19, на котором изображены пики вещества, полученные на одной НЖФ, но при различной эффективности колонки⁵.

1.2.2.4. Селективность фазы (колонки)

Основная задача хроматографического исследования — разделение веществ анализируемой смеси. Разделение зон веществ, прошедших через хроматографическую колонку, приводит к появлению разделенных пиков на хроматограмме.

Разделение или наложение пиков друг на друга связано с понятием *селективности фазы (колонки)* — способности фазы (колонки) разделять анализируемые вещества. Чем дальше на хроматограмме отстоят друг от друга пики анализируемых веществ, тем селективнее фаза (колонка). Применение селективной фазы позволяет разделять вещества с одинаковым давлением насыщенного пара (одинаковой температурой кипения). В этом заключается основное преимущество хроматографии перед ректификацией.

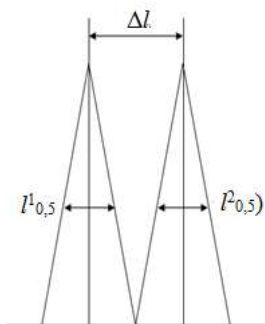


Рис. 20. Иллюстрация понятия «степень разделения»

Критерии селективности (разделения)

1. *Степень разделения.* Распределение концентрации вещества в зоне на выходе из хроматографической колонки близко к распределению Гаусса: максимальная концентрация сосредоточена в центре зоны и снижается к ее краям. Вид кривой Гаусса должен иметь и хроматографический пик. На практике пик можно представить в виде треугольника (рис. 20), тогда предельный случай разделения пиков наблюдается, когда треугольники касаются друг друга основаниями. При дальнейшем сближении пиков произойдет их наложение друг на друга, и фазу

⁵ Величину N иногда называют числом *эффективных* теоретических тарелок в противовес числу теоретических тарелок, вычисляемых через время удерживания t .

уже нельзя считать селективной по отношению к разделяемым веществам. Из геометрических соображений вытекает, что при касании треугольников основаниями расстояние между их вершинами Δl равно сумме их полуширин $\mu_{0,5}$:

$$\Delta l = l^1_{0,5} + l^2_{0,5}, \text{ т. е. } \Delta l / (l^1_{0,5} + l^2_{0,5}) = 1.$$

Тогда критерием качества разделения смеси двух веществ может служить отношение расстояния между максимумами хроматографических пиков к сумме их полуширин. Эту величину R называют *степенью разделения* или просто *разделением*:

$$R = \frac{\Delta l}{l^1_{0,5} + l^2_{0,5}}. \quad (1.23)$$

Если $l^1_{0,5} = l^2_{0,5}$, то $R = \Delta l / 2l_{0,5}$. Вместо $l_{0,5}$ в знаменатель уравнения (1.23) могут быть подставлены и другие величины, характеризующие ширину пиков, например l .

Если $R > 1$, пики на хроматограмме разделены и фазу в колонке можно считать селективной, если же $R < 1$, разделения нет и фаза неселективная.

Поскольку расстояние между пиками Δl пропорционально разности удерживаемых объемов компонентов ΔV_R , из теории тарелок можно получить следующее уравнение для степени разделения:

$$R = \frac{0,212 \cdot \Delta \Gamma_0}{\bar{\Gamma}_0} \sqrt{N} = \frac{0,212 \cdot \Delta \Gamma_0}{\bar{\Gamma}_0} \sqrt{\frac{L}{H}}, \quad (1.24)$$

где $\Delta \Gamma_0$ — разность общих коэффициентов Генри разделяемых компонентов (см. (1.19)); $\bar{\Gamma}_0$ — среднее арифметическое общих коэффициентов Генри компонентов; N — число теоретических тарелок.

Из соотношения (1.24) следует, что высокое число теоретических тарелок, характеризующее эффективность колонки, еще не гарантирует качества разделения. Действительно, для получения величины $R > 1$, помимо высоких значений N , нужна еще большая разность $\Delta \Gamma_0$. Для иллюстрации этого положения на рис. 21 приведены хроматограммы, полученные на колонках с одинаковой эффективностью $N = 1200$, но с НЖФ различной природы (селективности). Если на хроматограмме *б* наблюдается достаточно хорошее разделение веществ 1 и 2 (они обладают сильно различающимися Γ_0 и $R \sim 1$), то на хроматограмме *а* пики этих веществ сливаются в один ($\Delta \Gamma_0$ веществ недостаточна для их разделения).

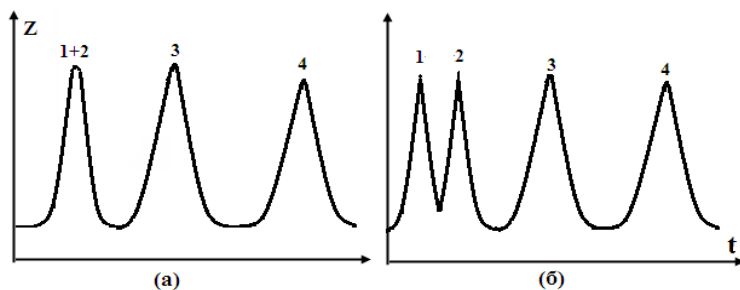


Рис. 21. Иллюстрация применения понятий «селективность» и «эффективность» фазы

2. Коэффициент селективности колонки K_C :

$$K_C = \frac{2(\Gamma_{02} - \Gamma_{01})}{\Gamma_{02} + \Gamma_{01}}. \quad (1.25)$$

Тогда уравнение для степени разделения (1.24) можно записать следующим образом:

$$R = 0,212 \cdot K_C \sqrt{N}.$$

3. Коэффициент селективности фазы k_C . В выражения для (1.24) и (1.25) входят общие коэффициенты Генри, следовательно, величины R и K_C определяются не только природой сорбента, но и объемами, занимаемыми подвижной и неподвижной фазами в колонке, т. е. они зависят от способа набивки колонки. Для характеристики селективности самой фазы (способности ее к разделению веществ) ввели понятие *коэффициента селективности фазы*:

$$k_C = \frac{2(\Gamma_2 - \Gamma_1)}{\Gamma_2 + \Gamma_1}. \quad (1.26)$$

Здесь Γ_1 и Γ_2 — истинные коэффициенты Генри веществ 1 и 2, зависящие лишь от природы вещества и природы неподвижной фазы (см. (1.18)).

4. *Относительное удерживание*. Селективность неподвижной фазы может быть охарактеризована и с помощью относительного удерживания α , равного отношению времен удерживания (удерживаемых объемов) разделяемых веществ (рис. 22):

$$\alpha = \frac{t_{R_2}}{t_{R_1}} = \frac{V_{R_2}}{V_{R_1}}. \quad (1.27)$$

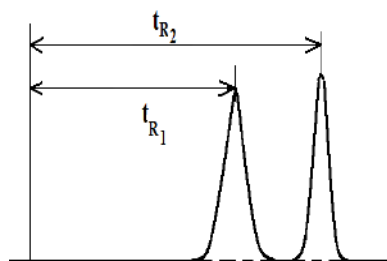


Рис. 22. Иллюстрация понятия «относительное удерживание»

Чем больше α , тем дальше отстоят друг от друга пики разделяемых веществ на хроматограмме, тем больше селективность фазы колонки.

Учитывая выражение (1.20) для относительного объема удерживания, имеем:

$$\alpha = \frac{t_{R_2}}{t_{R_1}} = \frac{V_{R_2}}{V_{R_1}} = \frac{\Gamma_2}{\Gamma_1}. \quad (1.28)$$

В случае газодсорбционной хроматографии:

$$\alpha = \frac{t_{R_2}}{t_{R_1}} = \frac{V_{R_2}}{V_{R_1}} = \frac{b_2}{b_1}. \quad (1.29)$$

Величины β и Γ зависят от температуры: они уменьшаются с повышением T . Это означает, что с ростом температуры возрастает доля веществ, пребывающих в газовой фазе, а время их нахождения в неподвижной фазе t_R уменьшается. Снижается участие жидкой фазы, определяющее процесс разделения (в газовой фазе никакого разделения веществ не происходит), в результате с повышением T разделение веществ ухудшается. Следовательно, для достижения лучшего разделения (селективности) необходимо применять как можно более низкие температуры.

Считается, что молекулы анализируемого вещества должны проводить как минимум половину времени в неподвижной фазе, тогда t_R будет по крайней мере вдвое превышать время удерживания несорбирующегося газа t_0 . Однако следует помнить, что при снижении температуры увеличивается время анализа.

При повышении температуры может даже измениться порядок выхода веществ из колонки. Это видно на рис. 23, на котором приведена зависимость объема удерживания двух веществ от температуры. С повышением T удерживание обоих веществ снижается, но в разной степени. При низких температурах (до

точки T_H) первым из колонки будет элюироваться вещество 2, а при высоких — вещество 1.

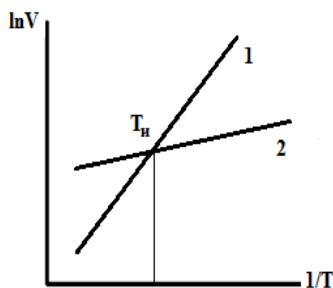


Рис. 23. Зависимость удерживания от температуры для веществ 1 и 2

Кроме интенсивности межмолекулярного взаимодействия с неподвижной фазой, на величину удерживания вещества влияет и давление его насыщенного пара P° . Действительно, чем выше P° , тем большая часть вещества при прочих равных условиях находится в движущемся газе и тем меньше его удерживание в колонке. Учитывая это обстоятельство, Е. Херингтон для случая газожидкостной хроматографии предложил следующее уравнение (уравнение Херингтона):

$$\lg \frac{V_{R,2}}{V_{R,1}} = \lg \alpha = \lg \frac{P_1^\circ}{P_2^\circ} + \lg \frac{\gamma_1}{\gamma_2} \quad (1.30)$$

$$\frac{V_{R,2}}{V_{R,1}} = \alpha = \frac{P_1^\circ}{P_2^\circ} \frac{\gamma_1}{\gamma_2}$$

Здесь P_1° и P_2° — давление насыщенного пара чистых веществ 1 и 2, γ_1 и γ_2 — коэффициенты активности этих веществ в НЖФ. Мерой интенсивности межмолекулярного взаимодействия с неподвижной фазой в этом случае выступают коэффициенты активности. Действительно, чем сильнее различаются взаимодействия веществ раствора, тем сильнее γ отличается от 1.

Давление пара чистых веществ определяется их природой и зависит только от температуры. Поэтому при разделении веществ, принадлежащих к одному гомологическому ряду, выбор неподвижной фазы не имеет столь решающего значения: разделение осуществляется из-за различия их P° . В случае же хроматографирования веществ, относящихся к различным гомологическим рядам, на первый план выходит различие их γ . Особенно это играет роль, когда анализируемые

смеси состоят из веществ, имеющих близкие температуры кипения и, следовательно, практически одинаковые P^0 . В этих случаях $V_{R2}/V_{R1} = \alpha$ зависит только от соотношения интенсивностей взаимодействия молекул анализируемых веществ и неподвижной фазы (величин Γ или γ).

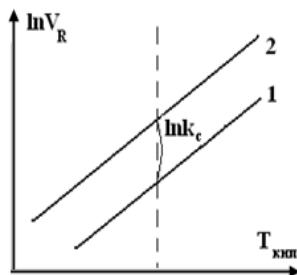


Рис. 24. Иллюстрация графического определения коэффициента селективности по Байеру

Исходя из этих соображений, Э. Байер предложил оценивать селективность НЖФ при анализе смеси веществ, принадлежащих к двум различным гомологическим рядам, с помощью так называемого *коэффициента селективности* (по Э. Байеру). Этот коэффициент представляет собой отношение удельных удерживаемых объемов реальных и гипотетических веществ, принадлежащих к разделяемым классам и имеющих одинаковое давление насыщенного пара или температуру кипения. Согласно уравнению (1.30), в этом случае коэффициент селективности (по Э. Байеру) равен:

$$k_c = \frac{V_{R,1}}{V_{R,2}} = \frac{\gamma_2}{\gamma_1}. \quad (1.31)$$

Если по оси абсцисс (рис. 24) отложить температуры кипения компонентов указанных гомологических рядов, а по оси ординат — $\ln V_R$, то разность ординат при выбранной температуре колонки дает $\ln k_c$.

Таким образом, критерии R , k_c и α характеризуют степень разделения пиков, величины H и N — эффективность колонки, определяющую размытие пиков (зон в колонке).

Рис. 25 иллюстрирует понятия селективности и эффективности фазы (колонки). На нем приведена хроматограмма, соответствующая случаю, когда фаза в колонке и селективная, и эффективная (а), хроматограмма (б) отвечает фазе селективной, но не эффективной. Рис. 25в иллюстрирует работу эффективной, но не селективной фазы, и, наконец, случай неэффективной и неселективной фазы изображен на рис. 25г.

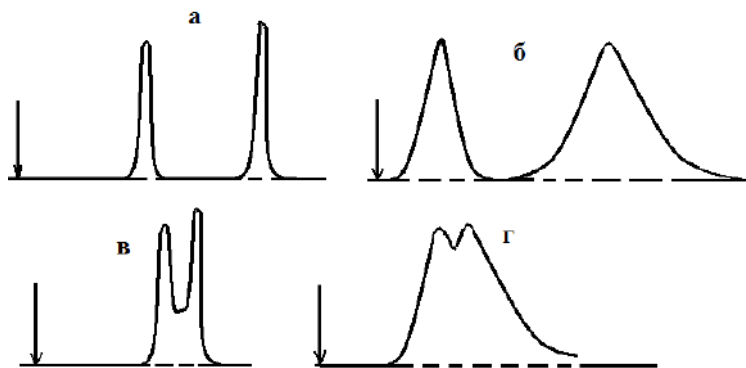


Рис. 25. Иллюстрация понятий «селективность» и «эффективность» неподвижной фазы (колонок)

Помимо рассмотренных параметров на селективность и эффективность колонки оказывают влияние и другие.

Длина колонки. Из уравнения (1.24) следует, что степень разделения пропорциональна квадратному корню из длины колонки (при увеличении длины колонки в 4 раза степень разделения увеличивается только в 2 раза). Практически степень разделения для набивных колонок увеличивается еще в меньшей степени. Дело в том, что при использовании колонок большой длины перепад давления в колонке возрастает и соответственно сильно меняется скорость потока по длине колонки. В связи с этим некоторые участки колонки будут работать не в оптимальном режиме, и в целом эффективность колонок будет меньше, чем это следует из теоретического соотношения. Кроме того, работа на колонке большой длины всегда связана с неудобствами (в частности, обеспечением герметичности, потерей пробы при дозировании в испаритель, находящийся под высоким давлением). Поэтому в аналитической практике чаще всего используют колонки длиной 1–3 м.

Сечение колонки. Разделительная способность колонки обратно пропорциональна сечению колонки. Ширина пика прямо пропорциональна сечению колонки. С уменьшением сечения колонки (уменьшением внутреннего диаметра колонки) возрастает эффективность и разделительная способность колонки, но до определенного предела, т. е. до того момента, пока не наступает падение доли сорбента в единице объема колонки (до момента сильного уменьшения селективности колонки) и перегрузка колонки.

При использовании малых проб (т. е. при использовании высокочувствительных детекторов) наиболее оптимальными колонками для аналитических целей являются колонки с внутренним диаметром 2–3 мм.

Форма колонки. С целью более компактного размещения в термостате хроматографическим колонкам (стальным или стеклянным трубкам) придают *U*-образный вид или скручивают в спираль. Наибольшая эффективность разделения достигается на *U*-образных колонках: на спиралеобразных колонках (при большом радиусе кривизны) появляется дополнительное размывание пиков, связанное с неодинаковой скоростью газа по сечению колонки.

Достижение заданной степени разделения — основная задача, определяющая выбор условий хроматографирования. Однако следует учитывать и дополнительные требования, которые часто приобретают первостепенное значение. Так, например, для лабораторного анализа продолжительность разделения не имеет большого значения, а для производства фактор времени может стать определяющим.

1.2.3. Теории газовой хроматографии

1.2.3.1. Общие идеи

В задачу теории хроматографии входит установление законов движения и размытия хроматографических зон анализируемых веществ. Основными факторами, положенными в основу классификации теории хроматографии, являются вид изотермы сорбции и скорость установления равновесия.

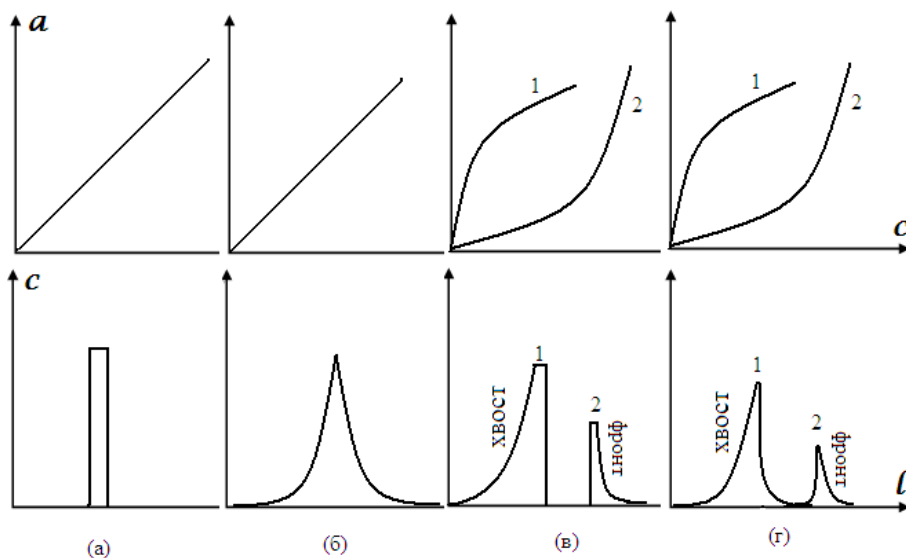


Рис. 26. Изотермы сорбции и соответствующие им хроматограммы: *а* — линейная идеальная хроматография; *б* — линейная неидеальная хроматография; *в* — нелинейная идеальная хроматография; *г* — нелинейная неидеальная хроматография.

В зависимости от вида изотермы сорбции различают теории линейной и нелинейной хроматографии.

Теория линейной хроматографии рассматривает процессы, которые описываются линейной изотермой сорбции. Практическое осуществление такого процесса позволяет получать симметричные (относительно точки с максимальной концентрацией) пики компонентов.

Теория нелинейной хроматографии описывает процессы, которые характеризуются выпуклой или вогнутой изотермой сорбции и приводят к образованию асимметричных пиков (зон).

В зависимости от того, учитывается скорость установления равновесия или нет, различают теории идеальной и неидеальной хроматографии.

Теория идеальной (равновесной) хроматографии предполагает мгновенное установление равновесия между фазами, т. е. скорости внешней и внутренней диффузии очень велики. Такое допущение позволяет вывести уравнение движения хроматографической зоны.

Теория неидеальной хроматографии рассматривает реальный процесс и учитывает, что равновесие устанавливается в течение определенного времени. На рис. 26 изображены изотермы сорбции и пики анализируемых веществ (зоны), получающиеся на хроматограммах в предположении той или иной теории.

1.2.3.2. Скорость движения хроматографической зоны

Рассмотрение материального баланса, устанавливающего связь количества вещества, прошедшего через сечение колонки, с изменением концентрации в нем, позволяет вывести уравнение зависимости скорости движения зоны компонента u_z от линейной скорости газа носителя u :

$$u_z = \frac{u}{\frac{da_0}{dC}}, \quad (1.32)$$

где a_0 — общее количество анализируемого вещества в единице объема колонки.

В случае линейной изотермы сорбции производная в знаменателе (1.32): $\frac{da_0}{dC} = \Gamma_0$ равна общему коэффициенту Генри (см. (1.19)). Тогда для колонки единичного сечения получаем

$$u_z = \frac{u}{\Gamma_0}$$

или в общем виде:

$$u_z = \frac{u}{\Gamma_0} = \frac{\omega}{\Gamma_0 S}. \quad (1.33)$$

Здесь ω — объемная скорость газа-носителя ($\text{см}^3/\text{с}$), S — сечение колонки (см^2). Таким образом, при линейной изотерме сорбции (рис. 26а) скорость движения зоны вещества в колонке не зависит от концентрации: при движении вдоль колонки зона не размывается и пики имеют вид прямоугольников. При нелинейной изотерме сорбции (рис. 26в, г) $\frac{da_0}{dC} \neq \text{const}$ и скорость движения зоны вещества зависит от его концентрации. В случае выпуклой к оси ординат изотермы величины $\frac{da_0}{dC}$ снижаются с ростом C и, согласно (1.32), u_z при этом возрастает. Это означает, что части зоны с низкой концентрацией компонента перемещаются медленнее самой зоны (областей с более высокой концентрацией).

При вводе вещества в колонку возникает небольшое размытие его зоны и во фронтальной и тыльной ее частях образуются области пониженной C , которые перемещаются медленнее, чем средняя часть зоны с более высокой концентрацией. Отстающая в движении фронтальная часть пониженной концентрации постоянно поглощается самой зоной, а тыльная часть продолжает отставать, захватывая все большую часть пика. В результате происходит ее размытие с образованием «хвоста» пика.

При выпуклой к оси абсцисс (рис. 26в, г) изотерме сорбции величина $\frac{da_0}{dC}$ возрастает с ростом C . Это означает, что области с низкой концентрацией компонента перемещаются быстрее областей с более высокой концентрацией. Аналогичные вышеприведенным рассуждения приводят к заключению, что в этом случае происходит размытие фронта пика.

Совершенно очевидно, что в условиях, вызывающих асимметрию полос, качество разделения зон (пиков) хуже, поэтому объяснимо стремление исследователей работать в условиях, отвечающих линейной области изотермы сорбции.

Нетрудно показать, что

$$a_0 = a\beta_1 + C\beta, \quad (1.34)$$

где a — количество вещества в единице объема неподвижной фазы; C — количество вещества в единице объема подвижной фазы (концентрация вещества в газе-

носителе); β и β_1 — доля подвижной и неподвижной фазы в объеме колонки соответственно. Из уравнения (1.34) следует, что

$$G_0 = G\beta_1 + \beta,$$

где G — истинный коэффициент Генри (коэффициент распределения).

Истинная линейная скорость движения газа-носителя (с учетом того, что часть сечения колонки закрыта для прохода газа):

$$u' = \frac{u}{\beta}, \quad u_s = \frac{u'}{G\frac{\beta_1}{\beta} + 1} = \frac{u'}{G' + 1},$$

где $G' = G\frac{\beta_1}{\beta}$ — так называемый *частный коэффициент Генри*.

1.2.3.3. Размывание хроматографических зон

Рассмотрим факторы, определяющие форму хроматографических пиков (зон) в газовой хроматографии. Разделяемая смесь вводится в колонку в виде компактного по объему импульса — зоны. Ее объемом по сравнению с объемом колонки можно пренебречь. По мере перемещения молекул веществ с потоком подвижной фазы зона непрерывно расширяется, при этом концентрация молекул в ней уменьшается. Главная причина данного процесса в том, что скорость перемещения по колонке отдельных молекул отличается от средней скорости движения всей зоны вещества. Действительно, «быстрые» (по сравнению со средней скоростью) молекулы убегают вперед, а «медленные» отстают.

С точки зрения конечного результата хроматографического процесса — достижения разделения анализируемых веществ — размывание зон крайне нежелательно по крайней мере по двум причинам. Во-первых, размывание зон различных веществ может привести к их перекрыванию, и потому приходится предъявлять более жесткие требования к селективности системы. Во-вторых, размывание приводит к уменьшению концентрации анализируемого вещества в центре зоны и как следствие — к снижению чувствительности при анализе и дополнительным трудностям при препаративном выделении чистых веществ.

Как уже отмечалось, мерой интенсивности процессов размывания зоны анализируемых веществ в неподвижной фазе (пиков на хроматограмме) является высота, эквивалентная теоретической тарелке ВЭТТ, обозначаемая обычно как H . Рассмотрим природу некоторых (основных) процессов, приводящих к увеличению H .

Вихревая диффузия (неоднородность потока подвижной фазы). Насадочные колонки представляют собой трубки, заполненные сорбентом, частицы которого образуют стационарный зернистый слой. Газ фильтруется через этот слой, двигаясь по зазорам между частицами. За счет различных по длине путей перемещения молекул разделяемых соединений возникает специфический размывающий фактор — вихревая диффузия.

Вклад вихревой диффузии в процесс размывания зоны (увеличения H) описывает уравнение:

$$H_{вд} = 2\lambda \cdot d_p, \quad (1.35)$$

где d_p — размер частиц сорбента; λ — коэффициент вихревой диффузии (мера неоднородности потока подвижной фазы).

В капиллярных колонках газ движется по каналу вдоль оси колонки. По этой причине в капиллярных колонках вихревая диффузия практически отсутствует. Однако возникает другой размывающий фактор, вызываемый так называемой «тейлоровской» диффузией, связанной с параболическим распределением скорости газа по сечению канала.

Продольная молекулярная диффузия в подвижной фазе. Молекулы анализируемых веществ при хроматографировании распределяются между подвижной и неподвижной фазами вследствие процессов молекулярной диффузии. Среднее время пребывания молекул разделяемых веществ в подвижной фазе равно:

$$t_0 = \frac{L}{u},$$

где L — длина колонки; u — линейная скорость подвижной фазы. В течение этого периода молекулы веществ за счет диффузии смещаются относительно центра зоны, что приводит к ее размыванию. Вклад такой продольной диффузии в снижение эффективности колонки (в увеличение H) может быть описан формулой, полученной на основании уравнения диффузии Эйнштейна:

$$H_{пл} = \frac{2\gamma \cdot D_{мм}}{u}, \quad (1.36)$$

где $D_{мм}$ — коэффициент молекулярной диффузии; γ — коэффициент, учитывающий затрудненность диффузии в подвижной фазе, расположенной между зернами сорбента. Значение γ близко к 0,6 для обычных насадочных колонок (для идеального капилляра $\gamma = 1,00$).

Продольная диффузия в неподвижной фазе. В неподвижной фазе молекулы разделяемых соединений проводят время, равное:

$$t_R = \frac{L \cdot k'}{u},$$

где k' — коэффициент емкости. Величина t_R , в отличие от t_0 , для разных веществ различна. Для неподвижной фазы, как и для подвижной, может быть получено уравнение:

$$H_{HФ} = \frac{2D_{MS} \cdot k'}{u}, \quad (1.37)$$

где D_{MS} — коэффициент диффузии в неподвижной фазе.

Кинетика массопередачи в неподвижной фазе. Вклад размывания зоны в увеличение H колонки, связанный с конечной (не мгновенной) скоростью процессов сорбции-десорбции, несколько различается для адсорбционной и распределительной хроматографии.

Рассмотрим процесс адсорбции из центра зоны. Считая его протекающим согласно с кинетикой первого порядка, можно определить среднее время акта сорбции:

$$t_A = \frac{1}{k_A},$$

где k_A — константа скорости адсорбции. За это время центр зоны переместится на расстояние $(t_0/t_R)u \cdot t_A$, в то время как «средняя» молекула пройдет путь $t_A \cdot u$. В результате такого неравенства расстояний молекула «убежит вперед» от центра зоны на величину:

$$\Delta l = t_A \cdot u \left(1 - \frac{t_0}{t_R} \right).$$

При десорбции это расстояние удваивается. Полное число актов сорбции-десорбции равно $2L/(u \cdot t_A)$, отсюда можно получить уравнение для вычисления составляющей ВЭТТ, связанной с заторможенностью процессов адсорбции-десорбции в газoadсорбционной хроматографии:

$$H_A = 2 \left(\frac{t_R - t_0}{t_R} \right)^2 \frac{u}{k_A}. \quad (1.38)$$

В случае распределительной хроматографии продолжительность десорбции зависит от скорости диффузии в неподвижной фазе и эффективной толщины

пленки d_f . Аналогично (1.38) может быть получено выражение для составляющей H для случая распределительной хроматографии:

$$H_p = 2 \left(\frac{t_R - t_0}{t_R} \right)^2 \frac{t_0}{t_R} d_f^2 \frac{1}{D_{HS}}. \quad (1.39)$$

Кинетика массопередачи в подвижной фазе. Размывание зоны анализируемых веществ происходит также вследствие их диффузии в подвижной фазе, т. е. между частицами сорбента диаметром d_p . Длина диффузионного пробега пропорциональна d_p , и весь процесс можно рассматривать как протекающий параллельно с размыванием из-за неоднородности потока. Соответствующий вклад в ВЭТТ равен:

$$H_{KM} = \omega \cdot d_p^2 \cdot u \frac{1}{2D_{MM}}. \quad (1.40)$$

Наконец, вклад неравновесности процесса диффузии внутри застойных зон в частицах сорбента в величину ВЭТТ определяется выражением

$$H_{Y_{III}} = C \cdot d_p^2 \cdot u \frac{1}{D_{MM}}, \quad (1.41)$$

где C — коэффициент, учитывающий влияние заторможенности сорбционного равновесия и геометрии насадки.

Каждый из рассмотренных процессов вносит свой вклад в суммарную величину ВЭТТ, которая может быть найдена как сумма этих вкладов:

$$H = H_{ВД} + H_{ИД} + H_{ИФ} + H_A + H_p + H_{KM} + H_{III}.$$

Как видно из уравнений (1.35–1.43), многие составляющие ВЭТТ представляют собой функцию линейной скорости потока подвижной фазы. Ван-Деемтер обобщил рассмотренную выше зависимость H от u в виде уравнения (уравнение Ван-Деемтера), которое в упрощенной форме выглядит так:

$$H = A + \frac{B}{u} + C \cdot u. \quad (1.42)$$

Здесь член A учитывает вклад вихревой диффузии (неоднородности потока подвижной фазы); член B/u равен сумме слагаемых, связанных с продольной диффузией, член $C \cdot u$ — сумме слагаемых, отражающих кинетику массопередачи. На рис. 27 изображена кривая Ван-Деемтера, имеющая в общем случае вид гиперболы. При малых линейных скоростях потока (в левой части кривой) ос-

новной вклад в размывание зон вносят процессы продольной диффузии. В средней части графика располагается область, соответствующая минимальному для данной колонки значению ВЭТТ и оптимальной величине линейной скорости. При дальнейшем увеличении скорости потока возрастает роль сопротивления массопередаче и ВЭТТ снова увеличивается.

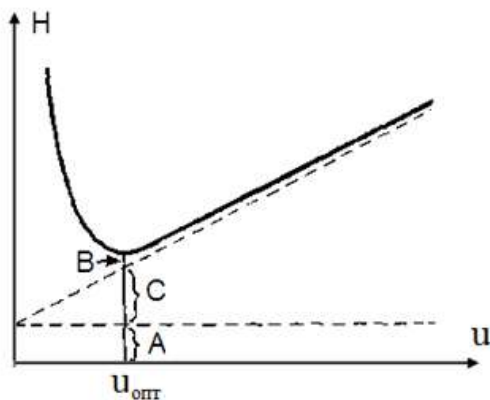


Рис. 27. Зависимость ВЭТТ от линейной скорости газа-носителя, соответствующая уравнению Ван-Деемтера

Природа газа-носителя оказывает влияние на размывание пиков. Это следует из обстоятельства, что коэффициенты молекулярной диффузии веществ D_{MM} (они зависят от природы среды — газа-носителя) входят в слагаемые уравнения (1.42), учитывающие вклад в H молекулярной диффузии и внешнего массообмена. Причем вклад молекулярной диффузии в H прямо пропорционален величине D_{MM} , а внешний массообмен оказывает обратное действие.

В качестве примера на рис. 28 приведена зависимость H от u при анализе одного и того же вещества, но с разными газами-носителями. Видно, что при малых скоростях, когда преобладает размывание зоны за счет молекулярной диффузии (второй член уравнения), более высокая эффективность достигается при использовании газа-носителя, имеющего большую молярную массу, так как D_{MM} в таком газе меньше.

При больших же скоростях u большая эффективность наблюдается при применении более легкого газа: размывание в этом случае происходит в основном за счет медленных процессов сорбции и десорбции, и молекулярная диффузия способствует ускорению массопередачи (внешний массообмен при ламинарных потоках происходит только за счет молекулярной диффузии).

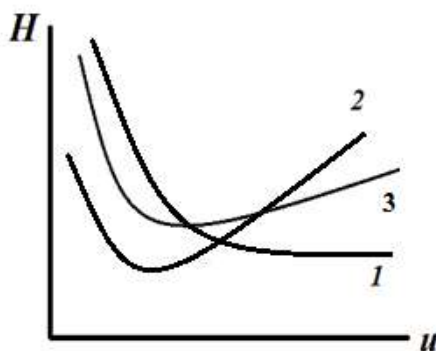


Рис. 28. Зависимость H от u при анализе пропана при использовании газов-носителей: 1 — гелия; 2 — аргона; 3 — азота.

Таким образом, с точки зрения эффективности колонки в экспрессной хроматографии, когда применяют большие u , выгоднее применять легкие газы-носители (например, гелий). В прецизионной хроматографии (при использовании малых линейных скоростей газа-носителя) выгоднее применять более тяжелые газы-носители (аргон, азот и т. п.).

Из уравнения Ван-Деемтера вытекает ряд противоречащих друг другу требований. Так, уменьшение скорости диффузии для снижения размывания зоны вещества должно сочетаться с необходимостью увеличения D для ускорения установления равновесия между фазами. Использование мелкодисперсных частиц снижает вихревую диффузию, но ограничивает скорость движения подвижной фазы. Для снижения продольной диффузии необходима высокая скорость подвижной фазы, что ухудшает протекание массообменных процессов. Наконец, требуемое использование тонких пленок неподвижной жидкой фазы противоречит использованию больших количеств неподвижной жидкой фазы.

Тем не менее, анализ уравнения Ван-Деемтера позволяет сделать следующие полезные заключения о мерах повышения эффективности колонок.

1. *Влияние диаметра частиц сорбента d_p .* Для снижения H (увеличения эффективности колонок) необходимо использовать частицы сорбента как можно меньшего размера. Кроме того, в слагаемые, описывающие сопротивление массопередаче, размер частиц входит во второй степени, так что целесообразность уменьшения d_p для снижения величины H не вызывает сомнений. К сожалению, использовать этот путь повышения эффективности колонки можно лишь до

определенного предела: с уменьшением d_r резко возрастает гидравлическое сопротивление колонки. Поэтому средний размер частиц применяемых сорбентов обычно составляет 3–10 мкм.

2. *Влияние газа-носителя.* Для достижения максимальной эффективности колонка должна работать при оптимальной скорости потока $u_{\text{опт}}$, которую определяют из точки \min на кривой $H = f(u)$. С целью сокращения продолжительности анализа на практике чаще всего применяют скорости, превышающие $u_{\text{опт}}$. В этой области кривой Ван-Деемтера положительное влияние на эффективность колонки оказывает увеличение коэффициента молекулярной диффузии. Поэтому следует применять в качестве подвижной фазы газ-носитель, обладающий наименьшей вязкостью.

3. *Влияние неподвижной жидкой фазы.* Необходимо использовать жидкость с низкой вязкостью, низкой упругостью пара и хорошей, но различной растворимостью в ней всех анализируемых веществ.

4. *Влияние количества НЖФ.* Снижение содержания неподвижной жидкой фазы в твердом носителе уменьшает ее эффективную толщину d_f , что позволяет сократить время анализа и уменьшить рабочую температуру. Однако при этом снижается допустимая проба анализируемой смеси и возрастают требования к химической и адсорбционной инертности твердого носителя.

5. *Влияние температуры.* С увеличением T интенсифицируются массообменные процессы, приводящие к тому, что пики на хроматограмме становятся выше и уже. Уменьшается и общее время анализа. Однако при этом снижается селективность фазы колонки и усиливаются процессы испарения и возможного разложения вещества НЖФ. Считается полезным одновременное уменьшение количества НЖФ и снижение температуры. Ограничениями в этом случае являются увеличение числа непокрытых активных центров твердого носителя и необходимость применения чувствительных детекторов.

6. *Зависимость H от диаметра колонки.* Эксперименты с капиллярными и препаративными колонками показывают, что эффективность улучшается с уменьшением внутреннего диаметра. Так, в настоящее время для достижения наибольшей эффективности чаще используются набивные колонки с диаметром 3 мм.

1.2.4. Проведение качественного и количественного хроматографического анализа

1.2.4.1. Качественный анализ

Задачей качественного хроматографического анализа является расшифровка хроматограмм — идентификация всех ее пиков. Время удерживания t_R и удерживаемый объем V_R , как уже было сказано ранее, являются индивидуальными характеристиками анализируемых веществ в определенных условиях проведения анализа, качественный хроматографический анализ основан на измерении этих величин. Существуют следующие способы идентификации компонентов в сложной смеси.

1. *Метод стандартных веществ (соединений)*. Этот метод основан на последовательном введении в анализируемую смесь стандартных веществ, присутствие которых в ней предполагается. Совпадение времен удерживания (увеличение одного из пиков) является основанием для отождествления пика анализируемой смеси со стандартным соединением. Однако это условие является необходимым, но не достаточным для идентификации: одно и то же (или очень близкое) время удерживания могут иметь несколько веществ, а не одно. Для увеличения достоверности анализа подобные исследования проводят, используя колонки с различными по природе неподвижными фазами.

2. *Метод сравнения $V_{отн}$ с табличными данными*. Качественный состав анализируемой смеси в этом методе устанавливают, сопоставляя экспериментально определенные относительные объемы удерживания веществ (при стандартных условиях анализа) с аналогичными табличными значениями. Международной комиссией по номенклатуре (на первом симпозиуме по газовой хроматографии, Лондон, 1956 г.) был предложен ряд стандартных веществ. В качестве стандартов наибольшее распространение получили пентан (для углеводородов), масляная кислота (для жирных кислот), метиловый эфир миристиновой кислоты (для эфиров высших жирных кислот) и т. д. Для повышения надежности хроматографической идентификации анализ проводят, используя данные, полученные с фазами, различными по своей природе.

3. *Корреляционные методы*. Внутри одного класса соединений зависимость $\ln V_R$ от числа атомов углерода в молекуле гомолога n обычно представляет собой прямую линию. Для качественного анализа смеси, содержащей самые различные вещества, заранее получают зависимость удерживаемого объема от n для

различных классов соединений на выбранной неподвижной фазе. Полученные данные располагают в координатах $\ln V_R$ от n (рис. 29). Далее проводят анализ исследуемой смеси, для каждого вещества вычисляют V_R и через полученные ординаты $\ln V_R$ проводят прямые. Идентификацию веществ проводят по точкам пересечения этих прямых с калибровочными линиями при целом значении n . На рис. 29 анализируемое вещество — пропанол. Для повышения достоверности идентификации подобные исследования проводят на нескольких неподвижных фазах, обычно полярных и неполярных.

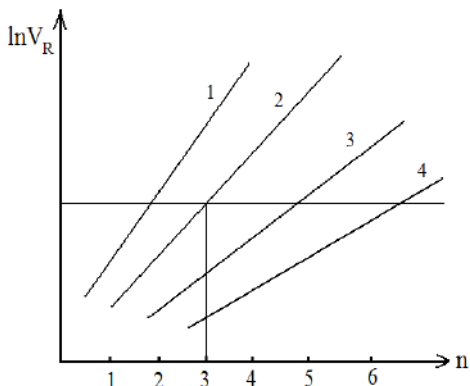


Рис. 29. Зависимость объема удерживания членов гомологических рядов от числа атомов углерода в их молекуле: 1 — жирных кислот; 2 — спиртов; 3 — альдегидов; 4 — кетонов.

Графики $\ln V_R \sim n$ для полярной и неполярной жидких фаз можно совместить следующим образом: на оси ординат отложить $\ln V_R$ на полярной или слабополярной жидкой фазе, на оси абсцисс — эту же величину на неполярной НЖФ. Полученная зависимость также прямолинейна для каждого гомологического ряда. Она позволяет производить идентификацию с большей достоверностью, причем прямые ложатся параллельно друг другу.

На рис. 30 такой совмещенный график представлен для пяти гомологических рядов (n -алканов, кетонов, третичных, вторичных и первичных спиртов). Одной из жидких фаз (более полярной) является триол, другой (менее полярной) — диизодецилфталат. Угловым коэффициентом этих прямых одинаков для всех гомологических рядов. Величинами, характеризующими различие членов этих рядов по их природе, являются отрезки, отсекаемые продолжением прямых на осях координат, или, вернее, отношение этих отрезков.

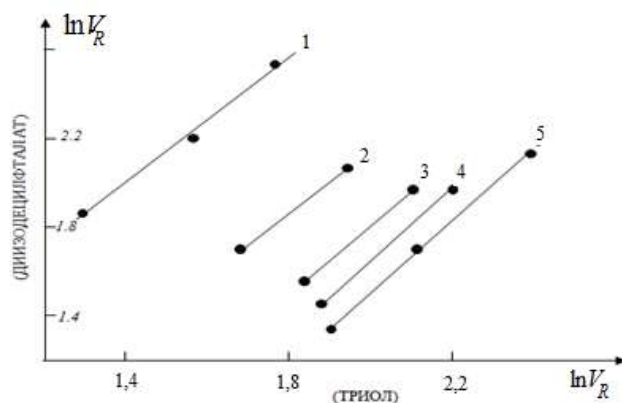


Рис. 30. Зависимость объема удерживания органических соединений различных гомологических рядов на колонке с полярной жидкой фазой (триол) от объема удерживания на колонке со слабополярной жидкой фазой (диизодецилфталат): 1 — нормальные углеводороды; 2 — кетоны; 3 — третичные спирты; 4 — вторичные спирты; 5 — первичные спирты.

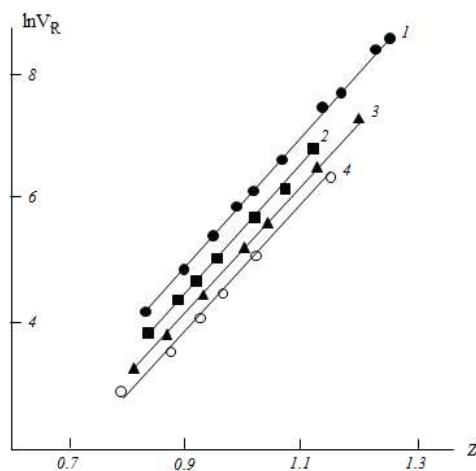


Рис. 31. Зависимость объема удерживания от безразмерного параметра Z (отношение температуры кипения вещества к температуре колонки) для четырех гомологических рядов на колонке с динонилфталатом

В способе идентификации, предложенном А. А. Жуховицким и Н. М. Туркельтаубом, используют прямолинейную зависимость между логарифмом объема удерживания и безразмерным параметром Z , представляющим собой отношение температуры кипения вещества к температуре колонки (рис. 31). Такая

зависимость прямолинейна для членов гомологических рядов неполярных веществ.

Сущность метода сводится к следующему: используя индивидуальные вещества различных гомологических рядов, строят калибровочные графики $\ln V_R \sim Z$ для нескольких НЖФ (полярной, слабополярной и неполярной). Далее проводят анализ. По хроматограммам анализируемой смеси определяют V_R компонентов и далее их $\ln V_R$. По калибровочным графикам находят фактор Z . Зная температуру колонки и Z , вычисляют температуру кипения вещества $T_{\text{кип}}$. Сопоставляя $T_{\text{кип}}$ с табличными данными, идентифицируют компоненты анализируемой смеси.

Общим недостатком описанных методов является то, что для построения калибровочных графиков необходимы индивидуальные вещества различных гомологических рядов, которые не всегда доступны (имеются в наличии).

4. *Идентификация по индексам удерживания Ковача.* Этот способ получил наибольшее применение. Суть его заключается в использовании линейной зависимости между логарифмом объёма удерживания и числом атомов углерода n в молекулах нормальных углеводородов. Числа n , умноженные на 100, составляют шкалу индексов удерживания Ковача I . Они характеризуют интенсивность взаимодействия углеводородов с неподвижной фазой колонки (их адсорбируемость или растворимость). Определяют индексы графически или по формуле:

$$I = 100 \frac{\lg V_R - \lg V_{R(n)}}{\lg V_{R(n+1)} - \lg V_{R(n)}} + 100n, \quad (1.43)$$

где V_R — объём удерживания анализируемого вещества; $V_{R(n)}$ — объём удерживания нормального парафина с числом n атомов углерода; $V_{R(n+1)}$ — объём удерживания нормального парафина с числом $(n + 1)$ атомов углерода. Необходимо, чтобы

$$V_R(n) \leq V_R \leq V_R(n+1). \quad (1.44)$$

Этот метод идентификации имеет преимущества по сравнению с описанными выше.

1. В качестве стандарта используются не случайные вещества, а гомологический ряд нормальных углеводородов, в результате чего точность и воспроизводимость определения индексов достаточно высоки. Кроме того, нормальные углеводороды наиболее доступны в качестве стандартных веществ.

2. Разница в индексах удерживания одного и того же вещества на полярной и неполярной жидких фазах характеризует его химическую природу и является дополнительной качественной характеристикой.

3. Индексы удерживания меньше зависят от температуры колонки, чем объёмы удерживания. Это расширяет область температур колонки, позволяющую проводить идентификацию.

4. При наличии литературных данных по индексам удерживания можно проводить качественный анализ без применения индивидуальных веществ.

Определяя индексы удерживания вещества, следует исключать адсорбционное влияние твердого носителя. Это влияние особенно велико при хроматографировании полярных веществ на неполярных жидких фазах (образование хвостов, изменение порядка выхода компонентов, изменение времени удерживания). Поэтому необходимо применять наиболее инертные носители, например широкопористое стекло, широкопористые силикагели, хромосорб *P* и др. Результаты идентификации компонентов, полученные методом Ковача, должны быть проверены другими независимыми методами.

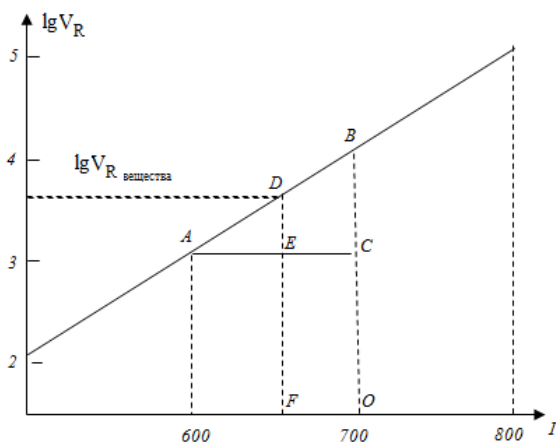


Рис. 32. Графическое определение индексов удерживания Ковача

Смысл индекса I и уравнения (1.43), по которому этот индекс рассчитывают, можно наглядно представить из графика зависимости логарифма объема удерживания от числа углеродных атомов ряда предельных углеводородов (рис. 32). Для анализируемого вещества, удерживаемый объем которого имеет промежуточное значение между $V_{R(n)}$ и $V_{R(n+1)}$, индекс удерживания заключён между

$n \cdot 100$ и $(n + 1) \cdot 100$. Пусть для данного вещества $\lg V_r = 3,60$ (на графике он равен отрезку DF). Тогда

$$I = 600 + AE = 650.$$

Если обратиться к (1.43), то получится тот же результат. Первый дробный член правой части этого уравнения, численно равен отрезку AE, так как

$$\frac{\lg V_r - \lg V_{r(n)}}{\lg V_{r(n+1)} - \lg V_{r(n)}} = \frac{DE}{BC} = \frac{AE}{AC}, \text{ а } AC = 100.$$

Второй член правой части (1.43), согласно неравенству (1.44) и графику на рис. 33, должен быть равен:

$$100 \cdot n = 100 \cdot 6 = 600.$$

Индексы удерживания аддитивны. Согласно правилу аддитивности индекс удерживания соединения представляет собой сумму индексов, соответствующих отдельным связям или структурным элементам молекулы. Иными словами, индекс удерживания соединения есть сумма индексов функциональных групп, образующих данное соединение:

$$I = I_{\text{сн}} + \sum n_k I_k,$$

где $I_{\text{сн}}$ — индекс удерживания углеводорода, например бензола; n_k — число функциональных групп; I_k — индекс структурной группы молекулы.

Если определить индексы удерживания вещества на полярной и неполярной жидких фазах, то разность индексов ΔI на фазах может служить мерой полярности жидкой фазы и вещества. Она позволяет сделать заключение о структуре исследуемого вещества.

Существуют и нехроматографические методы идентификации — инфракрасная спектроскопия (ИК-спектроскопия), масс-спектрометрия, ядерно-магнитный резонанс (ЯМР) и т. д. Из всех спектроскопических методов, используемых для идентификации в газовой хроматографии, метод ЯМР имеет наименьшую чувствительность, но он дает специфическую информацию для определения структуры анализируемых соединений.

1.2.4.2. Количественный анализ

Количество вещества в хроматографической зоне пропорционально площади (Π) хроматографического пика на хроматограмме. Существует несколько методов определения площади пиков, основанных на предположении, что форма пика отвечает кривой Гаусса. Чаще всего Π определяют как произведение высоты пика h на его ширину на половине высоты $l_{0.5}$ (рис. 33):

$$\Pi = h \cdot l_{0.5}.$$

Точность измерения площади пика этим методом определяется точностью измерения h и $l_{0.5}$ на хроматограмме. Поскольку высота пика обычно много больше его ширины, то точность измерения в первую очередь определяется точностью измерения $l_{0.5}$. Поэтому при измерении ширины узких пиков (меньше 10 мм) желательно пользоваться измерительной лупой и учитывать при этом толщину линии на хроматограмме.

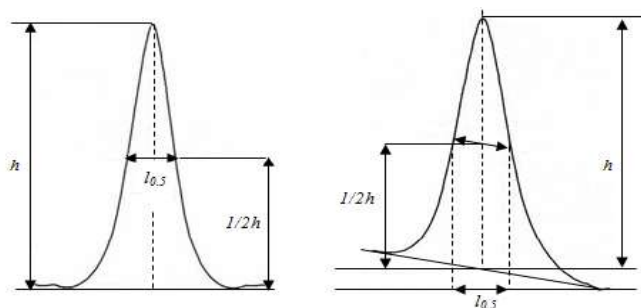


Рис. 33. Определение площади пиков

В современных хроматографах, управляемых с помощью компьютера, хроматограмма выписывается на экране монитора. Время удерживания и площадь пиков измеряются автоматически и выводятся на экран.

Как уже отмечалось, при перегрузке колонки анализируемым веществом, при наличии остаточной адсорбционной активности твердого носителя получают асимметричные пики (рис. 34)

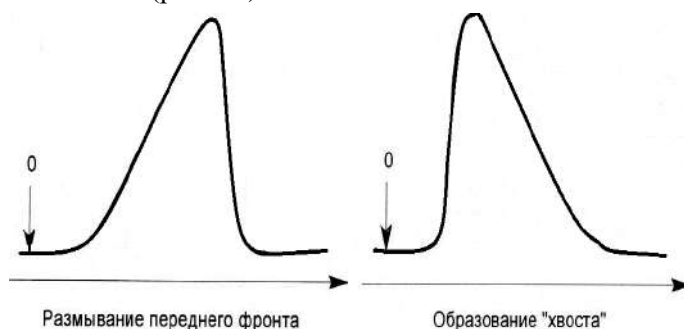


Рис. 34. Асимметричные пики на хроматограммах

Перегрузка колонки приводит к образованию размытого фронта, остаточная адсорбционная активность приводит к образованию хвоста. Для устранения асимметрии первого типа уменьшают количество подаваемой в колонку

пробы. Асимметричность «хвоста» устраняется соответствующей обработкой носителя и фазы.

Для численного выражения асимметричности предложено использовать коэффициент асимметричности:

$$K_{AC} = P_A / P_B,$$

где P_A и P_B — площади между осевой линией пика и задним или передним его фронтом соответственно (рис. 35).

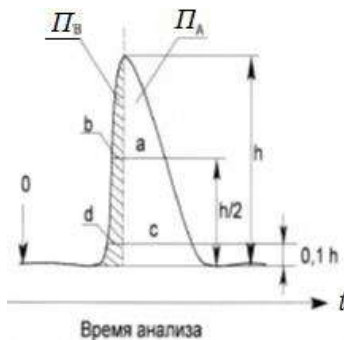


Рис. 35. Учет асимметричности пиков

Для симметричного пика $K_{AS} = 1$. В случае остаточной адсорбции $K_{AS} > 1$, при «перегрузочных» пиках $K_{AS} < 1$. Обработка хроматограмм с асимметричными пиками, как правило, проводится с меньшей точностью. Считается допустимым работать на колонке, имеющей K_{AS} для всех компонентов анализируемой смеси в пределах 0,7–1,5.

Образование хвостов («хвостование») зависит и от природы анализируемых соединений. Обычно менее всего искажаются пики насыщенных углеводов практически на всех неподвижных фазах, наиболее сильно — пики высокополярных соединений (воды, органических и минеральных кислот и т. п.). С этой позиции аналитическая колонка может оказаться пригодной для анализа соединений одного класса и совершенно непригодной для анализа соединений другого класса. Следует провести исследования с целью подбора фазы, не дающей хвосты на хроматограмме. Например, для анализа органических кислот предложена сложная НЖФ, содержащая полиэтиленгликольадипат (15%), апиезон L (5%) и ортофосфорную кислоту (3% от массы носителя).

Существуют методики, позволяющие рассчитать площади лишь частично разделенных пиков. На рис. 36 приведена такая методика для обработки двух

гауссовых пиков, когда огибающая имеет минимум (метод корректировки высоты Бартлета и Смита). При наложении двух пиков происходит искажение измеряемых параметров пика (высоты и ширины). При этом степень искажения параметров зависит от полноты разделения и соотношения высот соседних пиков.

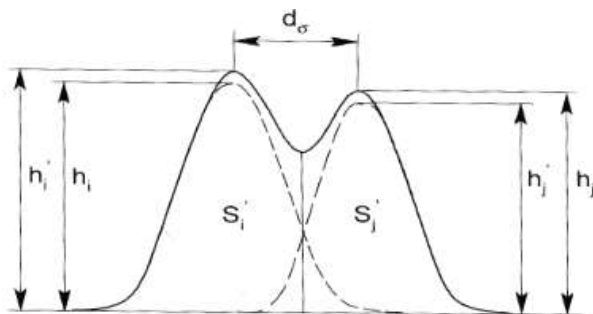


Рис. 36. Определение площадей частично разделенных пиков

Площадь пика на хроматограмме зависит не только от количества вещества в хроматографической зоне, но и от характеристик детектора и условий проведения анализа. Так, для различных веществ при равной их концентрации в анализируемой смеси на хроматограмме получаются пики неодинаковой площади.

Поэтому для проведения количественного анализа недостаточно определить площади хроматографических пиков, а необходимо еще установить для каждого вещества пробы коэффициент пропорциональности между площадью пика и его концентрацией в анализируемой смеси, другими словами, следует провести *калибровку детектора* в выбранных условиях анализа. Обычно применяют следующие методы калибровки.

1. Метод абсолютной калибровки. В этом методе экспериментально определяют для каждого компонента анализируемой смеси зависимость площади хроматографического пика от абсолютного его количества в пробе. Эту зависимость обычно представляют в виде графика или эмпирического уравнения. Необходимо отметить, что абсолютная калибровка должна периодически проверяться и корректироваться. При повторных калибровках можно ограничиться проверкой нескольких точек на градуировочной кривой.

2. Метод внутреннего стандарта. В этом методе в анализируемую смесь вводят вещество (внутренний стандарт) с известной концентрацией C_c . Это вещество выбирается так, чтобы оно выходило в том же временном диапазоне, что

и определяемые вещества смеси, но его пик не должен перекрываться с другими хроматографическими пиками. Предварительно для каждого вещества смеси получают калибровочный график (или уравнение), связывающие Π_i/Π_C с C_i/C_C , где Π_i и Π_C — площади пиков анализируемого i -го вещества и внутреннего стандарта, C_i — концентрация анализируемого вещества в калибровочной смеси. При проведении анализа на хроматограмме определяют площади пиков анализируемых веществ и внутреннего стандарта, вычисляют их отношение и по калибровочному графику находят C_i/C_C . Далее по известной C_C рассчитывают неизвестные концентрации веществ C_i .

Использование метода внутреннего стандарта позволяет существенно увеличить точность измерений и делает ненужной периодическую коррекцию калибровочного графика. Действительно, изменение условий хроматографирования в одинаковой степени сказывается на изменении параметров пиков стандартного вещества и компонентов пробы, а их отношение остается прежним.

Другое преимущество метода заключается в том, что он позволяет анализировать смеси, не все компоненты которой разделяются и фиксируются детектором.

Для повышения точности анализа желательно, чтобы вещество, используемое в качестве стандарта, было близко к определяемым компонентам по величине удерживания и содержанию в анализируемой смеси.

3. Метод простой нормировки. Метод основан на предположении, что вещества, независимо от их строения, взятые в одинаковом количестве, дают одну и ту же площадь пика на хроматограмме, т. е. чувствительность детектора по отношению ко всем веществам одинакова. Это выполняется, если вещества химически сходны, а в качестве газа-носителя выступает газ, теплопроводность которого значительно больше, чем теплопроводность анализируемых веществ (водорода или гелия).

Для количественного анализа суммируют площади всех пиков и делят площадь каждого отдельного компонента на сумму площадей. После умножения на 100 получают содержание веществ в процентах. Площадь определяют как произведение высоты пика на его ширину, измеренную на полувысоте:

$$x_i = \frac{\Pi_i}{\sum_n \Pi_i} 100\% . \quad (1.45)$$

4. Метод нормировки с калибровочными коэффициентами. Метод учитывает различную чувствительность детектора по отношению к компонентам смеси. Вычисления ведут по уравнению:

$$x_i = \frac{\Pi_i k_i}{\sum_n \Pi_i k_i} 100\%, \quad (1.46)$$

где k_i — калибровочный коэффициент i -го вещества. Его определяют из отношения известной концентрации вещества x_i (в калибровочном растворе) к той концентрации, которая получается при ее определении из площадей пиков.

Иногда в литературе приводятся так называемые *поправочные коэффициенты*, т. е. калибровочные коэффициенты k_i веществ, отнесенные к калибровочному коэффициенту k_{cm} вещества, выбранного за стандарт:

$$k_i' = \frac{k_i}{k_{cm}}. \quad (1.47)$$

Тогда концентрации анализируемых веществ рассчитывают по уравнению

$$x_i = \frac{\Pi_i k_i'}{\sum_n \Pi_i k_i'} 100\%. \quad (1.48)$$

1.3. Применение хроматографии в физико-химических исследованиях

Коэффициент распределения (Генри) Γ и константа адсорбционного равновесия b являются термодинамическими величинами, поэтому их значения и их температурная зависимость позволяют определить термодинамические характеристики ΔG , ΔH , ΔS процессов распределения, ответственных за движение зон в хроматографических системах.

Другим важным преимуществом хроматографического метода исследования является возможность работать в области практически бесконечного разбавления. Это особенно важно при исследовании межмолекулярных взаимодействий, при которых необходимо получать данные по взаимодействию молекул данного вещества только с поверхностью неподвижной фазы в условиях, когда взаимодействия между молекулами самого вещества отсутствуют.

Несомненными достоинствами хроматографических методов является также возможность работать с очень малыми количествами веществ, что осо-

бенно важно в случае исследования дорогостоящих или токсичных веществ; возможность проводить исследования в широком интервале температур и давлений, используя стандартное хроматографическое оборудование; экспрессность исследований.

Основные области использования хроматографии в физико-химических исследованиях:

- исследование химии и структуры поверхности твердых тел;
- исследование полимерных материалов;
- исследование межмолекулярных взаимодействий;
- хроматоскопия;
- исследование процессов диффузии и массообмена;
- исследование процессов модифицирования твердых тел;
- исследование адсорбционных равновесий;
- исследование фазовых равновесий.

Часто для физико-химических исследований используют *обращенную газовую хроматографию*. В ней объектом исследования являются не жидкая или газовая пробы, подаваемые в хроматограф, а сама неподвижная фаза, помещенная в колонку. Для этого исследуемое вещество измельчают или наносят в виде пленки на инертный носитель. Полученную фазу набивают в хроматографическую колонку и далее в токе газа-носителя подают тестирующие вещества, обычно различной полярности. Измеряют времена их удерживания t_R при различной температуре. Рассмотрим несколько примеров такого применения хроматографии.

1.3.1. Получение изотерм адсорбции

Теория хроматографического разделения позволяет, используя хроматограмму вещества, построить изотерму его сорбции на исследуемой неподвижной фазе. Форма пика (симметричный или несимметричный) определяется видом изотермы сорбции компонента. Если изотерма линейная (подчиняется закону Генри), то пик имеет симметричный вид (рис. 37(1)). Если изотерма адсорбции выпуклая (первого типа или второго типа), то у хроматографического пика размыта задняя граница — «хвост» (рис. 37(2)). При вогнутой изотерме адсорбции (третьего типа) у пика размыт фронт (рис. 37(3)).

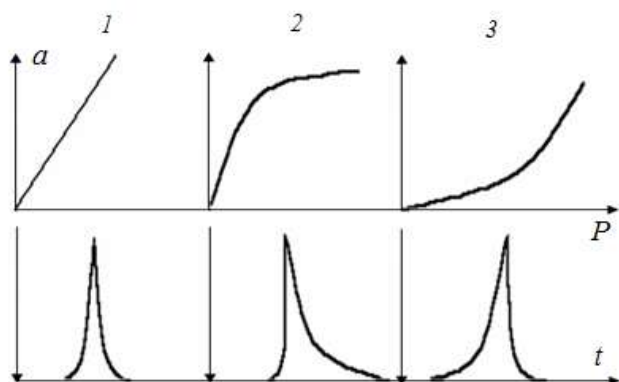


Рис. 37. Изотермы сорбции и соответствующие им хроматографические пики

Для построения изотерм и изостер адсорбции вычисляют абсолютную адсорбцию a по уравнению:

$$a = \frac{m_a \cdot \Pi_a}{g \cdot \Pi_n}, \quad (1.49)$$

где Π_n — площадь пика на хроматограмме при введении m_a молей адсорбата; Π_a — площадь фрагмента хроматограммы между линией, соответствующей времени удерживания несорбирующегося газа, и растянутым краем пика и ограниченная высотой h (заштрихованная область на рис. 38); g — масса сорбата в колонке. Площади Π_a и Π_n обычно определяют взвешиванием фрагментов хроматограммы на аналитических весах (отношение площадей пиков в уравнении равно отношению их масс).

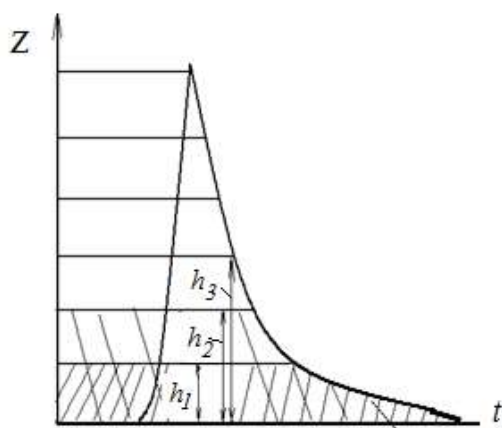


Рис. 38. Обработка хроматограммы с целью построения изотермы сорбции

Парциальные давления адсорбата вычисляют по уравнению

$$P = \frac{m_a u_l h \cdot RT}{\Pi_n \cdot \omega}, \quad (1.50)$$

где ω — объемная скорость газа-носителя ($\text{м}^3/\text{с}$); R — универсальная газовая постоянная ($\text{Дж/моль} \cdot \text{К}$); T — температура термостата колонок (К); u_l — скорость движения диаграммной ленты (м/с). В современной хроматографии запись элюентной кривой осуществляют не на ленту, а на экран монитора, и формально диаграммной ленты нет, как не может быть и ее скорости. Однако аналог этой величины имеется: по мере записи время на хроматограмме сжимается и одной и той же ширине экрана (выводится при печати как l) соответствует различное время t . Тогда входящее в уравнение $u_l = l/t$.

Вычислив a и соответствующие им P , строят изотермы адсорбции в координатах $a = f(P)$.

1.3.2. Определение теплоты растворения (абсорбции) и теплоты адсорбции веществ в неподвижной фазе хроматографа

Методом обращенной газовой хроматографии можно определить теплоты растворения (в газожидкостной хроматографии) и теплоты адсорбции (в газоадсорбционной хроматографии). Для этого получают зависимость времени удерживания t_R исследуемого вещества от температуры. Вычисляют удельные удерживаемые объемы V_g при различных T и строят график в координатах $\ln V_g$ от $1/T$ (рис. 39). Из тангенса угла наклона прямой, проведенной через точки, вычисляют дифференциально-молярную теплоту сорбции при максимальной концентрации адсорбата в газовой фазе: $q_{st} = R \cdot \text{tg} \alpha$.

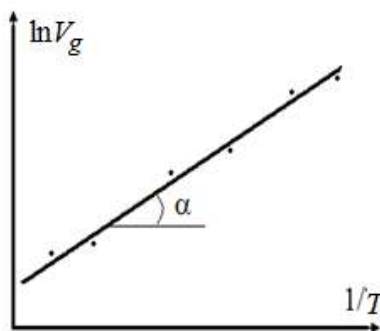


Рис. 39. Вычисление теплоты сорбции из хроматографических данных

Отношение q_{st} для воды (полярного вещества) и гептана (неполярного вещества) может служить мерой гидрофильности поверхности сорбента в колонке.

В работе В. Ю. Конюхова «Исследование адсорбционных свойств красочных пигментов методом газовой хроматографии» [28] таким путем были измерены теплоты адсорбции воды и гептана на поверхности красочных пигментов.

Исследуемые пигменты помещали в хроматографическую колонку длиной 40 см и диаметром 3 мм. Тестирующие вещества вводили в испаритель хроматографа с помощью микрошприца объемом 1 мкл. Получали хроматограммы адсорбатов в интервале температур 333–443 К. На рис. 40 схематически приведены полученные опытные данные. Как видно из рисунка, для обоих тестирующих веществ наблюдается линейная зависимость в координатах $\ln V$ от $1/T$, это позволило вычислить дифференциально-молярные изостерические теплоты адсорбции при максимальной концентрации адсорбата в газовой фазе q_{st} . Они оказались равными: $-35,2$ кДж/моль для воды и $-6,8$ кДж/моль для гептана. Таким образом, поверхность пигмента пурпурного имеет ярко выраженные гидрофильные свойства: отношение теплот адсорбции воды и гептана равно 5,2.

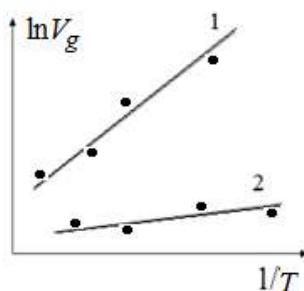


Рис. 40. Зависимость объемов удерживания воды (1) и гептана (2) на пигменте пурпурном от температуры

1.3.3. Определение коэффициента диффузии вещества в неподвижной фазе

Суть метода заключается в том, что исследуемое вещество (нелетучую жидкость, полимер) помещают в хроматографическую колонку и записывают хроматограммы тестирующих веществ при различных линейных скоростях газ-носителя u . По уравнению (1.23) вычисляют ВЭТТ (H). Далее методом наименьших квадратов вычисляют константы A , B и C уравнения Ван-Деемтера (1.43), связывающего H с u :

$$H = A + \frac{B}{u} + C \cdot u. \quad (1.51)$$

Коэффициент диффузии D тестирующего вещества в неподвижной фазе рассчитывают из полученного значения константы C :

$$C = \frac{8d_f^2 k'}{\pi^2 D \cdot (1+k')^2}, \quad (1.52)$$

где d_f — толщина пленки полимера; k' — коэффициент емкости.

В качестве примера рассмотрим результаты опытов по определению коэффициентов диффузии веществ в полиэтилентерефталате. Измерения проводили в интервале температур 40–250°C. В качестве газа-носителя применяли гелий, интервал измерения линейной скорости 6–20 см/с; детектором служил катарометр.

Пробы исследуемых веществ (бензола, толуола и т. д.) подавали в испаритель хроматографа с помощью микрошприца объемом 1 мкл. Полимер наносили на инертный адсорбент (стеклянные шарики) из раствора в бензиловом спирте. В табл. 1.9 приведены результаты измерений и расчетов коэффициентов диффузии толуола.

Таблица 1.9

Измеренные коэффициенты диффузии толуола при различных температурах

$T, ^\circ\text{C}$	40	70	80	100
$D \cdot 10^{12}, \text{м}^2/\text{с}$	1,92	3,71	5,72	9,76

Для бензола коэффициент диффузии при 40°C оказался равен $2,85 \cdot 10^{-12} \text{ м}^2/\text{с}$, это значение несколько выше, чем для толуола при указанной температуре. Вычисленные значения D и энергия активации диффузии толуола по порядку величины соответствуют литературным данным.

1.3.4. Определение температуры стеклования полимеров

В хроматографическую колонку загружают полимер. С помощью хроматографического шприца подают пробы тестирующего вещества (адсорбата) и регистрируют время их удерживания t_R при различных температурах. По перегибам на кривых $\ln t_R = f(1/T)$ определяют температуры физических или фазовых переходов в полимере. Появление перегибов обусловлено изменением механизма сорбции: ниже температуры стеклования полимера молекулы адсорбата практически не проникают вглубь твердой полимерной фазы и удерживание их

в хроматографической колонке определяется лишь адсорбцией на поверхности полимера. При температурах выше температуры стеклования макромолекулы приобретают возможность менять конформации и становится возможной диффузия молекул адсорбата вглубь фазы полимера. Наряду с адсорбцией происходит абсорбция, в результате чего, начиная с T_c , наблюдается некоторое увеличение t_R . При дальнейшем повышении T вплоть до температуры плавления равновесная сорбция уменьшается, что вновь приводит к снижению времени удерживания.

В качестве примера приведем данные по определению температуры стеклования сополимера бутадиена и стирола (ДСТ-30). Исследуемые полимеры и смеси полимеров наносили на инертный носитель из растворов в толуоле. В качестве газа-носителя применяли гелий, детектором служил катарометр, тестирующие вещества — четыреххлористый углерод и толуол.

В качестве иллюстрации на рис. 42 в координатах $\ln t_R$ от $1/T$ представлены полученные данные: линия 1 отвечает температурной зависимости времени удерживания толуола, линия 2 — CCl_4 . Температура стеклования ДСТ-30 (жесткого блока), найденная из опытов по сорбции толуола, оказалась равной 79–85°C, из опытов по сорбции CCl_4 — 80–86°C. В обоих случаях значение T_c близко к определенному методом дифференциальной сканирующей калориметрии (~81°C).

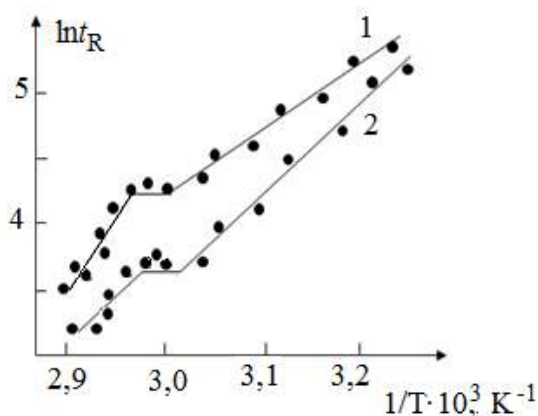


Рис. 41. Зависимость времени удерживания толуола (1) и CCl_4 (2) на ДСТ от температуры в координатах $\ln t_R = f(1/T)$

1.3.5. Определение термодинамических параметров взаимодействия полимер — растворитель

Одной из особенностей растворов полимеров является их неидеальное поведение (неподчинение закону Рауля) при самых малых концентрациях. Отрицательные отклонения от закона Рауля свидетельствуют о сильном сродстве компонентов раствора друг к другу, а положительные — о слабом. Отклонения от идеальности в растворах обуславливаются несоблюдением следующих условий:

$$\Delta_{\text{см}}H \neq 0 \text{ и } \Delta_{\text{см}}S \neq \Delta_{\text{см}}S^{\text{ид}},$$

где $\Delta_{\text{см}}H$ и $\Delta_{\text{см}}S$ — энтальпия и энтропия смешения. Характеристикой отклонения от идеальности в растворах могут служить избыточные термодинамические функции смешения (обозначаются индексом E).

Если изменения энергии Гиббса, энтальпии и энтропии смешения, сопровождающие образование реального раствора, обозначить через $\Delta_{\text{см}}G$, $\Delta_{\text{см}}H$ и $\Delta_{\text{см}}S$, а изменение этих же функций при получении идеального раствора — через $\Delta_{\text{см}}G^{\text{ид}}$, $\Delta_{\text{см}}H^{\text{ид}}$ и $\Delta_{\text{см}}S^{\text{ид}}$, то избыточные функции можно записать как разность:

$$G^E = \Delta_{\text{см}}G - \Delta_{\text{см}}G^{\text{ид}}, \quad (1.53)$$

$$S^E = \Delta_{\text{см}}S - \Delta_{\text{см}}S^{\text{ид}}. \quad (1.54)$$

Поскольку при образовании идеального раствора $\Delta_{\text{см}}H^{\text{ид}} = 0$, то

$$H^E = \Delta_{\text{см}}H. \quad (1.55)$$

Уравнения (1.53–1.55) справедливы для избыточных парциальных мольных термодинамических функций смешения (избыточных по сравнению с идеальными растворами). Избыточные термодинамические функции смешения могут быть вычислены из соотношений:

$$G^E = RT \cdot \ln \gamma_2. \quad (1.56)$$

$$H^E = R \frac{d \ln \gamma_2}{d(1/T)}. \quad (1.57)$$

$$S^E = \frac{H^E - G^E}{T}. \quad (1.58)$$

Величина $\ln \gamma_2$ может быть определена из хроматографических данных по уравнению:

$$\ln \gamma_2 = \ln \frac{273 \cdot R}{V_g \cdot P_2^0 \cdot M_1} - \frac{P_2^0}{R \cdot T} (B_{11} - V_2). \quad (1.59)$$

Здесь B_{11} — второй вириальный коэффициент сорбата при температуре колонки, V_2 — его молярный объем, P_2^0 — давление насыщенного пара чистого адсорбата, V_g — приведенный удельный объем его удерживания.

По этим уравнениям можно определить избыточные термодинамические функции смешения полимера с растворителем.

Применение хроматографии в теории Флори — Хаггинса позволяет определять параметры Флори — Хаггинса χ по уравнению:

$$\chi = \ln \frac{273 \cdot R \cdot v_2}{V_g P_2^0 V_2} - \left(1 - \frac{V_2}{M_1 v_2}\right) - \frac{P_2^0}{RT} (B_{11} - V_2), \quad (1.60)$$

где v_2 — удельный объем адсорбата (подробнее о параметре Флори — Хаггинса см. в разделе 2.2.2.3).

Для вычислений по уравнению (1.60) необходимо знать величину второго вириального коэффициента сорбата. Для неполярных веществ B_{11} можно рассчитать по формуле:

$$\frac{B_{11} P_{кр}}{RT_{кр}} = \frac{9}{128} \left[1 - 6 \left(\frac{T_{кр}}{T}\right)^2\right]. \quad (1.61)$$

Здесь $T_{кр}$ и $P_{кр}$ — критические температура и давление адсорбата. Таким образом, используя экспериментально определенные величины удерживаемых объемов, с помощью уравнения (1.60) можно рассчитать параметр термодинамического взаимодействия Флори — Хаггинса.

1.4. Жидкостная хроматография

Подвижной фазой в жидкостной хроматографии является жидкость. Жидкостная хроматография используется в двух вариантах: колоночная и плоскостная (планарная).

1.4.1. Колоночная жидкостная хроматография (КЖХ)

1.4.1.1. Адсорбционная и распределительная КЖХ

1.4.1.1.1. Конструктивные особенности аппаратуры для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

Вязкость жидкостей на два порядка выше вязкости газов (табл. 1.10), поэтому гидравлическое сопротивление колонок с жидкостью намного выше, чем с газом. Следовательно, для осуществления движения жидкости через колонку необходимо на входе оказывать на нее высокое давление. В самом распростра-

ненном варианте колоночной жидкостной хроматографии — *высокоэффективной жидкостной хроматографии* (ВЭЖК) — давление на входе в колонку достигает 6–40 МПа, при этом обеспечивается объемная скорость жидкости через колонку 0,2–5 см³/мин.

Таблица 1.10

Сравнение некоторых свойств газов и жидкостей

Параметры	Газ	Жидкость
Коэффициент диффузии D , см ² /г	1–10 ^{–1}	10 ^{–5}
Плотность ρ , г/см ³	10 ^{–3}	1,0
Вязкость η , Пуаз	10 ^{–4}	10 ^{–2}

Для снижения гидравлического сопротивления применяют короткие колонки, их длина обычно составляет 10–100 см, их диаметр 2–6 мм. Колонки чаще всего изготавливают из нержавеющей стали, тантала или стекла.

Ввод пробы в колонку осуществляют либо с помощью крана-дозатора с калибровочной петлей определенного объема, либо шприцем. Понятно, что использование шприца при столь высоких давлениях должно иметь защиту от выбивания жидкой пробы в момент прокалывания резиновой мембраны. Поэтому чаще пробу вводят, сбрасывая давление до атмосферного, остановив поток растворителя. После ввода пробы давление на входе в колонку восстанавливают. Однако этот процесс растянут во времени, поэтому абсолютное время удерживания веществ становится неопределенным. По этой причине при хроматографировании применяют *внутренний стандарт*, относительно которого определяют относительное время удерживания вещества $t_{\text{отн}}$:

$$t_{\text{отн}} = \frac{t}{t_{\text{ст}}}.$$

Жесткие требования предъявляются к мембранам, используемым для ввода пробы. Они должны выдерживать не только высокие давления, но и быть устойчивыми к действию растворителей. Обычно применяют *силиконовые резины*.

Насосы

Для подачи жидкости в колонку используются насосы (хроматография высокого давления). Наиболее распространенными в ВЭЖХ являются *насосы плунжерного типа*. Плунжерный насос работает как обычный шприц, его основными

элементами являются камера с поршнем (головка) и двумя клапанами — на входе и на выходе. Непрерывность потока жидкости обеспечивается применением двухплунжерного варианта, когда два поршня двигаются в противофазе. В то время, когда одна головка насоса работает на забор жидкости, другая обеспечивает её подачу, и наоборот. Выходы с головок объединяются в одну линию, на которой установлен сливной клапан, перекрытый в обычном режиме работы. Он открывается при замене элюента или при промывке насоса.

Поршень представляет собой сапфировый стержень; основными элементами клапана являются рубиновый шарик и рубиновое седло для шарика. Камера головки изготовлена из стали. Между поршнем и камерой есть полимерное уплотнение (как правило, из тефлона).

Если применяемые элюенты содержат соли, уплотнения рекомендуется менять каждый год. Дело в том, что кристаллики соли, оседающие при постепенном испарении элюента на поршнях, шариках и седлах клапанов, могут повреждать уплотнения. Для устранения этого процесса в конце рабочего дня всю жидкостную систему следует промыть дистиллированной водой и заполнить её водой с небольшой долей органического растворителя. Если работа ведется только на водных элюентах, то на ночь систему можно заполнять чистым ацетонитрилом или смесью ацетонитрил — вода 1:1.

Инжектор

Для ввода пробы в хроматограф обычно применяют *ручной инжектор*-кран, фиксирующийся в двух положениях. В положении «загрузка» (load) жидкая проба с помощью аналитического шприца подаётся в дозирующую петлю. В положении «ввод» (inject) жидкая проба поступает из дозирующей петли в хроматографическую колонку. Инжектор находится в положении «inject» до введения следующей пробы.

Стандартный ручной инжектор представляет собой шестиходовой кран. Один из его выходов, находящийся на лицевой стороне, служит для подачи пробы с помощью аналитического шприца. Оставшиеся пять выходов находятся на задней стороне инжектора: два из них заняты дозирующей петлей, один ведет к насосу, другой — к колонке, и последний выход служит сливом избытка пробы из дозирующей петли.

В положении «загрузка» дозирующая петля выключена из жидкостной системы прибора. Элюент под давлением поступает напрямую в колонку, что позволяет вручную при атмосферном давлении заполнить дозирующую петлю.

В положении «ввод» дозирующая петля включается в общую жидкостную систему, что приводит к переносу пробы вместе с потоком элюента на колонку.

Соединение блоков в единую жидкостную систему

Соединение блоков хроматографа — насосной системы, инжектора, колонки и детектора — осуществляют с помощью капилляров и фитингов. Капилляр для ВЭЖХ представляет собой трубку с внутренним диаметром 50–300 мкм. Раньше применялись стальные капилляры, но в настоящее время практически везде применяют пластмассовые капилляры из РЕЕК (polyetheretherketone). Все соединения капилляров между собой и с блоками хроматографа осуществляются при помощи специальных зажимных уплотнительных винтов — фитингов. *Фитинг* состоит из зажимного винта и конусообразного уплотнения — *ферулы*. Винт и ферула обычно изготавливают как единое целое из РЕЕК. Такой фитинг, как правило, уплотняется вручную. Если винт отделен от ферулы, то ферула выполняется из РЕЕК, а винт — из стали, под гаечный ключ. Такой фитинг можно аккуратно «подтянуть» гаечным ключом.

Колонка с инжектором и детектором и капилляры друг с другом соединяются при помощи капилляров и фитингов.

1.4.1.1.2. Детекторы для ВЭЖХ

Детекторы ВЭЖХ подразделяют на селективные и универсальные. Селективные детекторы избирательно регистрируют конкретный тип соединений, которые имеют одно общее свойство, отсутствующее у других веществ, либо фиксируют изменение какого-либо физико-химического свойства растворителя, выходящего из колонки, обусловленного наличием в нем анализируемых веществ. Это может быть изменение оптических свойств элюента (в ИК-, УФ- или видимой области), его показателя преломления, способности флуоресцировать, окисляться и т. п.

Универсальные детекторы способны регистрировать все (большую группу) соединения. Типичным примером может служить рефрактометр.

Основные требования, которым должен удовлетворять детектор (идеальный):

- отклик на все вещества с прогнозируемым пределом обнаружения;
- быстрый отклик на любое вещество при отсутствии реакции на изменение свойств подвижной фазы (скорости потока, состава, температуры);
- высокая чувствительность;

- широкий линейный диапазон (10^5 и более);
- неdestructивность;
- возможность проведения количественного анализа;
- простота в использовании и дешевизна.

Большинство химических соединений имеют интенсивные полосы поглощения в диапазоне длин волн 200–800 нм. Это обуславливает наибольшее распространение *фотометрических методов детектирования*. По меньшей мере 65% всех смесей, исследуемых методом ВЭЖХ, содержат компоненты, поглощающие УФ-излучение на длине волны 254 нм, и для применения УФ-детекторов необходимы лишь подходящие растворители, прозрачные в указанном диапазоне. Такие детекторы характеризуются высокой чувствительностью для поглощающих свет соединений, большим линейным диапазоном (около 5 порядков), малым рабочим объемом ячеек ~1 мкл. Они неdestructивны, относительно нечувствительны к колебаниям потока подвижной фазы и изменениям температуры, обеспечивают работу в градиентном режиме. К недостаткам УФ-детектора можно отнести его неуниверсальность и непрозрачность некоторых подвижных фаз по отношению к УФ-излучению в интересующей области длин волн.

Фотометрический детектор. Фотометры (обозначаются аббревиатурой УДФ) наиболее дешевые и простые по конструкции, применяются в ВЭЖХ для выполнения массовых анализов. Источником света является ртутная лампа низкого давления; детектирование проводится на длине волны 254 нм, которой соответствует 90% энергии излучения лампы. Свет от источника излучения проходит через рабочую микрокювету, в которую из хроматографической колонки поступает поток элюента, и микрокювету сравнения. Сигналы от обоих фотоприемников сравниваются, их разница во времени дает на хроматограмме пик:

- спектрофотометрические детекторы с плавно изменяемой длиной волны, предназначенные для регистрации поглощения в определенной области УФ-спектра (принятая аббревиатура — СПФ);
- спектрофотометрические детекторы на фотодиодных линейках (иное название — спектрофотометрические детекторы на диодных матрицах, СПФ ДМ или проще ДМД).

Рефрактометрический детектор. Является универсальным детектором в жидкостной хроматографии и совместим практически с любой подвижной фазой. Это недеструктивный концентрационный детектор. Он непрерывно регистрирует изменения показателя преломления элюата на выходе из колонки. В свою очередь, показатель преломления меняется пропорционально изменению концентрации растворенного вещества. Рефрактометр широко применяется в хроматографическом анализе и особенно полезен в тех случаях, когда анализируемые вещества не поглощают в УФ-области спектра, не обладают флуоресценцией и электрохимической активностью. Поскольку рефрактометр реагирует на весь поток в целом, он обладает меньшей чувствительностью по сравнению со спектроскопическими или электрохимическими детекторами. Это детектор средней чувствительности. Чувствительность может быть повышена за счет правильного выбора подвижной фазы, а именно — при использовании элюента с очень высоким или очень низким показателем преломления.

Показания рефрактометрического детектора в значительной степени зависят от колебаний параметров, влияющих на свойства подвижной фазы: температуры, концентрации анализируемого вещества, пульсаций потока подвижной фазы (флуктуации потока не должны превышать $0,01 \text{ см}^3/\text{мин}$ на выходе из колонки), давления. Существуют рефрактометрические детекторы трех типов.

Рефрактометр оптического отклонения (наиболее распространен). Луч света проходит через кювету, содержащую две ячейки (рабочую и сравнительную), заполненные жидкостями с различными показателями преломления, при этом луч отклоняется на угол, пропорциональный разности этих показателей преломления. Если же показатели преломления жидкостей в обеих ячейках кюветы одинаковы, отклонения луча не происходит. Преимуществами детектора являются широкий диапазон линейности и малый объем ячеек (10 мкл).

Рефрактометр Френеля. Луч света падает на поверхность раздела двух оптических сред. Количество света, отраженного от поверхности раздела двух фаз (жидкость/стекло), пропорционально разности показателей преломления и углу падения света на поверхность раздела. Если угол падения подобрать таким образом, чтобы угол проникновения был $\sim 90^\circ$ (т. е. близок к полному углу отражения), то небольшие изменения показателя преломления приведут к значительным изменениям интенсивности отраженного луча. Вместимость кювет состав-

ляет 3–5 мкл, т. е. возможна работа при небольших расходах элюента. Рефрактометр Френеля наиболее чувствителен к пульсациям потока, имеет меньший линейный диапазон. Высокие требования предъявляются к чистоте стекол.

Интерферометр. Коэффициент преломления измеряется методом интерференции света. Интерферометр имеет две проточные кюветы объемом ~5 мкл. Чувствительность и линейный диапазон в несколько раз больше, чем у других моделей. Предел обнаружения анализируемых веществ ~3 мкг/мл.

Флуориметрический детектор. Используется для анализа флуоресцирующих веществ. В тех случаях, когда сам по себе образец не флуоресцирует, на колонке можно до или после разделения исследуемого образца получить его флуоресцирующие производные. Чувствительность флуориметров в 100 раз превышает чувствительность УФ-детекторов, однако линейный диапазон для них более узкий — $\sim 10^4$.

В качестве источников излучения обычно используют газоразрядные лампы: ртутную ($\lambda = 254$ нм), цинковую ($\lambda = 214$ и 308 нм).

Электрохимические детекторы. Различают электрохимические детекторы, которые реагируют либо на изменение свойств элюента, либо на свойства конкретного анализируемого соединения. К первому типу относится кондуктометрический детектор, ко второму — амперометрические детекторы. Большинство электрохимических детекторов работают в амперометрическом режиме, при котором поддерживается постоянное напряжение между двумя электродами, погруженными в поток элюента, и регистрируется зависимость силы тока от времени.

Кондуктометрический детектор. Электрическая проводимость раствора зависит от числа (концентрации) ионов — именно эта зависимость и положена в основу работы кондуктометрического детектора. Для подавления электрохимических реакций на поверхности электродов используют переменный ток с частотой от 50 до 1000 Гц и напряжением от 5 до 10 В. Измерения проводят с применением моста сопротивлений Уитстона. Детекторы данного типа наиболее пригодны для определения заряженных соединений в элюате, предпочтительны при анализе малых концентраций ионов.

Вольтамперометрический детектор. Суть вольтамперометрического детектирования заключается в измерении электрического тока в ячейке, возникаю-

щего при окислении (восстановлении) регистрируемого вещества на поверхности рабочего электрода при подаче на него определенной разности потенциалов. Этот детектор обладает высокой чувствительностью, сравнимой с чувствительностью флуоресцентных детекторов. Кроме того, он высокоселективен, поскольку не все вещества легко окисляются или восстанавливаются на электродах.

Вольтамперометрический детектор используют при анализе веществ, обладающих электрохимической активностью, т. е. способностью при определенном потенциале окисляться или восстанавливаться. Вещества, содержащие фенольную, индольную или альдегидную группу, способны окисляться при низких потенциалах (0,4–0,7 В). В качестве рабочего электрода используют электроды из платины, золота, углеродной пасты, графита. Электрод, на котором протекает интересующая нас реакция, и является рабочим электродом. Электрохимические детекторы работают только с проводящей водной подвижной фазой, поэтому они более подходят для обращенно-фазной или ионообменной хроматографии. Для увеличения проводимости подвижной фазы в водный элюент добавляют нитрат калия, перхлорат натрия, а в органический — перхлорат тетраэтиламмония.

Для каждого класса соединений характерно свое напряжение разложения, следовательно, меняя напряжение, можно сделать детектор высокоселективным.

1.4.1.1.3. ВЭЖХ с градиентом состава растворителя

При разделении сложных смесей веществ, особенно биологического и природного происхождения, подобрать сорбент и растворитель, которые обеспечили бы разделение всех или большинства веществ, обычно не удается. Задачу часто удается решить, применяя растворитель, элюирующая сила которого в процессе хроматографирования увеличивается.

Дело в том, что адсорбция из растворов зависит не только от природы адсорбата и адсорбента, но и от природы растворителя. Чем сильнее по полярности отличаются адсорбент и растворитель, тем сильнее адсорбция (правило выравнивания полярностей Ребиндера). Например, известно, что адсорбция спиртов из водных растворов на графитированной саже велика, но при замене воды на бензол может наблюдаться даже отрицательная Гиббсова адсорбция Г. Следовательно, можно менять порядок выхода компонентов из колонки с одной и той же неподвижной фазой, изменяя природу растворителя — подвижной фазы.

Например, при разделении веществ на полярной фазе можно уменьшить их время удерживания, увеличив полярность подвижной фазы. И наоборот, увеличить их время удерживания, уменьшив полярность подвижной фазы.

Аналогично программированию температуры (в газовой хроматографии) в жидкостной хроматографии при градиентной подаче состав растворителя непрерывно меняется так, чтобы по мере выхода слабо удерживаемых компонентов уменьшить коэффициент распределения и тем самым ускорить выход сильно удерживаемых. Это приводит к тому, что как слабо, так и сильно удерживаемые вещества выходят из колонки за приемлемо короткое время, при этом зоны сильно удерживаемых соединений сужаются и дают более узкие и симметричные пики. В настоящее время популярность градиентного элюирования несколько уменьшилась, однако для многих объектов анализа это единственно приемлемый вариант решения задачи разделения компонентов смеси.

Хроматограф для градиентной хроматографии (ГВЭЖХ), как видно из самого определения, должен иметь устройство для изменения состава растворителя по заданной исследователем программе. Это достигается тем, что каждый из растворителей (сильный и слабый) подается своим насосом с переменной скоростью, так чтобы элюирующая сила смеси увеличивалась во времени. То есть, помимо обычных узлов, в хроматографе появляются дополнительно *программатор* (устройство формирования градиента) и управляемые им система клапанов и смеситель. Этим обусловлен первый недостаток ГВЭЖХ — приборы для нее примерно вдвое дороже, чем для *изократической* ВЭЖХ.

Кроме того, в состав системы для ГВЭЖХ добавляют дорогое устройство для эффективной дегазации растворителей. Это связано с тем, что при смешении плохо дегазированных растворителей всегда выделяются пузырьки, так как растворимость воздуха в смеси растворителей обычно меньше растворимости его в чистых компонентах. Пузырьки газа могут попасть в клапанную систему, в насос и нарушить их работу.

Вызывает также затруднение полное смешение сильного и слабого растворителей, поступающих в смеситель. Неоднородность же потока вызывает заметное увеличение шумов детектора.

Наконец, при градиентном элюировании практически исключается использование рефрактометрического детектора, так как изменение показателя преломления при изменении состава растворителя приводит к нарушению его работы.

Выбор сорбента и колонки для ГВЭЖХ также имеет свои особенности. Прежде всего, сорбент должен быстро приходить в равновесие с растворителем постоянно изменяющегося состава как в процессе градиентного элюирования, так и при возвращении к исходному составу растворителя при подготовке колонки к новому анализу. Время, необходимое для установления равновесия для каждого сорбента, определяется экспериментально по достижении постоянства времени удерживания веществ, входящих в анализируемую смесь. Это время различно как для разных сорбентов, так и для разных по составу растворителей и может колебаться от десятков до нескольких сотен минут.

Наконец, при ГВЭЖХ очень важно правильно выбрать растворитель и добавки в него. Обычно зависимость удерживания от состава элюента (от концентрации добавки) описывают уравнением Скотта:

$$1/V_R = A + B \cdot C_{\text{доб}}, \quad (1.62)$$

где V_R — удерживаемый объем; $C_{\text{доб}}$ — концентрация добавки в элюенте; A, B — эмпирические коэффициенты.

Если при изократической ВЭЖХ небольшие примеси, присутствующие в растворителе, приходят в равновесие с сорбентом и обычно не дают ложных пиков или увеличения шума детектора, то в ГВЭЖХ требования к чистоте растворителей значительно более жесткие.

Например, в случае использования воды, недостаточно очищенной от органических примесей, присутствующих в природной воде или привнесенных в нее в процессе ионообменной очистки, при элюировании проб метанольно-водным или ацетонитрильно-водным градиентным растворителем могут появляться ложные пики.

В любом случае растворители для ГВЭЖХ должны иметь марки чистоты «Для УФ-спектроскопии» или «Для жидкостной хроматографии». Примеси, находящиеся в метаноле или ацетонитриле, точно так же могут накапливаться в колонке и проявляться в виде пиков при градиентной подаче элюента.

Единственным путем установления пригодности растворителей для ГВЭЖХ служит их испытание в реальных условиях хроматографирования с градиентной подачей растворителя требуемого состава, но без введения анализируемых веществ (холостой градиент).

В заключение отметим, что к градиентному элюированию следует прибегать только в тех случаях, когда его применение является единственным путем

решения аналитической задачи. Если же предварительные исследования показали, что возможно использовать изократический вариант хроматографии, следует перейти к нему.

1.4.1.1.4. Неподвижная фаза ВЭЖХ

Коэффициент диффузии D веществ в жидкости на 4–5 порядков меньше, чем в газах (см. табл. 11). Поэтому для интенсификации массообменных процессов между подвижной и неподвижной фазами применяют частицы неподвижной фазы малого размера (3–5 мкм). При этом для уменьшения пути диффузии анализируемых веществ в потоке растворителя следует добиваться того, чтобы зерна были бы как можно плотнее упакованы.

В зависимости от природы неподвижной фазы в ВЭЖХ различают следующие ее варианты.

1. *Адсорбционная ВЭЖХ.* Разделение в адсорбционной жидкостной хроматографии осуществляется в результате взаимодействия анализируемых веществ с адсорбентом неподвижной фазы и растворителем. Их природа — диполь-дипольное взаимодействие между постоянными или индуцированными диполями, образование водородной связи, образование π -комплексов или комплексов с переносом заряда. Возможна и хемосорбция, которая может привести к значительному повышению времени удерживания, резкому снижению эффективности, появлению продуктов разложения или необратимой сорбции веществ.

Изотермы адсорбции веществ могут быть линейными, выпуклыми и вогнутыми. При линейной изотерме адсорбции пик вещества симметричен и время его удерживания не зависит от массы пробы. Чаще всего изотермы адсорбции веществ нелинейны и выпуклы, что приводит к некоторой асимметрии пиков с образованием «хвоста».

Наибольшее применение в ВЭЖХ находят адсорбенты из силикагеля. Значительно реже используется оксид алюминия и крайне редко — другие адсорбенты, широко применяемые в классической колоночной и тонкослойной хроматографии. Основная причина этого заключается в недостаточной механической прочности большинства адсорбентов, не позволяющей использовать их при повышенных давлениях, характерных для ВЭЖХ.

Полярные группы, обуславливающие адсорбцию и находящиеся на поверхности силикагеля и оксида алюминия, по свойствам близки. Поэтому обычно порядок элюирования веществ и элюотропный ряд растворителей для

них одинаковы. В тех же случаях, когда селективности адсорбентов различаются, предпочтение отдают более подходящему для данной конкретной задачи. Например, оксид алюминия обеспечивает лучшую избирательность при разделении некоторых многоядерных ароматических углеводородов.

В настоящее время адсорбционная хроматография практически полностью вытеснена обращенно-фазной и нормально-фазной ВЭЖХ. Это объясняется большой продолжительностью процесса установления равновесия адсорбентов с растворителем, в микроколичествах содержащим воду, и трудностью приготовления растворителей с определенной и воспроизводимой влажностью. Это обуславливает низкую точность анализа. По этой же причине невозможно использовать градиентное элюирование, так как возврат к исходному состоянию системы слишком длителен.

Недостатком адсорбентов, особенно оксида алюминия, является также их каталитическая активность. Получающиеся в результате каталитических реакций вещества могут необратимо сорбироваться, накапливаясь на начальном участке колонки, и тем самым изменять природу сорбента. Указанные процессы приводят к повышению сопротивления колонки или даже к полной ее забивке.

2. *Распределительная ВЭЖХ.* Это вариант ВЭЖХ, в котором разделение смеси на компоненты осуществляется за счет различия их коэффициентов распределения между двумя несмешивающимися фазами: растворителем (подвижная фаза) и фазой на сорбенте (неподвижная фаза).

Исторически первые сорбенты, получающиеся путем нанесения жидкой фазы (оксидипропионитрила, парафинового масла и др.) на пористые носители, аналогичны сорбентам, которые готовят для газожидкостной хроматографии. Неподвижную фазу и растворитель выбирают такими, чтобы они были практически взаимно нерастворимыми. Примерами такой комбинации фазы и растворителя могут служить: трис(цианэтокси)пропан и гексан, парафиновое масло и вода.

Вымывание фазы растворителем уменьшает ее количество, что, в свою очередь, приводит к изменению времен удерживания веществ, к тому же на сорбенте появляются не покрытые фазой центры адсорбции, вызывающие образование «хвостов» пиков.

С этим недостатком боролись, предварительно насыщая растворитель веществом фазы. Унос фазы также снижали при использовании более вязких и менее растворимых полимерных пленок, однако в этом случае из-за недостаточной скорости массопередачи эффективность колонок была низкой.

Более продуктивным оказался путь химической прививки жидкой фазы к поверхности носителя (*привито-фазный сорбент*), когда унос ее становится физически невозможным.

Первые привито-фазные сорбенты были получены замещением силанольных групп, находящихся на поверхности силикагеля, остатками спиртов или аминов при их химическом взаимодействии. Применение этих так называемых «щеточных» сорбентов обеспечивало достаточно высокую эффективность колонок при отсутствии уноса фазы и стабильности времен удерживания веществ. Однако применение водных слабоосновных или слабокислых растворителей резко снижало устойчивость таких сорбентов из-за их гидролиза.

Применение алкилхлорсиланов и их производных позволило по аналогичной технологии получать более устойчивые привито-фазные сорбенты разного типа: как с полярными, так и с неполярными группами на поверхности.

Наибольшее распространение для распределительной хроматографии в настоящее время получили нитрильная и аминная привитые фазы. Каждую из них получают с использованием соответствующего силана (диметиламинопропилхлора или диметилцианпропилхлорсилана).

Успешное применение таких сорбентов для ВЭЖХ способствовало росту их производства. Каждая фирма выпускает сорбенты, как правило, на основе своего силикагеля и по оригинальной технологии. В результате сорбенты, называемые одинаково (например, силикагель с привитым октадецилсиланом), могут иметь сильно различающиеся характеристики. Это связано с различием пористой структуры силикагелей и условиями прививки: прививаться могут моно-, ди- или трихлорсиланы, при этом получается мономерный, полимерный или смешанный слой фазы.

Сложность технологии прививки, ее многостадийность приводят к тому, что партии сорбентов, полученные по одной технологии, одной фирмой-производителем могут иметь различающиеся характеристики.

Привитые фазы могут быть использованы в двух вариантах распределительной ВЭЖХ: для нормально-фазной (с неполярными элюентами) и обращенно-фазной (с полярными элюентами).

Нормально-фазная распределительная хроматография с привитыми фазами. Хроматографирование на нормально-фазных сорбентах аналогично адсорбционной ВЭЖХ на силикагеле или оксиде алюминия с теми же элюотропными рядами растворителей и близкими порядками элюирования соединений разных классов. Однако за счет разной химической природы силанольных, amino- и нитрильных групп возможно различие в селективности разделения смесей, позволяющее отдать предпочтение тому или иному сорбенту.

Следует помнить, что при использовании сорбентов с аминofазами не следует применять в качестве растворителей вещества с альдегидными или кетонными группами, так как возможно их химическое взаимодействие с привитой фазой с образованием оснований Шиффа.

Аминofаза легко окисляется, поэтому следует исключить действие на сорбент сильных окислителей.

Применяют в хроматографии также привитую полярную фазу, содержащую две гидроксильные группы. Ее называют «диольной», или просто «диол». Однако сорбенты такого вида выпускает меньшее число производителей.

Обращенно-фазная распределительная хроматография с привитыми фазами. Вариант распределительной хроматографии, в котором используют сорбент с привитыми неполярными (как правило, длинными алкильными или алкилсилильными) группами и полярный растворитель, например водный раствор метанола, получил название обращенно-фазной ВЭЖХ. Этот не совсем удачный термин, указывающий на перемену полярности неподвижной и подвижной фаз, прижился, стал общепринятым и означает лишь одно: подвижная фаза — полярная, а неподвижная — неполярная.

В настоящее время этот метод является основным в ВЭЖХ. Этому способствовали успешные разработки и быстрое внедрение в производство сорбентов, имеющих привитые алкилсилильные группы разной длины (от C_2 до C_{12} и с прямой алкильной цепью, фенильной и дифенильной группами).

Растворители, используемые для этого метода (ацетонитрил, метанол, вода, тетрагидрофуран), позволяют работать в широком УФ-диапазоне (начиная с 190–210 нм (ТГФ с 220 нм)), так как они прозрачны. Это обуславливает применение практически универсального в данном случае детектора — УФ-спектрофотометра. С его помощью можно проводить анализ сахаров, жиров, сложных эфиров, спиртов, олефинов и т. п.

Растворители, используемые в обращенно-фазной ВЭЖХ, растворяют практически все группы веществ: находящихся в организме человека, биологических объектах, используемых в виде лекарственных препаратов, пестицидов, гербицидов, широко используемых в органической химии, нефтехимии, биоорганической химии.

Сорбенты обращенно-фазной ВЭЖХ быстро приходят в равновесие с растворителями и при изменении их состава, что позволяет переходить от одной методики к другой с использованием одной и той же колонки, а также широко применять градиентное элюирование с быстрым восстановлением равновесия сорбента с исходным растворителем.

Сорбенты дают возможность использовать растворители с широким диапазоном физико-химических свойств, а также различные добавки в них: соли, кислоты и основания, ион-парные реагенты, органические модификаторы.

Регенерацию растворителей осуществляют ректификацией, а загрязненный сорбент промывают и приводят в рабочее состояние пропуская растворителя через колонку.

Следует помнить, что и для обращенно-фазной хроматографии свойственна общая проблема ВЭЖХ: возможное изменение характеристик сорбентов при переходе от продукции одного производителя к продукции другого и даже изменение их при переходе между партиями сорбента одного производителя.

1.4.1.1.5. Теория разделения ВЭЖХ

Общие соображения для газовой хроматографии, рассмотренные в главе 1, применимы и в случае жидкостной хроматографии с учетом того, что коэффициент молекулярной диффузии на 4–5 порядков ниже, чем в газовой фазе (см. табл. 1.10). Поэтому, к примеру, продольная диффузия играет в жидкостной хроматографии слабую роль, и график уравнения Ван-Деемтера (рис. 42) сдвинут в область малых линейных скоростей жидкости u :

$$H = A + \frac{B}{u} + C \cdot u. \quad (1.63)$$

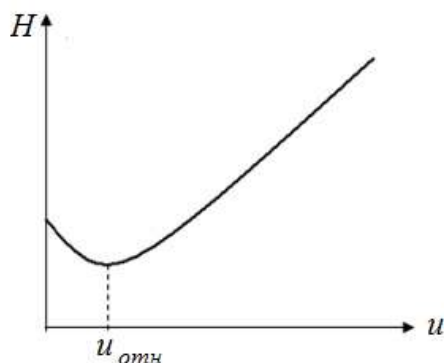


Рис. 42. График уравнения Ван-Деемтера для ВЭЖХ

Однако в ВЭЖХ высота H , эквивалентная теоретической тарелке, растет с увеличением u медленнее, чем в случае газовой хроматографии, по этой причине рабочая скорость жидкости может в несколько раз превышать $u_{\text{опт}}$, соответствующую минимальному значению H (максимальной эффективности колонки).

Ввиду того, что жидкость практически несжимаема, скорость ее вдоль колонки сохраняется постоянной: поправку на перепад давлений j — коэффициент сжимаемости (1.14) можно не вводить.

1.4.1.2. Ионообменная хроматография

В ионообменной хроматографии разделение компонентов смеси достигается за счет обратимого взаимодействия ионизированных веществ, движущихся в потоке подвижной фазы, с ионными группами сорбента (неподвижной фазы). Сохранение электронейтральности сорбента обеспечивается наличием способных к ионному обмену противоионов, расположенных в непосредственной близости к поверхности. Ион анализируемого вещества, взаимодействуя с зарядом сорбента, обменивается с противоионом. Обмениваться могут катионы и анионы, поэтому неподвижная фаза (ионит) в ионообменной хроматографии подразделяется на аниониты и катиониты.

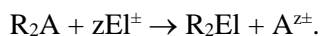
Аниониты содержат на поверхности положительно заряженные группы и адсорбируют из подвижной фазы анионы. *Катиониты* соответственно содержат группы с отрицательным зарядом, взаимодействующие с катионами.

В качестве подвижной фазы применяют водные растворы солей, кислот, оснований и растворители, имеющие высокую диэлектрическую проницаемость и способность ионизировать соединения, например жидкий аммиак. Иногда в

воду добавляют небольшое количество смешивающихся с водой органических растворителей — метанола, этанола, ацетонитрила, тетрагидрофурана. Обычно работают с буферными растворами, позволяющими поддерживать постоянные значения pH. Применяют ацетатный, фосфатный, цитратный, формиатный, аммиачный, боратный буферы. При анализе значение pH раствора выбирают таким, чтобы молекулы анализируемых веществ были полностью ионизированы: обычно для кислот $\text{pH} \approx \text{pK}_a + 1,5$, а для оснований — $\text{pH} \approx \text{pK}_a + 1,5$.

Из трех вариантов ионообменной хроматографии — элюентной, фронтальной и вытеснительной — наибольшее применение в практике нашла элюентная хроматография: после проведения анализа не нужна регенерация колонки.

Методика элюентной ионообменной хроматографии состоит в следующем: неподвижную фазу в колонке сначала обрабатывают раствором электролита, который будет использован в качестве элюента EI. Обработку проводят до тех пор, пока ионит R_2A не будет полностью переведен в форму иона R_2EI , являющегося обмениваемым ионом элюента:



Далее в верхнюю часть колонки вводят небольшой объем анализируемой пробы и через колонку пропускают элюент. Вытекающий из колонки элюент анализируется в детекторе.

Обычно ионообменное разделение проводят при температурах 20–60°C. Чем выше температура, тем меньше вязкость подвижной фазы и тем выше эффективность колонки. Верхний температурный предел обусловлен низкой термостабильностью ионообменников: они выдерживают температуру до 60°C, и лишь некоторые полимерные катионообменники стабильны до 80°C. Биохимические анализы проводят при более низких температурах, обычно при 4°C.

Время удерживания анализируемой пробы снижается с увеличением ионной силы подвижной фазы и возрастает с увеличением ионообменной емкости сорбента. Ионная сила подвижной фазы, в свою очередь, зависит от концентрации буфера и природы добавленных солей.

Уменьшение концентрации буферного раствора увеличивает сродство адсорбента к разделяемым веществам, что приводит к увеличению времени их удерживания. Обычно концентрацию буфера поддерживают в интервале 0,001–6 моль/дм³. Верхняя граница определяется растворимостью солей, используемых в качестве буфера, а нижняя — свойствами буфера: в более слабом растворе не

удается поддерживать требуемый показатель pH. Следует избегать применения концентрированных буферных растворов, так как возможно выпадение осадка и забивание им колонок.

Время удерживания зависит от pH подвижной фазы: с повышением pH оно увеличивается при анионообменном разделении и уменьшается при катионообменном. Особенно заметно это влияние при pH раствора, близком к pK_a веществ.

Суммируя сказанное, можно заключить, что время удерживания в ионообменной хроматографии уменьшается:

- с повышением температуры;
- с повышением концентрации буферного раствора;
- со снижением степени ионизации вещества при изменении pH элюента.

Вводимые количества анализируемых веществ не должны превышать 5% суммарной ионообменной емкости неподвижной фазы. Так, для соединений с относительной молярной массой 200–500 допустимо введение ~50 мг пробы на 1 г полимерного сорбента.

Ионообменная хроматография незаменима при разделении высокополярных веществ (аминокислот, пептидов, сахаров и т. п.), которые без перевода в летучие производные не могут быть проанализированы методом ГЖХ.

Ионообменную хроматографию широко применяют в медицине, биологии, биохимии, для контроля окружающей среды, при анализе содержания лекарств и их метаболитов в крови и моче, ядохимикатов в пищевом сырье, а также для разделения неорганических соединений, в том числе радиоизотопов, лантаноидов, актиноидов и др.

Применение ионообменной хроматографии в биологии позволило наблюдать за образцами непосредственно в биосредах, уменьшая возможность перегруппировки или изомеризации, которые могут привести к неправильной интерпретации конечного результата.

1.4.1.3. Эксклюзионная хроматография (гель-хроматография)

Эксклюзионная хроматография — это один из методов жидкостной колоночной хроматографии, основанный на неодинаковой способности молекул разного размера проникать в поры (межмолекулярное пространство) неподвижной фазы.

Анализируемый раствор пропускают через колонку, заполненную гранулированным гелем (неподвижная фаза). Частицы геля имеют высокоразвитую пористую структуру, заполненную растворителем. При анализе первыми из колонки выходят наиболее крупные молекулы (большей молярной массы), способные проникать в минимальное число пор неподвижной фазы. Последними выходят вещества с малыми размерами молекул, свободно проникающие в поры (рис. 43). В названии метода отражен механизм процесса: от *англ.* size exclusion — исключение по размеру. В отличие от сорбционной хроматографии, при эксклюзионной хроматографии неподвижная фаза остается химически и сорбционно инертной и с разделяемыми веществами практически не взаимодействует.

Принципиальной особенностью метода является возможность разделения молекул по их размеру в диапазоне практически любых молярных масс, что делает его незаменимым при исследованиях синтетических высокомолекулярных веществ, состоящих из смеси полимергомологов и биополимеров.

Различают *гель-проникающую хроматографию* (ГПХ), в которой элюентом служит органический растворитель, и *гель-фильтрацию*, где элюент — вода.

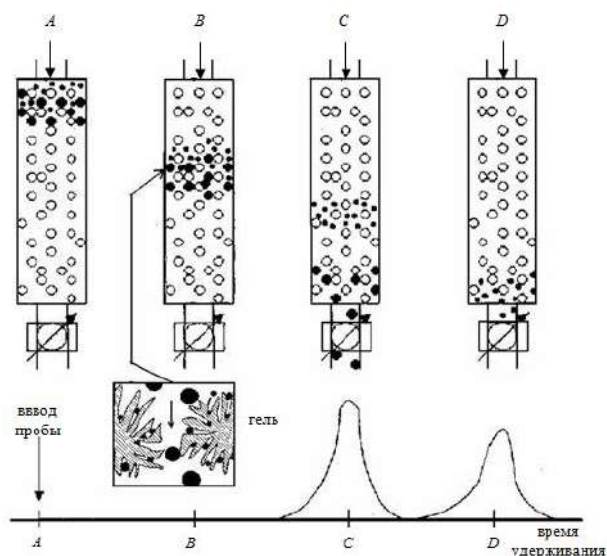


Рис. 43. Принцип разделения и детектирования пробы в эксклюзионной хроматографии: *A* — ввод образца; *B* — разделение по размерам; *C* — выход крупных макромолекул; *D* — выход мелких макромолекул.

Удерживание молекул в колонке определяется интенсивностью их диффузии в поры и зависит главным образом от соотношения размеров молекул и пор неподвижной фазы. Молекулы с самыми малыми размерами (в том числе и молекулы растворителя) проникают во все поры и поэтому движутся через колонку наиболее медленно. Их удерживаемый объем равен полному объему растворителя V_t . Все молекулы, размер которых больше размера пор сорбента, не могут попасть в них (*полная эксклюзия*) и проходят по каналам между частицами. Они элюируются из колонки с одним и тем же удерживаемым объемом, равным объему подвижной фазы V_m . Коэффициент распределения для этих молекул равен нулю.

Графическую зависимость между удерживаемым объемом V_R и молярной массой (или размером молекул) анализируемых веществ называют *частной калибровочной кривой*. Каждый сорбент характеризуется своей калибровочной кривой, по которой оценивают область разделяемых на нем молярных масс (рис. 44). Точка *A* соответствует *пределу эксклюзии*, или мертвому объему колонки V_m . Все молекулы, масса которых больше, чем в точке *A*, будут элюироваться одним пиком с удерживаемым объемом V_m . Точка *B* отражает *предел проникания*, и все молекулы, масса которых меньше, чем в точке *B*, также будут выходить из колонки одним пиком с удерживаемым объемом V_t .

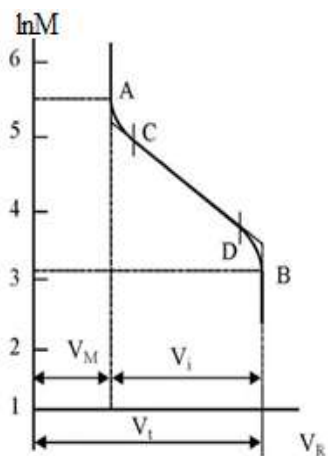


Рис. 44. Пример калибровочной кривой в ГПХ

Между точками *A* и *B* располагается *диапазон селективного разделения*. Соответствующий ему объем $V_i = V_t - V_m$ называют *рабочим объемом колонки*. Линейный участок (рис. 44) частной калибровочной кривой (отрезок *CD*) описывается уравнением

$$V_R = C_1 - C_2 \cdot \ln M, \quad (1.64)$$

где C_1 — отрезок, отсекаемый на оси ординат продолжением отрезка CD ; C_2 — тангенс угла наклона этого отрезка к оси ординат. Величину C_2 называют *разделительной емкостью колонки* и выражают ее через объем (в см^3) растворителя, приходящийся на один порядок изменения молярной массы. Чем больше разделительная емкость, тем лучше разделение в данном диапазоне масс. В нелинейных областях калибровочной кривой (участки AC и BD) из-за уменьшения C_2 эффективность фракционирования заметно снижается. Кроме того, нелинейная связь между $\ln M$ и V_R существенно усложняет обработку данных и снижает точность результатов. Поэтому следует стремиться выбрать колонку (или набор колонок) так, чтобы разделение анализируемого полимера происходило в пределах линейного участка калибровочной кривой.

Если какое-либо вещество элюируется с удерживаемым объемом больше чем V_i , то это указывает на проявление других механизмов разделения (чаще всего адсорбционного). Адсорбционные эффекты обычно проявляются на жестких гелях (ненабухающих), но иногда наблюдаются и на полужестких гелях из-за повышенного сродства к матрице геля. Примером может служить адсорбция ароматических соединений на стиролдивинилбензолных гелях.

Обычно в эксклюзионной хроматографии стремятся полностью подавить адсорбционные и другие побочные эффекты, так как они, особенно при исследовании молярно-массового распределения (ММР) полимеров, могут существенно исказить результаты анализа.

Принципиальными отличиями эксклюзионной хроматографии от других вариантов являются заранее известная продолжительность анализа в каждой конкретной системе, возможность предсказания порядка элюирования компонентов по размеру их молекул, примерно одинаковая ширина пиков во всем диапазоне селективного разделения и уверенность в выходе всех компонентов пробы за достаточно короткий промежуток времени, соответствующий объему V_i .

Данный метод применяют преимущественно для исследования ММР полимеров и анализа макромолекул биологического происхождения (белков, нуклеиновых кислот и т. д.), но указанные особенности делают его чрезвычайно перспективным для анализа низкомолекулярных примесей в полимерах и предварительного разделения проб неизвестного состава. Получаемая при этом информация существенно облегчает выбор наилучшего варианта для анализа данной

пробы. Кроме того, микропрепаративное эксклюзионное разделение часто используют в качестве первого этапа при разделении сложных смесей путем комбинации различных видов ВЭЖХ.

В эксклюзионной хроматографии предъявляются жесткие требования к стабильности потока подвижной фазы и постоянству температуры. При изменении T на 10°C ошибка определения средних молярных масс превышает $\pm 10\%$. Поэтому в данном случае обязательно термостатирование разделительной системы. Как правило, достаточна точность поддержания температуры в пределах до $80\text{--}100^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1^{\circ}\text{C}$). В некоторых случаях, например при анализе полиэтилена и полипропилена, рабочая температура составляет $135\text{--}150^{\circ}\text{C}$.

Наиболее часто в эксклюзионной хроматографии полимеров в качестве детектора применяют дифференциальный рефрактометр.

Выбор сорбентов, обеспечивающих оптимальные условия для решения конкретной аналитической задачи, обычно проводят в несколько этапов. Матрица геля должна быть химически инертной, т. е. она не должна химически связывать разделяемые макромолекулы. При анализе белков, ферментов, нуклеиновых кислот не должна происходить их денатурация при контакте с матрицей.

Первоначально на основании данных о химическом составе и растворимости анализируемых веществ устанавливают, какой вариант анализа следует применить — хроматографию в водных системах или в органических растворителях. От этого зависит выбор сорбента. Разделение веществ низкой и средней полярности в органических растворителях можно успешно осуществить как на полужестких, так и на жестких гелях. Исследование ММР гидрофобных полимеров, содержащих полярные группы, чаще проводят на колоннах со стиролдивинилбензольными гелями, так как в этом случае практически не проявляются адсорбционные эффекты и не требуется добавка модификаторов к подвижной фазе, что значительно упрощает подготовку и регенерацию растворителя.

Для работы в водных системах используют главным образом жесткие гели (сорбенты); иногда удается хроматографировать и на специальных полужестких гелях.

Далее по калибровочным кривым или данным о диапазоне фракционирования выбирают сорбент нужной пористости с учетом имеющихся сведений о молярной массе анализируемых веществ. Если в анализируемой смеси вещества отличаются по молярной массе не более чем на 2 порядка, то обычно удастся

разделить их на колонках с одним размером пор. При более широком ММР следует использовать последовательно соединенные колонки с сорбентами различной пористости. Калибровочную зависимость в этом случае получают сложением кривых для отдельных сорбентов.

Растворители, применяемые в эксклюзионной хроматографии, должны удовлетворять следующим основным требованиям:

- полностью растворять анализируемые вещества при температуре разделения;
- смачивать поверхность сорбента и не ухудшать эффективность колонки;
- предотвращать адсорбцию (и другие взаимодействия) разделяемых веществ с поверхностью сорбента;
- обеспечивать максимально высокую чувствительность детектирования;
- иметь низкую вязкость и токсичность.

Кроме того, при анализе полимеров имеет существенное значение термодинамическое качество растворителя: весьма желательно, чтобы он был «хорошим» по отношению к разделяемому полимеру и матрице геля, т. е. в нем были бы максимально выражены концентрационные эффекты.

Растворимость образца обычно является главным лимитирующим фактором, ограничивающим ассортимент пригодных подвижных фаз. Наилучшим органическим растворителем для эксклюзионной хроматографии синтетических полимеров по комплексу свойств является ТГФ. Он обладает уникальной растворяющей способностью, низкой вязкостью и токсичностью, лучше многих других растворителей совместим со стиролдивинилбензольными гелями и, как правило, обеспечивает высокую чувствительность детектирования при использовании рефрактометра или УФ-детектора в области до 220 нм.

Для анализа высокополярных и нерастворимых в тетрагидрофуране полимеров (полиамиды, полиакрилонитрил, полиэтилентерефталат, полиуретаны и др.) обычно используют диметилформамид или крезол, а разделение полимеров низкой полярности, например различных каучуков и полисилоксанов, часто проводят в толуоле или хлороформе. Последний является также одним из лучших растворителей при работе с ИК-детектором.

Для высокотемпературной хроматографии полиолефинов применяют одихлорбензол и 1,2,4-трихлорбензол: обычно при 135°C, при более низких тем-

пературах они слабо растворяют полиолефины. Эти растворители имеют высокий показатель преломления, поэтому иногда их целесообразно использовать вместо тетрагидрофурана для анализа полимеров с низким коэффициентом преломления, что позволяет повысить чувствительность рефрактометра.

Для предотвращения окисления растворителей и полужестких гелей в условиях высокотемпературной эксклюзионной хроматографии к дихлорбензолу и 1,2,4-трихлорбензолу добавляют антиокислители (ионол, сантонокс *R* и др.).

Жесткие гели совместимы с любыми подвижными фазами, имеющими $pH < 8-8,5$. При более высоких значениях pH силикагель начинает растворяться и колонка необратимо теряет эффективность. Стиролдивинилбензолные гели совместимы в основном с элюентами умеренной полярности. Для работы на колонках с μ -стирогелем (от 1000 Å и выше) пригодны тетрагидрофуран, ароматические и хлорированные углеводороды, гексан, циклогексан, диоксан, трифторэтанол, гексафторпропанол и диметилформамид.

Степень набухания частиц геля в различных растворителях неодинакова, поэтому замена элюента в колонках с данными сорбентами может привести к снижению эффективности за счет изменения объема геля и образования пустот. При использовании неподходящих растворителей (ацетон, спирты) может происходить столь сильная усадка геля, что колонка оказывается испорченной. У сорбентов с малым размером пор (типа μ -стирогеля 100E и 500E) такая усадка наблюдается как в полярных, так и в неполярных растворителях, поэтому с ними нельзя работать в насыщенных углеводородах, фторированных спиртах и диметилформамиде. Удобным, хотя и дорогим выходом из положения является использование отдельных наборов колонок для каждого применяемого растворителя. Некоторые фирмы с этой целью выпускают колонки с одним и тем же размером пор, заполненных разными растворителями, — тетрагидрофураном, толуолом, хлороформом и ДМФА.

При разделении макромолекул основной вклад в размывание полосы вносит медленный массообмен, ему способствует высокая вязкость применяемых растворителей. Для снижения вязкости (а также для улучшения растворимости) эксклюзионную хроматографию часто проводят при повышенных температурах, что существенно улучшает эффективность фазы.

Анализ большинства полимеров на жестких гелях часто осложняется их адсорбцией. Для подавления адсорбции обычно используют растворители, которые адсорбируются на поверхности геля сильнее, чем анализируемые вещества. Если

по каким-либо причинам это невозможно, то подвижную фазу модифицируют добавкой 0,1–2% полярного вещества, например тетрагидрофурана. Значительно более сильными модификаторами являются этиленгликоль и полигликоли с различной молярной массой (ПЭГ-200, ПЭГ-400, карбовакс 20М). Иногда при анализе поликислот в диметилформамиде добавляют сильные кислоты. Следует отметить, что полностью устранить адсорбцию добавкой модификаторов удается не всегда. В таких случаях используют полужесткие гели.

Некоторые полимеры хорошо растворяются только в высокополярных растворителях (ацетон, диметилсульфоксид и т. п.), несовместимых со стирол дивинилбензольными гелями. При их разделении на жестких сорбентах выбор растворителя проводят в соответствии с общими принципами, изложенными ранее.

Свои характерные особенности имеет эксклюзионная хроматография в водных средах. Из-за специфики многих разделяемых систем (белков, ферментов, полисахаридов, полиэлектролитов и др.) и разнообразия применяемых сорбентов существует очень много вариаций состава ПФ для подавления различных нежелательных эффектов. В качестве сорбентов применяют декстрановые гели (сефадексы), полиакриламидные, оксиакрилметакрилатные гели, гели агарозы и др.

В процессе эксклюзионного хроматографирования поведение макромолекул определяется в первую очередь их гидродинамическими размерами. Характерной особенностью белков, ферментов и синтетических полиэлектролитов является зависимость размеров их макромолекул от pH и ионной силы раствора. С уменьшением pH и ионной силы раствора макромолекулы принимают раскрученные конформации, имеет место так называемое полиэлектролитное набухание. Среднестатистические размеры клубков макромолекул при этом увеличиваются, что приводит в итоге к снижению объемов удерживания указанных ВМС в режиме эксклюзионной хроматографии.

Общими приемами модификации является добавка различных солей и применение буферных растворов с определенным значением pH. В частности, поддержание $\text{pH} < 4$ дает возможность подавить слабую ионообменную активность силикагелей, обусловленную присутствием на их поверхности кислых силанольных групп. Требуемая ионная сила подвижной фазы достигается при концентрации буферного раствора 0,05–0,6 моль/дм³; оптимальную концентрацию подбирают экспериментально.

Для предотвращения ионообменной сорбции катионных соединений часто используют такой активный модификатор, как тетраметиламмонийфосфат при

$pH = 3$. Однако при разделении некоторых белков могут проявляться гидрофобные взаимодействия, снижающие селективность фазы. Те же эффекты иногда проявляются и при работе с дезактивированными гидрофильными сорбентами. Для их устранения к растворителю добавляют метанол. Иногда в водную подвижную фазу вводят полярные органические растворители, полигликоли, кислоты, основания и поверхностно-активные вещества.

1.4.1.4. Аффинная хроматография

Основы аффинной хроматографии были разработаны в конце 1960-х годов. Аффинная хроматография (от лат. *affinis* — родственный) — биоспецифическая хроматография, хроматография по сродству. Это метод очистки и разделения белков (рис. 46), основанный на их избирательном взаимодействии с лигандами, ковалентно связанными с инертным носителем — неподвижной фазой. Применяется преимущественно для разделения ферментов.

Обычно в качестве лигандов используют соединения, взаимодействие которых с разделяемыми веществами основано на биологической функции последних. Так, при разделении ферментов лигандами служат их субстраты, ингибиторы или коферменты.

Высокая эффективность аффинной хроматографии обусловлена тем обстоятельством, что разделение основано на специфических функциональных свойствах, отличающих данный фермент от множества других биополимеров, а не на различии физико-химических свойств молекул (заряда, формы и размера).

1.4.2. Планарная хроматография

1.4.2.1. Тонкослойная хроматография (ТСХ)

Этот метод хроматографии наиболее прост в аппаратном оформлении, достаточно оперативен и в настоящее время занимает одно из ведущих мест среди методов анализа органических и биоорганических соединений. Продолжительность анализа здесь исчисляется минутами, поэтому ТСХ часто применяют при экспресс-анализах.

Методика тонкослойной хроматографии заключается в следующем: поверхность стеклянной пластинки покрывают тонким слоем адсорбента (для этого обычно наносят слой суспензии и жидкость испаряют), в качестве которого чаще

всего используют силикагель, несколько реже — оксид алюминия. Иногда применяют и смешанные неподвижные фазы. Например, для определения микроколичеств пестицидов используют силикагель с крахмалом, силикагель с гипсом или оксид алюминия с гипсом. Промышленность выпускает пластинки, готовые к проведению практически любых анализов.

На стартовую линию наносят анализируемые вещества и их смеси. Край пластинки ниже стартовой линии погружают в растворитель. По мере продвижения жидкости по пластинке происходит разделение веществ смеси на адсорбенте. Границу подъема жидкости отмечают, пластинку сушат и проявляют для обнаружения пятен веществ. Измеряют расстояние от центра пятна до линии старта L_1 и L_2 (рис. 45), а также расстояние от линии фронта жидкости до стартовой линии B . Их отношение друг к другу $R_f = L_i/B$ определяет положение каждого вещества на данной хроматограмме (иногда эту величину называют запаздыванием).

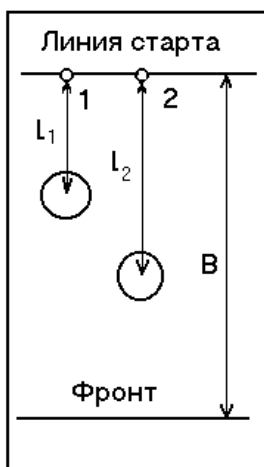


Рис. 45. Хроматограмма тонкослойной хроматографии

Величину R_f также можно рассматривать как отношение скорости движения центра хроматографической зоны к скорости подвижной фазы. Она является характеристикой элюентной способности исследуемого соединения на данном адсорбенте.

Глава 2. ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ ПО ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

2.1. Лабораторные работы, в которых с помощью хроматографии исследуют сорбционные свойства неподвижной фазы

2.1.1. Физикохимия сорбции

2.1.1.1. Основные понятия и определения

Процесс самопроизвольного концентрирования газов или растворенных веществ на поверхности раздела фаз называют **адсорбцией**. В зависимости от природы контактирующих фаз различают адсорбцию на поверхностях: «газ — твердое тело», «жидкость — твердое тело», «газ — жидкость» и «жидкость — жидкость».

Вещества, поверхность которых адсорбирует, называют **адсорбентами**, а вещества, которые адсорбируются, **адсорбатами** (иногда называют адсорбтивами).

Часто концентрирование веществ не ограничивается поверхностью, и молекулы адсорбата проникают вглубь фазы адсорбента. В этом случае мы сталкиваемся с явлением **абсорбции**. Так, молекулы углекислого газа CO_2 , первоначально адсорбированные из газовой фазы на поверхности воды, распределяются далее во всём объёме жидкости — абсорбируются. Совокупность процессов адсорбции и абсорбции называют **сорбцией** (часто сорбцией называют и каждый из указанных процессов порознь).

Процесс адсорбции (сорбции) идёт до установления равновесия, когда скорость прямого процесса равна скорости обратного процесса — **десорбции**.

Взаимодействия, приводящие к адсорбции, очень разнообразны, но можно выделить две группы, вызываемые преимущественно взаимодействиями физической или химической природы. **Физическая**, или вандерваальсова, адсорбция вызывается теми же силами, что и молекулярные взаимодействия, т. е. силами притяжения постоянных и индуцированных диполей. Энергии такого взаимодействия недостаточно для разрыва химических связей, и таким образом, при физической адсорбции молекула сохраняет свою индивидуальность, хотя она может быть растянута и изогнута в энергетическом поле поверхности.

Химическая адсорбция, или хемосорбция, вызывается силами, возникающими в результате перераспределения электронных орбиталей молекул адсор-

бата и адсорбента, т. е. обусловлена образованием химических связей. В соответствии с этим хемосорбцию можно определить как химическое взаимодействие газов или растворенных веществ с поверхностью твердых тел, не приводящее к *образованию новой объемной фазы*. Процесс ржавления металлов с этой точки зрения нельзя считать хемосорбцией, ржавчина — новая объемная фаза оксидов и гидроксидов металла. В результате хемосорбции образуется лишь мономолекулярный (толщиной в одну молекулу) слой химически связанных с поверхностью металлов атомов кислорода.

Хемосорбированная молекула может разорваться на отдельные фрагменты и таким образом потерять свою индивидуальность. Существование молекулярных осколков на поверхности, образующихся при хемосорбции целых молекул, является одной из причин проявления поверхностью каталитической активности (явление гетерогенного катализа).

Установлен ряд приближенных критериев, совокупность которых позволяет на основании экспериментальных данных различить физическую и химическую адсорбции.

1. Физическая адсорбция происходит под влиянием сил Ван-дер-Ваальса и по своей природе аналогична процессам конденсации паров адсорбата. Поэтому теплота её близка к теплотам конденсации и составляет $-(5-30)$ кДж/моль. Теплота хемосорбции соизмерима с теплотами химических реакций и составляет обычно $-(80-400)$ кДж/моль.

2. Температурная область протекания физической адсорбции не может значительно превышать температуру кипения адсорбата при давлении опыта. Так, при атмосферном давлении физическая адсорбция воды ограничена $\sim 100^\circ\text{C}$. Хемосорбция же может происходить как при низких, так и при гораздо более высоких температурах.

3. Физическая адсорбция на непористых адсорбентах протекает практически мгновенно, и скорость её слабо зависит от температуры. Хемосорбция, как и любая химическая реакция, протекает через образование активированного комплекса с преодолением энергии активации, т. е. является **активированной адсорбцией**. Скорость такой адсорбции сильно зависит от температуры (эта зависимость передается уравнением Аррениуса). Однако бывают случаи, например при хемосорбции кислорода и водорода на поверхности металлов, когда адсорб-

ция протекает очень быстро и практически без зависимости её скорости от температуры.

4. Однозначным критерием установления физической природы адсорбции является отсутствие значительной **температурной зависимости скорости десорбции**. Энергия активации десорбции равна сумме энергии активации адсорбции и теплоты адсорбции. Слабая зависимость скорости десорбции от температуры возможна лишь при малых значениях как энергии активации, так и теплоты адсорбции, а это характерно лишь для физической адсорбции.

5. Химическая адсорбция локализована, т. е. на каждом центре адсорбции поверхности может адсорбироваться только одна молекула адсорбата (поверхность можно представить шахматной доской, на каждой клетке которой может находиться только одна фигура). Физическая же адсорбция не локализована, т. е. в этом случае нет жесткой связи молекул адсорбата и центров адсорбции. На поверхности существует как бы двумерная плёнка жидкости.

Приведенные критерии, рассматриваемые в отдельности, не всегда позволяют однозначно охарактеризовать тип адсорбции, но примененные совместно обычно позволяют надежно отличать физическую адсорбцию от хемосорбции. Надо, однако, иметь в виду, что при отсутствии резкой границы между явлениями физического и химического взаимодействия возможна адсорбция, характеризующаяся промежуточными свойствами между физической адсорбцией и хемосорбцией.

Количественно адсорбцию обычно выражают двумя способами. **Абсолютная адсорбция a** — это общее количество адсорбата в поверхностном слое единицы площади или единицы массы адсорбента (иногда единицы объёма). Измеряется величина a в моль/м², моль/г или моль/см³. Экспериментально a определяют **весовым методом**. Действительно, увеличение массы (пересчитанное в моль) адсорбента, равно именно a .

Избыточная адсорбция (гиббсова адсорбция) Γ — это **избыток адсорбата** в поверхностном слое единицы площади поверхности или единицы массы адсорбента по сравнению с его равновесным количеством в равном объёме внутри фазы. Измеряют избыточную адсорбцию в моль/м², моль/г или моль/см³. Экспериментально Γ определяют по разности концентраций адсорбата в растворе до и после адсорбции.

По своему физическому смыслу a всегда положительна ($a > 0$). Значение же Γ может быть как положительным (вещество концентрируется на поверхности), так и отрицательным (вещество избегает поверхности, как в случае адсорбции ПИВ).

По определению a всегда больше Γ , но при малых концентрациях адсорбата и сильной его адсорбции $a \approx \Gamma$.

В общем случае адсорбция является функцией давления P (для газов) или концентрации C (для жидких растворов) и температуры, т. е. изображается плоскостью в координатах $a = f(P, T)$ или $\Gamma = f(C, T)$. Обычно один из параметров поддерживают постоянным и адсорбцию графически изображают в виде следующих кривых (рис. 46).

Изотерма — это зависимость адсорбции от давления газа или от концентрации раствора при постоянной температуре.

Изобара — это зависимость адсорбции от температуры при постоянном давлении газа (**изопикна** — при постоянной концентрации).

Изостера — это зависимость давления (или концентрации) от температуры при постоянной адсорбции.

На практике для графического изображения адсорбции чаще всего используют изотермы.

Степень заполнения (покрытия) поверхности (θ) определяет, какая часть поверхности адсорбента покрыта молекулами адсорбата. Если на поверхности единицы площади или единицы массы адсорбента всего может поместиться a_∞ моль адсорбата (ёмкость монослойного покрытия), то для данной наблюдаемой адсорбции a : $\theta = a/a_\infty$ или $\theta = \Gamma/\Gamma_\infty$ (в случае избыточной адсорбции).

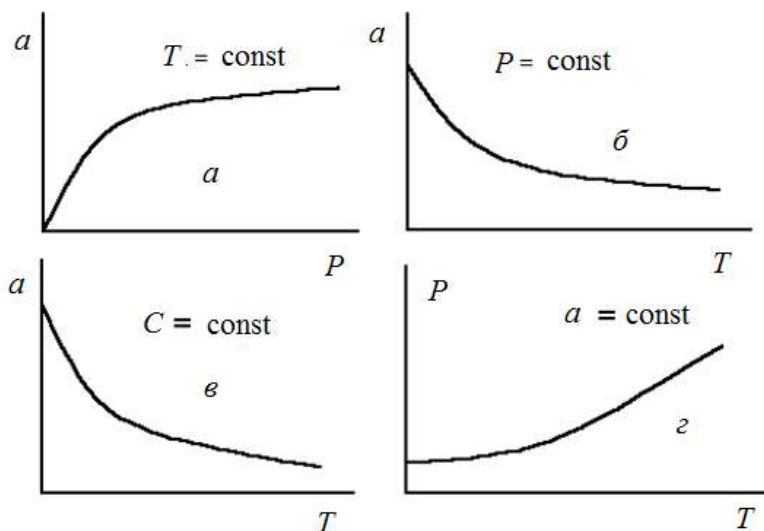


Рис. 46. Графики, характеризующие явление адсорбции: a — изотерма; $б$ — изобара; $в$ — изопикна; $г$ — изостера адсорбции.

Следующей количественной характеристикой адсорбции является **интегральная теплота адсорбции** $Q_a = \Delta_a H = H_{a_2} - H_{a_1}$. Она равна изменению энтальпии системы адсорбат-адсорбент при увеличении адсорбции от a_1 до a_2 .

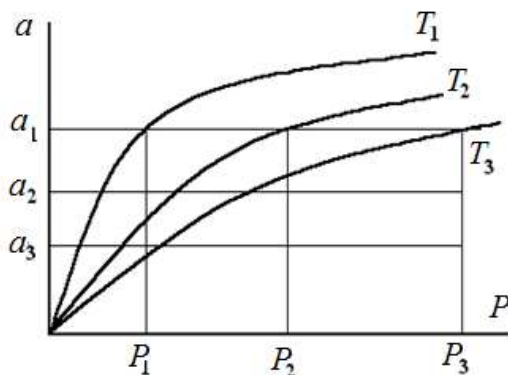


Рис. 47. Определение дифференциально-молярной изостерической теплоты адсорбции из изотерм адсорбции ($T_3 > T_2 > T_1$)

Величину Q_a обычно относят к площади поверхности адсорбента (если она известна) или к массе адсорбента и измеряют в Дж/м² или Дж/г. Теплота при адсорбции всегда выделяется, за исключением крайне редких случаев эндотермической хемосорбции. Действительно, для адсорбции как самопроизвольного процесса:

$$\Delta_a G = \Delta_a H - T\Delta_a S < 0.$$

Поскольку адсорбат переходит в более упорядоченное состояние, адсорбция сопровождается уменьшением энтропии ($\Delta_a S < 0$). Поэтому для выполнения условия самопроизвольности процесса $\Delta_a G < 0$ всегда $\Delta_a H < 0$, при этом $|\Delta_a H| > |T\Delta_a S|$. Этот вывод очень важен нам для дальнейшего изложения материала.

Он означает, что как и при любом экзотермическом процессе с повышением температуры равновесие адсорбция-десорбция смещается в сторону десорбции (согласно правилу Ле Шателье), т. е. величина адсорбции (a или Γ) с повышением температуры уменьшается.

Обычно при обсуждении теоретических вопросов адсорбции используют понятие **дифференциально-молярной изостерической теплоты адсорбции** q_{st} . Она равна количеству энергии, выделяющейся в форме теплоты при адсорбции 1 моль адсорбата на бесконечно большой поверхности адсорбента (настолько

большой, что адсорбция 1 моль не изменяет степени заполнения θ). Постоянство θ или a — условие изостеричности процесса.

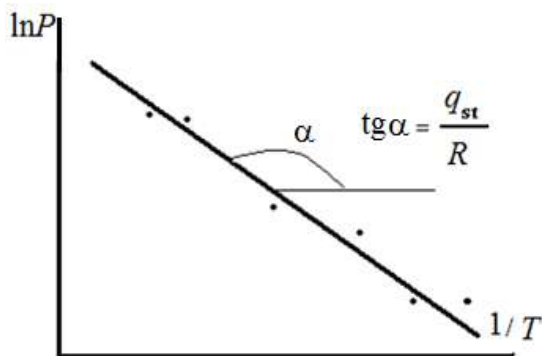


Рис. 48. Графическое определение q_{st}

Величину Q_{ad} обычно измеряют в результате прямых экспериментов в калориметрах, значение же q_{st} получают из изотерм адсорбции при различных температурах (в прямых экспериментах нельзя обеспечить условие $\theta = \text{const}$ при адсорбции 1 моль — реальная поверхность не может быть бесконечно большой). Для этого на графике $a = f(P)$ или $\Gamma = f(C)$ проводят ряд линий — изостер при $a = \text{const}$ (линии, параллельные оси абсцисс). Это видно на рис. 47.

Из точек пересечения изостер с изотермами определяют P_1, P_2, P_3 и т. д. (каждому значению T соответствует своё значение P). На рис. 47 приведены построения для изостеры a_1 . Далее полученные данные располагают в координатах $\ln P$ против $1/T$ (рис. 48). Дифференциально-молярную изостерическую теплоту адсорбции q_{st} (на рисунке — для адсорбции a_1) определяют из тангенса угла наклона полученной прямой $q_{st} = R \cdot \operatorname{tg} \alpha$. Аналогично вычисляют q_{st} и для других значений a .

2.1.1.2. Адсорбция газов и паров твердыми адсорбентами. Теория мономолекулярной адсорбции Лэнгмюра

Эксперименты показали, что существует по крайней мере пять типов изотерм адсорбции из газовой фазы на поверхности твердых адсорбентов. Они изображены на рис. 49.

Следует отметить, что это общепринятая классификация. В научной литературе часто можно встретить лаконичные записи типа «в результате опытов получили изотермы адсорбции третьего типа» и т. п. Обилие кривых, приведенных

на рис. 51, не позволяет создать единую теорию адсорбции, уравнение которой одинаково хорошо описывало бы все имеющиеся типы изотерм.

Простейшим уравнением, пригодным лишь для описания изотермы 1-го типа, является **уравнение Лэнгмюра**.

Уравнение выводится из следующих основных положений **теории мономолекулярной адсорбции Лэнгмюра**.

1. Поверхность адсорбента однородна. Это означает, что все центры адсорбции энергетически одинаковы (отсутствует биографическая неоднородность) и нет взаимодействия между адсорбированными частицами (отсутствует индуцированная неоднородность).

2. Адсорбция мономолекулярна, т. е. поверхность покрыта лишь одним слоем молекул адсорбата.

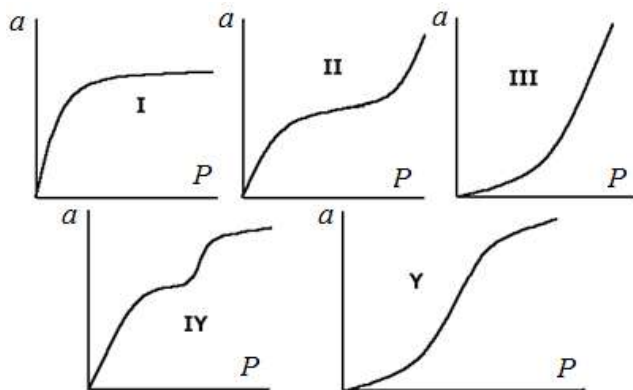


Рис. 49. Типы изотерм адсорбции на твёрдых адсорбентах

3. Адсорбция локализована. Это означает, что поверхность состоит из определенного числа центров адсорбции, каждый из которых может адсорбировать только одну частицу (поверхность, как шахматная доска, на каждой клетке которой — одна фигура).

Скорость адсорбции r_{ad} пропорциональна давлению адсорбата в газовой фазе P и доле свободной поверхности $(1 - \theta)$:

$$r_{ad} = k_{ad}P \cdot (1 - \theta). \quad (2.1)$$

Здесь k_{ad} — константа скорости адсорбции; θ — степень заполнения поверхности.

Скорость десорбции r_{des} пропорциональна только доле занятой поверхности θ . Действительно, чем больше молекул находится на поверхности адсорбента, тем больше вероятность их десорбции:

$$r_{\text{des}} = k_{\text{des}} \cdot \theta. \quad (2.2)$$

При адсорбционно-десорбционном равновесии $r_{\text{ad}} = r_{\text{des}}$. Введя обозначение $b = k_{\text{ad}}/k_{\text{des}}$ (это константа адсорбционного равновесия, или **адсорбционный коэффициент**), можно получить⁶:

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

Так как $\theta = \frac{a}{a_{\infty}}$, то окончательно имеем

$$a = \frac{a_{\infty} bP}{(1 + bP)} \quad \text{или} \quad \Gamma = \frac{\Gamma_{\infty} bP}{(1 + bP)}. \quad (2.4)$$

Это и есть уравнение изотермы Лэнгмюра, в нём a_{∞} или Γ_{∞} — ёмкость монослоя, т. е. предельное количество адсорбата, способное адсорбироваться на поверхности адсорбента при её полном **монослойном** покрытии.

Проанализируем полученное уравнение. Если $b \cdot P \ll 1$ (область низких давлений), то (2.4) преобразуется в уравнение

$$a = a_{\infty} \cdot b \cdot P = K_{\Gamma} \cdot P. \quad (2.5)$$

В этом случае мы имеем линейную зависимость между a и P , её часто называют **изотермой Генри**, при этом K_{Γ} называют константой Генри, а область малых P — областью Генри. На рис. 50 область Генри представлена прямой линией, выходящей из начала координат.

В этом случае наблюдается независимость a от P : при больших P все центры адсорбции заполнены (на каждой «клетке доски» уже стоит своя «фигура») и дальнейшее увеличение давления не изменяет адсорбцию. На рис. 50 эта область изображена прямой, параллельной оси абсцисс. Между двумя указанными областями мы имеем кривую — гиперболу.

⁶ В литературе встречается и другая запись данного уравнения:

$$\theta = \frac{P}{P + k},$$

при этом величину k называют *адсорбционной летучестью*.

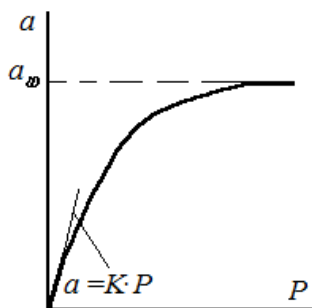


Рис. 50. Графический анализ уравнения Лэнгмюра

Если $b \cdot P \gg 1$ (область высоких давлений), то (2.4) преобразуется к виду:
 $a = a_{\infty}$.

Адсорбционный коэффициент b характеризует способность веществ адсорбироваться на поверхности, т. е. степень его «сродства» к адсорбционным центрам адсорбента. На рис. 51 представлены изотермы адсорбции при различных значениях $b_3 > b_2 > b_1$. Как и всякая константа равновесия, адсорбционный коэффициент связан с теплотой адсорбции $\Delta_a H$ уравнением изотермы Вант-Гоффа:

$$b = e^{\frac{\Delta_a S}{R}} \cdot e^{\frac{-\Delta_a H}{RT}}. \quad (2.6)$$

Так как всегда $\Delta_a H < 0$, то с повышением температуры b экспоненциально уменьшается, т. е. и физическая, и химическая адсорбции (величины a или Γ) уменьшаются с повышением температуры.

Изостера адсорбции на рис. 51 также иллюстрирует данное положение: при повышении температуры адсорбция снижается, и для поддержания её постоянного значения (a или $\theta = \text{const}$) следует увеличивать давление. Следует, однако, помнить, что a_{∞} и Γ_{∞} зависят только от количества адсорбционных центров и при всех температурах они одинаковы (рис. 51).

Константы уравнения Лэнгмюра могут быть определены графическим методом. Для этого изотерму Лэнгмюра представляют в линейной форме:

$$\frac{1}{a} = \frac{1}{a_{\infty}} + \frac{1}{a_{\infty} b P} \quad (2.7)$$

или

$$\frac{P}{a} = \frac{P}{a_{\infty}} + \frac{1}{a_{\infty} b}, \quad (2.8)$$

т. е. если экспериментальные точки зависимости a от P в координатах $1/a$ против $1/P$ или P/a против P группируются вдоль прямой, то уравнение Лэнгмюра описывает опытные данные (рис. 53). Тогда отрезок, отсекаемый прямой на оси ординат, равен $1/a_\infty$ в случае уравнения (2.7) и $-1/(a_\infty b)$, когда используют уравнение (2.8), тангенс угла наклона прямой дает $1/(a_\infty b)$ в случае (2.7) и $-1/a_\infty$ в случае (2.8).

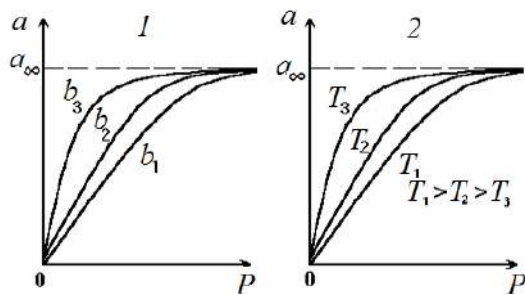


Рис. 51. Изотермы Лэнгмюра (1-го типа) при различных значениях константы b : $b_3 > b_2 > b_1$ (1) и температуры T : $T_1 > T_2 > T_3$ (2)

Помимо данного условия, для согласия представлений теории Лэнгмюра с экспериментом должны выполняться и другие.

1. Значения a_∞ , найденные из изотерм адсорбции при нескольких температурах, должны быть близки друг к другу. Действительно, как отмечалось выше, a_∞ — предельная адсорбция (ёмкость монослоя) определяется лишь числом центров адсорбции на единице поверхности и не должна зависеть от T , как это изображено на рис. 52б. Линейные зависимости $1/a$ от $1/P$, полученные при различных температурах ($T_1 > T_2 > T_3$), должны выходить из одной точки на оси ординат — $1/a_\infty$.

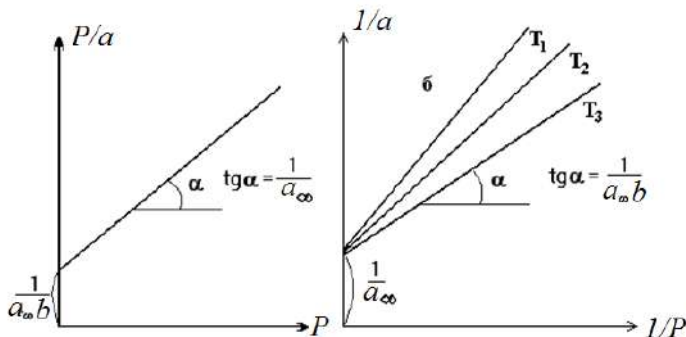


Рис. 52. Линейные анаморфозы изотермы Лэнгмюра

2. Величины b , найденные из экспериментальных изотерм адсорбции, с повышением температуры должны экспоненциально уменьшаться, т. е. опытные данные в координатах $\ln b$ против $1/T$ должны группироваться вдоль прямой. Это следует из уравнения (2.6).

Однако в ходе экспериментальной проверки уравнения Лэнгмюра было установлено, что все три указанных условия **в случае адсорбции из газовой фазы на поверхности твёрдых адсорбентов практически никогда не выполняются.**

Лэнгмюр использовал в своих экспериментах по изучению адсорбции газов (азота, CO_2 и т. д.) блоки из пластин слюды. В этом случае геометрическая поверхность 1 г адсорбента $S_{\text{уд}}$ известна, её же можно вычислить и из величины a_{∞} по уравнению

$$S_{\text{уд}} = a_{\infty} \cdot N_{\text{a}} \cdot S_0. \quad (2.9)$$

Здесь N_{a} — число Авогадро, S_0 — площадь, занимаемая молекулой адсорбата в адсорбционном слое. Величину a_{∞} определяют графически, как это показано на рис. 52.

Оказалось, что $S_{\text{уд}}$, вычисленная из адсорбционных данных, составляет лишь 30–70% от геометрической поверхности, истинная же поверхность слюды ещё больше, чем геометрическая (из-за её шероховатости). Объясняя это противоречие, Лэнгмюр первоначально предположил, что адсорбция происходит не на всей поверхности адсорбента, а лишь на так называемых **активных центрах**, считая, что доля их от общей поверхности адсорбента составляет указанные 30–70%.

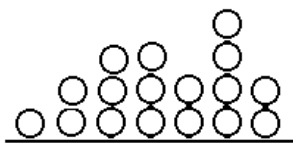
Впоследствии Лэнгмюр пришёл к выводу, что данное объяснение некорректно: **адсорбция с выделением той или иной энергии происходит на всех адсорбционных центрах поверхности.** Разрешение же противоречий заключается в том, что в основе теории Лэнгмюра лежат слишком грубые предположения. Действительно, реальная поверхность адсорбентов всегда в той или иной степени неоднородна — это основная причина несогласия теории с экспериментом в случае хемосорбции. Физическая адсорбция, как правило, полимолекулярная, теория же Лэнгмюра предполагает адсорбцию мономолекулярной. Поэтому было бы удивительно, если бы все три указанных выше условия одновременно выполнялись, и при этом величины $S_{\text{уд}}$, вычисленные из адсорбционных измерений, были бы близки к истинным значениям.

2.1.1.3. Изотермы полимолекулярной адсорбции

Для описания опытных данных в случае полимолекулярной адсорбции обычно применяют изотерму Брунауэра, Эммета и Теллера (изотерма БЭТ). Она выводится с учётом следующих предположений:

1) поверхность адсорбента однородно не выражается, т. е. отсутствует биографическая и индуцированная неоднородность;

2) теплота адсорбции во втором, третьем, четвёртом и последующих слоях одинакова и равна теплоте конденсации паров адсорбата в жидкость $\Delta_L H$. Другими словами, предполагается, что молекулы во всех слоях, кроме первого, уже



не «чувствуют» поверхности. Теплота конденсации может быть или больше, или меньше теплоты адсорбции в первом слое (по абсолютной величине), т. е. теплоты адсорбции; адсорбция локализованная, т. е. на один центр

адсорбции может поместиться только одна молекула адсорбата первого слоя, на неё — одна молекула адсорбата второго слоя и т. д. Молекулы располагаются на поверхности так, как это изображено на рисунке. Возможно построение последующих слоёв при незаконченном первом.

В результате было получено уравнение

$$a = \frac{a_{\infty} C \frac{P}{P^0}}{\left(1 - \frac{P}{P^0}\right) \left[1 + (C - 1) \frac{P}{P^0}\right]}, \quad (2.10)$$

где a_{∞} — емкость монослойного покрытия поверхности; P^0 — давление насыщенного пара адсорбата; C — константа, в первом приближении равная:

$$C = e^{\frac{E_a - E_L}{RT}}.$$

Здесь E_a — теплота адсорбции (в первом слое), E_L — теплота конденсации адсорбата. Для 1-го и 2-го типов изотерм (рис. 51) $E_a > E_L$, т. е. энергия взаимодействия в первом слое (непосредственно с поверхностью) больше, чем молекул адсорбата друг с другом (в последующих слоях). В случае изотермы 3-го типа $E_a < E_L$. Это означает, что подобный тип изотерм должен наблюдаться при адсорбции сильно полярных веществ (энергия межмолекулярного взаимодействия у них велика) на неполярных адсорбентах. Действительно, ад-

сорбция воды на активированном угле или саже передаётся изотермой третьего типа. Этот экспериментальный факт может служить подтверждением теории БЭТ.

Изотерма БЭТ базируется на представлении об однородности поверхности адсорбентов, поэтому не может рассматриваться как общая теория полимолекулярной адсорбции, хотя с помощью уравнения (2.10) с той или иной точностью можно описать все 5 типов изотерм (иногда считают, что изотерма БЭТ описывает только первые 3 типа изотерм).

Обычно уравнение БЭТ применяют для определения удельной поверхности адсорбентов, катализаторов и других дисперсных систем. С этой целью уравнение (2.10) представляют в линейной форме:

$$\frac{\frac{P}{P^0}}{a(1-\frac{P}{P^0})} = \frac{1}{a_{\infty}C} + \frac{C-1}{a_{\infty}C} \frac{P}{P^0}. \quad (2.11)$$

Полученные адсорбционные данные располагают в координатах $\frac{\frac{P}{P^0}}{a(1-\frac{P}{P^0})}$ от $\frac{P}{P^0}$ из

тангенса угла наклона прямой и отрезка, отсекаемого прямой на оси ординат, вычисляют константы C и a_{∞} , как это показано на рис. 53. Далее по уравнению (2.9) рассчитывают $S_{уд}$. При этом следует иметь в виду, что уравнение хорошо описывает опытные данные в интервале относительного давления $\frac{P}{P^0} = 0,05-0,5$.

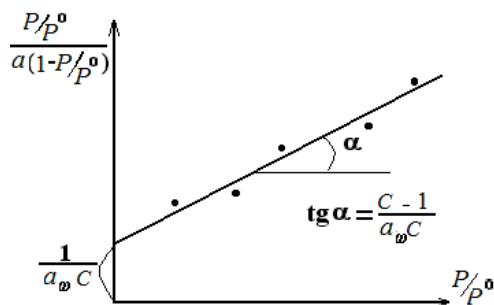


Рис. 53. Линейный график уравнения БЭТ

2.1.1.4. Основные закономерности адсорбции из жидких растворов на твердых адсорбентах

1. Адсорбция происходит в соответствии с **правилом Траубе**: при движении вверх по гомологическому ряду адсорбция органических веществ из водных растворов сильно и неуклонно возрастает. Это положение иллюстрирует рис. 54а, на котором изображены изотермы адсорбции муравьиной (1), уксусной (2), пропионовой (3) и масляной (4) кислот на саже из водных растворов. Правило Траубе объясняется двумя причинами: чем больше по размерам углеводородная часть молекулы адсорбата, тем более она гидрофобна, тем сильнее тенденция выхода такой молекулы на поверхность раздела фаз — ребинд в том числе и на твёрдую поверхность адсорбента. С другой стороны, для адсорбции из водной фазы обычно применяют неполярные адсорбенты (см. 2 — правило Ребиндера). Понятно, что поверхность такого адсорбента более склонна адсорбировать молекулы с большей неполярной углеводородной частью, т. е. вода интенсивнее выталкивает из себя, а поверхность адсорбента более охотно принимает высшие гомологи, чем низшие: отсюда и преобладающая их адсорбция.

При адсорбции из органических растворителей правило Траубе обращается. Это видно на рис. 54б, на котором изображены изотермы адсорбции тех же веществ, но из среды толуола.

Правило Траубе часто нарушается и в случае адсорбции на микропористых адсорбентах в силу стерических (пространственных) факторов. Крупных молекул в тонких порах помещается меньше, чем мелких (центры адсорбции могут оставаться при этом незанятыми).

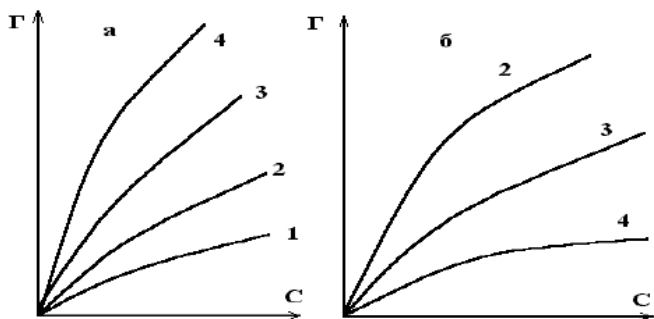


Рис. 54. Адсорбция на саже муравьиной (1), уксусной (2), пропионовой (3) и масляной (4) кислот из водных (а) и толуольных (б) растворов

2. Выполняется **правило выравнивания полярностей Ребиндера**: адсорбция идет в сторону выравнивания полярностей контактирующих фаз и тем сильнее, чем больше первоначальная разность полярности растворителя и адсорбента. В согласии с правилом Ребиндера, для адсорбции органических веществ из водных растворов следует выбрать неполярный адсорбент, например активированный уголь, а для адсорбции их из органических растворителей следует выбрать полярный адсорбент, например силикагель. Действительно, чем больше разность полярностей адсорбента и растворителя, тем слабее их межмолекулярные взаимодействия, тем больше нескомпенсированность молекулярных сил в поверхностном слое и больше поверхностная энергия Гиббса $^S G$. Снижение $^S G$ в этом случае достигается адсорбцией молекул адсорбата. При малой же разности полярностей адсорбента и растворителя из-за сильного их взаимодействия избыточная поверхностная энергия мала и адсорбция молекул адсорбата незначительна.

Особый случай адсорбции имеет место, когда молекулы адсорбата имеют дифильное строение, т. е. содержат как полярную, так и неполярную группы — это так называемые ПАВ. Такие дифильные молекулы способны взаимодействовать одновременно с полярной и неполярной средами. В адсорбционных слоях они ориентируются полярной частью в сторону полярной фазы, а неполярной — к неполярной фазе. Например, при адсорбции уксусной кислоты из водных растворов на неполярном адсорбенте (саже) ориентация молекул происходит по схеме рис. 55а; при адсорбции из неполярного растворителя на полярном адсорбенте (силикагеле) — по схеме рис. 55б.

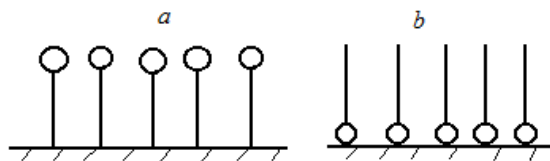


Рис. 55. Ориентация молекул уксусной кислоты при адсорбции из водных растворов на саже (а) и из бензола на силикагеле (б) («шарик» символизирует полярную $-\text{COOH}$ -группу, а «палочка» углеводородный радикал $-\text{CH}_3$)

В случае хемосорбции ПАВ указанная ориентация молекул может быть нарушена. Например, при хемосорбции жирных кислот из водных растворов на поверхности металлов наблюдается ориентация полярных групп в сторону металла и неполярных групп в сторону воды.

3. Адсорбции одного и того же адсорбата (или членов одного гомологического ряда) на одном и том же адсорбенте из растворителей близкой полярности **сильнее из того растворителя, где растворимость адсорбата меньше.** Имеются данные, что изотермы адсорбции членов одного и того же гомологического ряда жирных кислот и спиртов можно совместить друг с другом, если адсорбцию их представить в виде зависимости от приведённой концентрации C/C^0 , где C^0 — растворимость адсорбата в растворителе, т. е. адсорбции одинаковы при равном значении C/C^0 , а это означает, что для гомолога с меньшей растворимостью равенство a достигается при меньшей его концентрации — он сильнее адсорбируется.

Лабораторная работа 1. Исследование адсорбционных свойств поверхности методом обращённой газовой хроматографии

Работа 1а. Построение изотермы адсорбции методом обращённой газовой хроматографии

Цель работы. Хроматографическим методом построить изотерму адсорбции вещества (адсорбата) на неподвижной фазе хроматографа (адсорбенте).

Теоретическое обоснование. Теория разделения в случае газовой хроматографии даёт выражение для вычисления абсолютной адсорбции исходя из хроматограммы (см. раздел 1.3.1):

$$a = \frac{m_a \cdot \Pi_a}{m \cdot \Pi_n}, \quad (2.12)$$

где Π_a — площадь фрагмента на диаграммной ленте самописца между растянутым краем пика адсорбата и высотой h в точке выхода неадсорбирующегося газа (m^2); m — масса адсорбента в колонке (г); Π_n — площадь пика на хроматограмме при введении m_a моль адсорбата в испаритель хроматографа (m^2):

$$m_a = \frac{V \cdot \rho}{M}.$$

Здесь V — объем пробы в шприце в (cm^3), ρ — плотность адсорбата ($г/см^3$), M — молярная масса адсорбата ($г/моль$). Площади Π_a и Π_n измеряют взвешиванием на аналитических весах, зная площадь единицы массы.

Парциальные давления адсорбата в условиях опыта вычисляют по уравнению

$$P = \frac{m_a \cdot g \cdot h \cdot R \cdot T}{P_n \cdot \omega}, \quad (2.13)$$

где g — скорость движения диаграммной ленты (м/с); R — универсальная газовая постоянная (8,31 Дж/моль·К); T — температура термостата колонок (К).

Методика выполнения работы. По заданию преподавателя выписывают несколько хроматограмм исследуемого вещества (адсорбата) на неподвижной фазе хроматографа (адсорбенте) при определенной температуре T . Наиболее удачную из них распечатывают на принтере.

Распечатанную хроматограмму разбивают на фрагменты и весовым методом (см. раздел 1.3.1) определяют площади P_i и высоты фрагментов h_i , а также площадь пика P_n .

Далее вычисляют адсорбции a_i и давления P_i , соответствующие фрагментам пика, в программе Excel заполняют таблицу и строят графики в координатах a_i от P_i (изотерма адсорбции) и $1/a_i$ от $1/P_i$ (линейные анаморфозы уравнения Лэнгмюра).

Делают выводы по работе.

Последовательность выполнения работы

I. Открывают баллон с газом-носителем (гелием), с помощью редуктора устанавливают давление на входе в хроматограф 3–5 ати (см. рис. 3).

II. Включают хроматограф «Кристалл 2000М» или «Кристалл 2005». При этом возможны следующие варианты:

1. Хроматограф подготовлен к работе инженерами кафедры (наиболее вероятный вариант), горит зеленым цветом лампочка «Готовность» на панели управления (рис. 56).

2. Хроматограф не включен, но колонка с нужной для исследований неподвижной фазой уже помещена в термостат колонок. В этом случае, руководствуясь приложением 2, включают компьютер, управляющий хроматографом, и после загрузки Windows дважды кликают левой клавишей мыши по иконке «Хроматэк Аналитик» на рабочем столе монитора.

ВНИМАНИЕ! Категорически запрещается включать в электросеть хроматограф без потока газа-носителя.

После запуска программы устанавливают в меню требуемые для анализа температуры испарителя, детектора (катарометра), термостата колонок и расход газа-носителя через оба канала испарителя. Все эти параметры задает преподаватель или инженер, отвечающий за работу хроматографа (см. приложение 2).



Рис. 56. Вид панели управления хроматографа

Далее необходимо выждать 30 мин для выхода хроматографа на режим работы, лампочка «Готовность» на блоке управления хроматографа должна загореться зеленым цветом (см. рис. 56). Хроматограф готов к работе.

3. Хроматограф не включен, и не подготовлена неподвижная фаза. В этом случае, руководствуясь разделом 1.2.1.6.1.4, набивают в хроматографическую колонку заданную преподавателем фазу (адсорбент) и подготовленную таким образом колонку помещают в термостат колонок.

Выводят хроматограф на режим.

III. Погружают иглу шприца в исследуемую жидкость (адсорбат — его задает преподаватель) и прокачивают ее несколько раз поршнем. Это позволяет вытеснить весь попавший в иглу и шприц воздух и сводит к минимуму т. н. «сухой» шприц. При этом следует также избегать чрезмерных усилий при перемещении поршня, так как это может привести к его изгибанию.

Далее набирают в шприц 1 мкл исследуемого вещества и закалывают в испаритель хроматографа. Для этого, проткнув иглой шприца мембрану испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Следует сжимать только кромку шприца и головку поршня. Это позволяет избежать ошибки в дозировании жидкости из-за нагрева корпуса шприца. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на блоке хроматографа (см. рис. 56), зеленая лампочка «Готовность» гаснет и загорается красная лампочка «Анализ» – это время начала анализа.

После выхода хроматографического пика исследуемого вещества вновь нажимают кнопку «Пуск/Стоп» — это время конца анализа. Загорается лампочка «Подготовка».

В конце анализа на хроматограмме появляется информация о времени удерживания и площади пика адсорбата, их заносят в табл. 2.1. Повторяют опыт еще 2 раза.

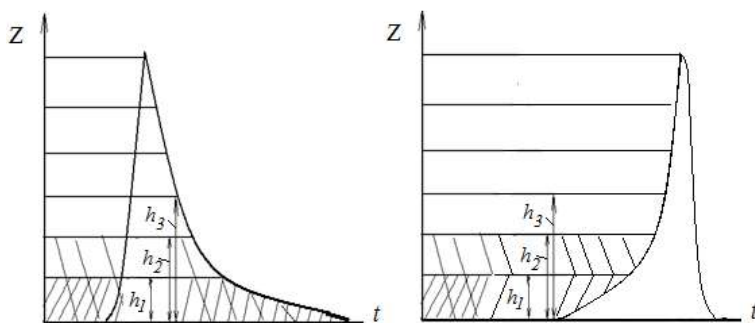


Рис. 57. Обработка хроматограмм различного вида

IV. Распечатывают на принтере одну из хроматограмм. Измеряют линейкой ширину хроматограммы l (в м), далее вычисляют «скорость диаграммной ленты» g в уравнении (2.13) делением l на время, соответствующее этой ширине (в секундах).

Далее с помощью линейки разбивают хроматограмму на фрагменты, как это изображено на рис. 57. Вырезают ножницами первый фрагмент (он заштрихован) высотой h_1 и взвешивают его (масса фрагмента пропорциональна его площади). Далее вырезают следующий фрагмент и вновь взвешивают уже вместе с предыдущим фрагментом, его высота для вычисления P_i уже будет h_2 , и т. д.

Затем из всех фрагментов вырезают ту их часть, которая относится к хроматографическому пику и взвешивают все эти вырезанные части вместе — это масса, соответствующая площади пика.

Вырезают из бумаги квадрат (5×5 см) и взвешивают его. Делят площадь квадрата $25 \cdot 10^{-6} \text{ м}^2$ на полученную массу m (в г), тем самым определяют площадь единицы массы $S = 25 \cdot 10^{-6}/m$.

Зная S , из полученных масс фрагментов и массы пика вычисляют их площади и рассчитывают по уравнениям (2.12) и (2.13) величины a_i и P_i , отвечающие фрагментам хроматограммы. Полученные данные заносят в табл. 2.1.

В программе Excel строят изотерму адсорбции в координатах $a = f(P)$ и в линейных координатах изотермы Лэнгмюра $1/a$ от $1/P$. Из тангенса угла наклона прямой и отрезка, отсекаемого на оси ординат, определяют константы уравнения Лэнгмюра a_∞ и b .

Таблица 2.1

Таблица результатов вычислений $m_a = g = \omega =$

Масса фрагмента пика, г	Масса пика, г	Давление P_i , Па	Адсорбция a_i , моль/г	Константы уравнения Лэнгмюра (a_∞ и b)

Делают выводы по работе.

Работа 16. Определение удельной поверхности адсорбента методом обращённой газовой хроматографии

Цель работы. Используя теорию мономолекулярной адсорбции Лэнгмюра и адсорбент с известной удельной поверхностью, методом обращенной газовой хроматографии определить неизвестную удельную поверхность исследуемого адсорбента.

Теоретическое обоснование. Удельную поверхность адсорбента можно оценить, зная ёмкость монослойного покрытия поверхности адсорбента a_∞ из теории адсорбции Лэнгмюра (о теории Лэнгмюра см. раздел 2.1.1.2):

$$S_{\text{уд}} = a_\infty S^\circ \cdot N_a. \quad (2.14)$$

Здесь N_a — число Авогадро, S° — площадь, занимаемая молекулой адсорбата в монослое при полном его заполнении. В общем случае S° неизвестна, ее определяют из экспериментов. В свою очередь, a_∞ можно вычислить из изотермы адсорбции $a = f(P)$, расположив опытные данные в координатах $1/a$ от $1/P$, как это показано на рис. 52.

Методика выполнения работы. По заданию преподавателя при определенной температуре T выписывают хроматограмму адсорбата (это может быть любое летучее органическое вещество) на адсорбенте (неподвижной фазе хроматографа) с известной удельной поверхностью, её распечатывают на принтере.

Далее в колонку набивают (или используют уже готовую колонку) исследуемый адсорбент (с неизвестной удельной поверхностью), и опыты повторяют при той же температуре.

Распечатанные хроматограммы разбивают на фрагменты и весовым методом (см. раздел 1.3.1) определяют площади P_i и высоты фрагментов h_i , а также площадь пика $P_{\text{п}}$.

Далее по уравнениям (2.12) и (2.13) в программе Excel вычисляют адсорбции a_i и давления P_i , соответствующие фрагментам пиков, и строят графики в координатах $1/a_i$ от $1/P_i$ (линейные анаморфозы уравнения Лэнгмюра). Из отрезков, отсекаемых на оси ординат, определяют a_∞ для адсорбентов с известной и неизвестной $S_{\text{уд}}$.

По (2.14) и известной $S_{\text{уд}}$ вычисляют площадь S° , занимаемую молекулой адсорбата в монослое. Далее, зная S° и a_∞ на исследуемом адсорбенте, по уравнению (2.14) вычисляют неизвестную $S_{\text{уд}}$.

Делают выводы по работе.

Последовательность выполнения работы

Последовательность выполнения данной работы в плане включения хроматографа, записи хроматограмм, их обработки и построения изотерм адсорбции аналогична описанной в лабораторной работе 1а. Результаты измерений заносят в таблицу вида 2.1.

Отличия касаются лишь результатов вычисления: из найденного значения a_{∞} для адсорбента с известной удельной поверхностью $S_{уд}$ по (2.14) определяют площадь S° , занимаемую молекулой адсорбата в монослое, далее, зная a_{∞} исследуемого адсорбента и S° , вычисляют его $S_{уд}$.

Делают выводы по работе.

Работа 1в. Газохроматографическое определение удельной поверхности методом термодесорбции азота

Цель работы. Определить удельную поверхность адсорбента методами тепловой десорбции азота и обращенной газовой хроматографии.

Теоретическое обоснование. В зависимости от интенсивности и природы сил взаимодействия между адсорбентом и адсорбатом различают *физическую* (вызывается ван-дер-ваальсовыми силами) и *химическую адсорбции*, она вызывается химическими взаимодействиями, т. е. обусловлена образованием химических связей. В результате хемосорбции формируется лишь мономолекулярный (толщиной в одну молекулу) слой химически связанного с поверхностью адсорбата (об адсорбции см. раздел 2.1.1.1).

В отличие от хемосорбции, которая может протекать при любой температуре, при которой способны химически взаимодействовать адсорбат и адсорбент, физическая адсорбция имеет место в температурной области, не превышающей температуру кипения адсорбата при давлении опыта. Это обстоятельство позволяет производить адсорбцию азота при его температуре кипения, а затем, убрав кипящий азот, производить быструю и *полную* десорбцию азота при комнатной температуре. Измерив с помощью газового хроматографа объем десорбированного азота, можно рассчитать удельную поверхность адсорбента.

Методика выполнения работы. Подают в хроматограф точно измеренный объем газообразного азота и определяют площадь пика P° на хроматограмме, соответствующую этому объему.

Подсоединяют к хроматографу колонку, заполненную адсорбентом (стандартом) с массой $m_{ст}$ и с известной удельной поверхностью $S_{уд}^{ст}$, и погружают ее в сосуд Дьюара с жидким азотом. Пропускают через колонку азотно-гелиевую смесь до установления адсорбционного равновесия азота с поверхностью.

После этого сосуд Дьюара с жидким азотом убирают и выписывают пик десорбированного азота площадью $P_{ст}$.

Подсоединяют к хроматографу колонку, заполненную исследуемым адсорбентом массой m с неизвестной удельной поверхностью $S_{уд}$, и погружают её в сосуд Дьюара с жидким азотом. Повторяют описанные выше действия.

Зная удельную поверхность $S_{уд}^{ст}$, площади пиков азота и массы обоих адсорбентов, вычисляют удельную поверхность исследуемого адсорбента $S'_{уд}$.

Последовательность выполнения работы

Колонку длиной ~ 10 см с предварительно взвешенным адсорбентом (стандарт) массой $m_{ст} \sim 0,05\text{--}0,1$ г и с известной удельной поверхностью $S_{уд}^{ст} \sim 120$ м²/г помещают в термостат колонок.

Включают хроматограф, как это описано в предыдущих работах и в приложении 2 (температура испарителя и детектора 150°C), и продувают колонку гелием при температуре 150–200°C для удаления с поверхности адсорбированных веществ (её обезгаживания).

Температуру термостата колонок понижают до 30°C и выводят хроматограф на режим — должна загореться зеленой лампочка «Готовность».

Далее вводят с помощью крана-дозатора или газового шприца в испаритель хроматографа азот объемом $V^0 = 0,5\text{--}1,00$ см³. Одновременно нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на блоке хроматографа (см. рис. 56), зеленая лампочка «Готовность» гаснет и загорается красной лампочка «Анализ» — это время начала анализа, выписывают хроматограмму. После выхода пика вновь нажимают кнопку «Пуск/Стоп» — это конец анализа, на пике хроматограммы появляется информация о времени удерживания и площади пика $П^0$. Вычисляют отношение $k = V^0/П^0$ — объем азота, приходящийся на единицу площади пика.

Вновь выводят хроматограф на режим — должна загореться зеленой лампочка «Готовность», помещают колонку в сосуд Дьюара с жидким азотом. Продувают колонку гелий-азотной смесью при температуре жидкого азота до установления адсорбционного равновесия ($\sim 20\text{--}30$ мин).

Снимают с колонки сосуд Дьюара и нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на блоке хроматографа. Температура колонки быстро повышается, и это приводит к десорбции с поверхности адсорбированного азота. На хроматограмме выписывается пик площадью $П_{ст}$. После полного его выхода вновь нажимают кнопку «Пуск/Стоп» — это время конца анализа. После этого на пике хроматограммы появляется информация о времени удерживания и площади пика $П^0$.

Хроматограф выключают, охлаждают термостат колонок и снимают колонку с адсорбентом.

Вычисляют объем адсорбированного азота $V_{ст} = k \cdot \Pi_{ст}$ и площадь адсорбента, приходящуюся на единицу объема азота:

$$K = \frac{S_{уд}^{ст} \cdot m_{ст}}{k \cdot \Pi_{ст}}.$$

Взвешивают исследуемый образец адсорбента массой m , набивают его в аналогичную использованной колонку, которую помещают в термостат колонок. Повторяют действия, описанные выше для стандартного образца: включают хроматограф, продувают адсорбент гелием при температуре 150–200°C, затем — газовой смесью гелий-азот при температуре жидкого азота. После установления адсорбционного равновесия убирают сосуд с жидким азотом и регистрируют пик десорбированного азота площадью Π .

Рассчитывают удельную поверхность исследуемого образца:

$$S_{уд} = \frac{S_{уд}^{ст} \cdot m_{ст} \cdot \Pi}{m \cdot \Pi_{ст}}.$$

Результаты вычислений заносят в табл. 2.2, делают выводы по работе.

Таблица 2.2

Таблица результатов измерений и расчетов

Калибровка: $V^o = \text{см}^3$; $k =$ $K =$		
Образец	Стандартный адсорбент	Исследуемый адсорбент
m , г		
Π (из хроматограммы)		
V , см^3		
$S_{уд}$, $\text{м}^2/\text{г}$		

Работа 1г. Газохроматографическое определение удельной поверхности методом «адсорбции-десорбции» азота

Цель работы. Газохроматографическим методом определить удельную поверхность адсорбента.

Теоретическое обоснование. Для определения удельной поверхности адсорбентов обычно используют метод БЭТ. Однако он имеет ряд недостатков,

главным из которых является длительность измерений. По этой причине все большее применение находит хроматографический метод, отличающийся большей динамичностью, чувствительностью и простотой.

Газохроматографический метод основан на определении адсорбции азота из его смеси с газом-носителем (гелием) при температуре жидкого азота. Вначале через колонку с адсорбентом пропускают смесь азота с гелием при комнатной температуре и выписывают нулевую линию (см. рис. 58а). Затем хроматографическую колонку с исследуемым адсорбентом погружают в жидкий газ, происходит быстрая адсорбция азота на поверхности адсорбента, в результате чего концентрация азота в газовой смеси, выходящей из колонки, уменьшается, что фиксируется на хроматограмме в виде адсорбционного пика (рис. 58б). При этом из рабочей колонки выходит практически чистый гелий, а из колонки сравнения — смесь азота и гелия, теплопроводность которой ниже, чем у чистого гелия, поэтому пик регистрируется как инверсионный (в обратную сторону).

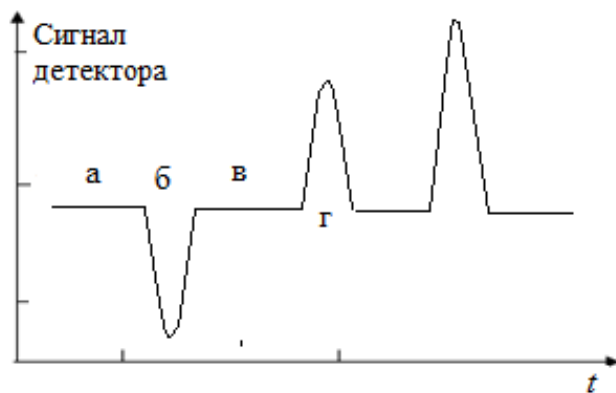


Рис. 58. Хроматограмма адсорбции-десорбции азота на твердом адсорбенте

Затем при установлении адсорбционного равновесия концентрация азота в смеси становится вновь постоянной (теплопроводности газов, выходящих из обеих колонок, сравниваются) и на хроматограмме выписывается нулевая линия (рис. 58в).

Далее хроматографическую колонку вынимают из жидкого азота, что приводит к быстрой десорбции азота, концентрация азота в смеси с гелием снова увеличивается, что фиксируется на хроматограмме в виде десорбционного пика (рис. 58г).

Удельную поверхность адсорбента определяют, проводя два опыта, аналогичные описанному, с адсорбентом, удельная поверхность $S^\circ_{\text{уд}}$ которого известна, и с исследуемым адсорбентом с неизвестной $S_{\text{уд}}$.

Методика выполнения работы

Подсоединяют к хроматографу колонку, заполненную адсорбентом (стандартом) с массой m° и с известной удельной поверхностью $S^\circ_{\text{уд}}$.

Включают хроматограф, как это описано в предыдущих работах и в приложении 2 (температура испарителя и детектора 150°C), и продувают колонку газом-носителем при температуре $150\text{--}200^\circ\text{C}$ для удаления с поверхности адсорбированных веществ (для её обезгаживания). Охлаждают термостат колонок до 30°C .

Пропускают через колонку азотно-гелиевую смесь и выписывают нулевую линию (рис. 58а). Далее колонку погружают в сосуд Дьюара с жидким азотом и выписывают адсорбционный пик (рис. 58б). После установления адсорбционного равновесия азота с поверхностью снова выписывают нулевую линию.

Сосуд Дьюара с жидким азотом убирают и получают на хроматограмме пик десорбированного азота площадью Π° . Хроматограф выключают.

Подсоединяют к хроматографу колонку, заполненную исследуемым адсорбентом массой m с неизвестной удельной поверхностью $S_{\text{уд}}$, и производят действия, аналогичные описанным для адсорбента-стандарта. Зная удельную поверхность $S_{\text{уд}}^{\text{ст}}$, площади пиков азота и массы обоих адсорбентов, вычисляют удельную поверхность исследуемого адсорбента $S'_{\text{уд}}$.

Последовательность выполнения работы

Колонку длиной ~ 10 см с предварительно взвешенным адсорбентом (стандарт) массой $m_{\text{ст}} \cong 0,05\text{--}0,1$ г и с известной удельной поверхностью $S_{\text{уд}}^{\text{ст}} \sim 120 \text{ м}^2/\text{г}$ помещают в термостат колонок.

Включают хроматограф, как это описано в предыдущих работах и приложении 2 (температура испарителя и детектора 150°C , *вместо чистого гелия в качестве газа-носителя используют азотно-гелиевую смесь*). Продувают колонку с адсорбентом газом-носителем при температуре $150\text{--}200^\circ\text{C}$ для удаления с поверхности адсорбированных веществ (обезгаживания её поверхности).

Затем снижают температуру колонки до 30°C , дожидаются выхода хроматографа на режим — должна загореться зеленым цветом лампочка «Готовность».

Нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на блоке хроматографа (см. рис. 56), дожидаясь устойчивой нулевой линии на хроматограмме. Далее помещают колонку в сосуд Дьюара с жидким азотом и выписывают адсорбционный пик.

Продолжают продувать колонку гелий-азотной смесью при температуре жидкого азота до появления новой нулевой линии.

Снимают с колонки сосуд Дьюара, температура колонки быстро повышается, и это приводит к десорбции с поверхности адсорбированного азота — на хроматограмме выписывается пик азота (рис. 58). После полного его выхода вновь нажимают кнопку «Пуск/Стоп» — это время конца анализа, на пике хроматограммы появляется информация о времени удерживания и площади пика P° .

Взвешивают исследуемый образец адсорбента m , набивают его в колонку, помещают ее в термостат колонок. Повторяют действия, описанные выше для стандартного образца, выписывают хроматограмму с пиком площадью P .

Рассчитывают удельную поверхность исследуемого образца:

$$S_{уд} = \frac{S_{уд}^{ст} \cdot m_{ст} \cdot P}{m \cdot P_{ст}}.$$

Результаты вычислений заносят в табл. 2.3, делают выводы по работе.

Таблица 2.3

Таблица результатов измерений и расчетов

Образец	Стандартный адсорбент	Исследуемый адсорбент
m , г		
P (из хроматограммы)		
$S_{уд}$, м ² /г		

Контрольные вопросы к работам

1. Дайте определение хроматографии, расскажите о классификации хроматографических методов.
2. Какие процессы протекают при разделении веществ в хроматографической колонке?
3. Опишите основные характеристики хроматограммы.
4. Хроматографические пики, их форма, причины размывания. Способы определения площади пиков.
5. Методы количественного анализа в хроматографии.

6. Основные детекторы, используемых в ГЖХ.
7. Основные положения теории Лэнгмюра.
8. Изотермы адсорбции Лэнгмюра и Генри.
9. Методика построения изотермы адсорбции на основе хроматограммы.
10. Основные закономерности адсорбции из жидких растворов на твердых адсорбентах.
11. Дифференциально-молярная изостерическая теплота адсорбции q_{st} , методы ее определения.
12. Типы изотерм адсорбции на твёрдых адсорбентах.
13. Физическая адсорбция и хемосорбция, критерии их отличия.
14. Типы изотерм адсорбции, теория БЭТ.

Лабораторная работа 2. Определение изостерической теплоты адсорбции из изотерм адсорбции методом обращённой газовой хроматографии

Цель работы. Из изотерм адсорбции, построенных с помощью обращенной газовой хроматографии, определить дифференциально-молярные теплоты адсорбции вещества (адсорбата) на неподвижной фазе (адсорбенте).

Теоретическое обоснование. При обсуждении теоретических вопросов адсорбции часто используют понятие дифференциально-молярной изостерической теплоты адсорбции q_{st} . Она численно равна количеству энергии, выделяющейся в форме теплоты при адсорбции 1 моль адсорбата на бесконечно большой поверхности адсорбента (настолько большой, что адсорбция 1 моль не изменяет степени заполнения поверхности θ). Постоянство θ или a — условие изостеричности процесса. Изостерические теплоты определяют графически, как это описано в разделе 2.1.1.1. Для этого следует построить несколько изотерм адсорбции (см. рис. 47), провести через них изостеру (горизонтальную линию), определить смежные P_i и T_i и из тангенса угла наклона прямых зависимости $\ln P = f(1/T)$ вычислить q_{st} при различных значениях a (см. рис. 48).

Теоретические основы хроматографического построения изотерм адсорбции изложены в лабораторной работе 1 и разделе 1.3.1.

Методика выполнения работы. По заданию преподавателя выписывают хроматограмму исследуемого вещества (адсорбата) на неподвижной фазе хроматографа (адсорбенте) при определенной температуре T_1 и распечатывают ее на принтере.

Повышают температуры термостата колонок на 10°C , вновь выписывают и распечатывают хроматограмму. Так повторяют 3–4 раза (всего изотерм должно быть 5 или 6).

Распечатанные хроматограммы разбивают на фрагменты и весовым методом (см. раздел 1.3.1 и лабораторную работу 1) определяют площади P_i и высоты фрагментов h_i , а также площадь пика $P_{\text{п}}$.

Далее вычисляют адсорбции a_i и давления P_i , соответствующие фрагментам пика, при каждой температуре. В программе Excel заполняют таблицы и строят графики в координатах a_i от P_i (изотермы адсорбции) и $1/a_i$ от $1/P_i$ (линейные анаморфозы уравнения Лэнгмюра).

Проводят 3–4 изостеры (горизонтальные линии, которые проходят через все изотермы на рисунке). Определяют из точек пересечения изостер и изотерм смежные P_i и T_i . Полученные значения P_i и T_i откладывают на графике $\ln P = f(1/T)$ и из тангенсов угла наклона прямых вычисляют $q_{\text{ст}}$ при различных значениях a_i (см. рис. 48).

Через отложенные точки a_i и P_i в координатах $1/a_i$ от $1/P_i$ проводят прямые и из угловых коэффициентов и отрезков, отсекаемых на оси ординат, определяют константы уравнения Лэнгмюра a_{∞} и b (см. рис. 52).

Найденные значения b при различных температурах откладывают в координатах $\ln b = f(1/T)$, через точки проводят прямую линию. Из тангенса угла наклона прямой линии определяют $\Delta_a H$.

Все вычисления и построения следует производить в программе Excel (см. приложение 1).

Делают выводы по работе.

Последовательность выполнения работы

I. Открывают баллон с газом-носителем (гелием), с помощью редуктора устанавливают давление на входе в хроматограф 3–5 ати (см. рис. 3).

II. Включают хроматограф «Кристалл 2000М» или «Кристалл 2005». При этом возможны следующие варианты:

1. Хроматограф подготовлен к работе инженерами кафедры (наиболее вероятный вариант), горит зеленым лампочка «Готовность» на панели управления хроматографом (см. рис. 56).

2. Хроматограф не включен, но колонка с нужной для исследований неподвижной фазой уже помещена в термостат колонок. В этом случае, руководствуясь приложением 2, включают компьютер, управляющий хроматографом, и после загрузки Windows находят на рабочем столе монитора иконку «Хроматэк Аналитик», дважды кликают на ней левой клавишей мыши.

ВНИМАНИЕ! Категорически запрещается включать в электросеть хроматограф без потока газа-носителя.

После запуска программы устанавливают в меню требуемые для анализа температуры испарителя, детектора (катарометра), термостата колонок и расход газа-носителя через оба канала испарителя (см. приложение 2). Все эти параметры задает преподаватель или инженер, отвечающий за работу хроматографа.

Далее необходимо выждать 30 мин для выхода хроматографа на режим работы, лампочка на блоке хроматографа «Готовность» должна загореться зеленым цветом (см. рис. 56). Хроматограф готов к работе.

3. Хроматограф не включен, и не подготовлена в нем неподвижная фаза. В этом случае, руководствуясь разделом 1.2.1.6.1.4, набивают в хроматографическую колонку заданную преподавателем фазу (адсорбент) и подготовленную таким образом колонку помещают в термостат колонок.

Выводят хроматограф на режим ~30 мин.

III. Погружают иглу шприца в исследуемую жидкость (её задает преподаватель) и прокачивают её несколько раз поршнем. Это позволяет вытеснить весь попавший в иглу и шприц воздух и сводит к минимуму т. н. «сухой» шприц. При этом следует также избегать чрезмерных усилий при перемещениях поршня, так как это может привести к его изгибанию.

Набирают в хроматографический шприц 1 мкл исследуемого вещества и закалывают в испаритель хроматографа. Для этого, проткнув иглой шприца резинку испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на блоке хроматографа (см. рис. 56), зеленая лампочка «Готовность» гаснет и загорается лампочка «Анализ» — это время начала анализа (рис. 56).

После выхода хроматографического пика исследуемого вещества на хроматограмме вновь нажимают кнопку «Пуск/Стоп» — это время конца анализа. Загорается лампочка «Подготовка».

В конце анализа на хроматограмме появляется информация о времени удерживания и площади пика исследуемого вещества, их заносят в табл. 2.2. Повторяют опыт еще 2 раза.

IV. Входят в меню программы «Хроматэк Аналитик» (см. приложение 2) и повышают температуру термостата колонок на 10°C . Начинается нагрев термостата, загорается лампочка «Подготовка». После выхода на новый температурный режим вновь загорается зеленым цветом лампочка «Готовность» — хроматограф готов к работе.

Вновь набирают в хроматографический шприц 1 мкл адсорбата и закалывают в испаритель хроматографа. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на панели управления хроматографа, зеленая лампочка «Готовность» гаснет и загорается лампочка «Анализ». После выхода хроматографического пика снова нажимают кнопку «Пуск/Стоп». Распечатывают на принтере полученную хроматограмму.

Еще несколько раз повышают температуру на 10°C , каждый раз при этом выписывают и распечатывают хроматограмму так, как это описано выше.

V. Далее начинают обрабатывать полученные хроматограммы. Сначала на каждой из них вычисляют т. н. «скорость диаграммной ленты» g в уравнении (2.13). Для этого измеряют линейкой ширину хроматограммы l (в метрах), делят ее на время (в секундах), соответствующее этой ширине.

Далее с помощью линейки разбивают хроматограммы на фрагменты, как это изображено на рис. 57. Вырезают ножницами первый фрагмент высотой h_1 (он заштрихован) и взвешивают его (масса фрагмента пропорциональна его площади). Далее вырезают следующий фрагмент и взвешивают уже вместе с предыдущим фрагментом, высота этого составного фрагмента h_2 (для вычисления a_i и P_i по уравнениям (2.12) и (2.13)). Так поступают и с остальными фрагментами хроматограммы.

Затем из всех фрагментов вырезают ту их часть, которая относится к хроматографическому пику, взвешивают все эти вырезанные части вместе, получают массу пика.

Вырезают из бумаги квадрат (5×5 см) и взвешивают его. Зная его массу m , вычисляют площадь единицы массы $l = 25/m$.

Используя l , из полученных масс фрагментов и пика вычисляют их площади и рассчитывают по уравнениям (2.12) и (2.13) величины a_i и P_i , отвечающие

фрагментам хроматограмм при всех температурах. Полученные данные заносят в табл. 2.4.

Таблица 2.4

Таблица результатов вычислений. $m_a = \omega =$

Темпера- тура, К	Масса фраг- мента пика, г	Масса пика, г	Давле- ние P_i , Па	Адсорб- ция a_i , моль/г	Константы уравнения Лэнгмюра, a_∞, b	q_{st} , Дж/моль	$\Delta_a H$, Дж/моль

Проще производить обработку данных в программе Excel: в ней заполнять таблицу и строить графики (см. приложение 1).

Откладывают полученные данные в координатах a_i от P_i , получают тем самым изотермы адсорбции. Проводят 3–4 изостеры (горизонтальные линии, которые проходят через *все изотермы* на рисунке). Определяют из точек пересечения изостер и изотерм смежные значения P_i и T_i . Полученные P_i и T_i откладывают на графике $\ln P = f(1/T)$ и из тангенсов угла наклона прямых вычисляют q_{st} при различных значениях a (см. рис. 48).

Значения a_i и P_i откладывают также в линейных координатах уравнения Лэнгмюра $1/a_i$ от $1/P_i$, через точки проводят прямые, из угловых коэффициентов и отрезков (по теории он один), отсекаемых на оси ординат, определяют константы уравнения Лэнгмюра a_∞ и b (см. рис. 52).

Найденные значения b при различных температурах откладывают в координатах $\ln b = f(1/T)$, через точки проводят прямую линию. Из тангенса угла наклона прямой определяют $\Delta_a H$.

Переносят полученные результаты в табл. 2.4, делают выводы по работе.

Контрольные вопросы к работе

1. Дайте определение хроматографии, расскажите о классификации хроматографических методов.
2. Какие процессы протекают при разделении веществ в хроматографической колонке?
3. Опишите основные характеристики хроматограммы.
4. Хроматографические пики, их форма, причины размывания. Способы определения площади пиков.
5. Методы качественного анализа в хроматографии.
6. Принцип работы катарометра.
7. Дифференциально-молярная изостерическая теплота адсорбции q_{st} , методы ее определения.
8. Типы изотерм адсорбции в твёрдых адсорбентах.
9. Физическая адсорбция и хемосорбция, критерии их отличия.
10. Типы изотерм адсорбции, теория БЭТ.

Лабораторная работа 3. Определение дифференциально-молярной теплоты адсорбции при максимальной концентрации адсорбата в газовой фазе

Цель работы. Из температурной зависимости времени удерживания адсорбата определить дифференциально-молярную теплоту адсорбции при максимальной концентрации адсорбата в газовой фазе.

Теоретическое обоснование. Дифференциально-молярные изостерические (при постоянной степени заполнения поверхности θ) теплоты адсорбции q_{st} определяют графически, как это описано в разделе 2.1.1.1. Для этого проводят изостеры (горизонтальные линии) через построенные изотермы адсорбции (см. рис. 47), из точек пересечения линий находят смежные P_i и T_i при каждом θ (или a). Полученные данные располагают в координатах $\ln P = f(1/T)$ и из тангенсов угла наклона прямых вычисляют q_{st} при различных a (см. рис. 48).

Обычно если поверхность адсорбента энергетически неоднородная, то с увеличением θ (или a) теплота q_{st} снижается. Действительно, в первую очередь (при малых θ) заполняются энергетически ненасыщенные центры адсорбции с выделением максимальной энергии. С ростом же θ заполняются менее энергетически ненасыщенные центры и q_{st} снижается.

Но если поверхность по адсорбционным свойствам близка к однородной, то q_{st} по мере заполнения поверхности уменьшается незначительно и можно принять $q_{st} \cong \text{const}$.

Информацию о характере неоднородности поверхности может дать сравнение q_{st} , полученных из изотерм адсорбции, и т. н. дифференциально-молярной теплоты адсорбции при максимальной концентрации адсорбата в газовой фазе q , т. е. дифференциальной теплоты адсорбции при гарантированном заполнении поверхности адсорбатом (как бы при максимальном θ). Если они близки, то поверхность можно считать однородной.

Указанную величину q в хроматографии определяют из зависимости времени удерживания адсорбата t_R (см. радел 1.2.2.2) от температуры. Для этого выписывают хроматограммы вещества при различных температурах, полученные данные располагают в координатах $\ln t_R = f(1/T)$ и из тангенса прямой, проведенной через точки, определяют искомую дифференциально-молярную теплоту адсорбции при максимальной концентрации адсорбата в газовой фазе q .

Теоретические основы хроматографического построения изотерм адсорбции изложены в лабораторной работе 1 и разделе 1.3.1.

Методика выполнения работы. По заданию преподавателя выписывают хроматограмму исследуемого вещества (адсорбата) на неподвижной фазе хроматографа (адсорбенте) при определенной температуре T_1 и распечатывают ее на принтере.

Повышают температуры термостата колонок на 10°C , вновь выписывают и распечатывают хроматограмму. Так повторяют 3–4 раза (всего хроматограмм должно быть 5 или 6).

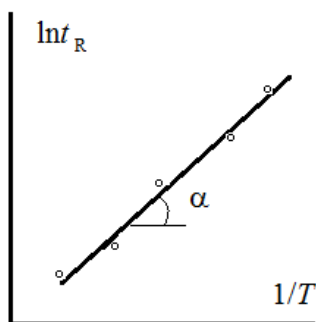


Рис. 59. График для определения дифференциально-молярной теплоты адсорбции при максимальной концентрации адсорбата в газовой фазе

Из полученных хроматограмм определяют исправленное время удерживания t_R при каждой использованной температуре T . Как уже отмечалось, в координатах $\ln t_R$ от $1/T$ опытные точки должны группироваться вдоль прямой (рис. 59). Если это так, то через отложенные точки проводят прямую и из ее тангенса угла наклона вычисляют $q = \operatorname{tg} \alpha \cdot R$.

Все вычисления и построения следует производить в программе Excel (см. приложение 1).

Последовательность выполнения работы

I. Открывают баллон с газом-носителем (гелием), с помощью редуктора устанавливают давление на входе в хроматограф 3–5 ати (см. рис. 3).

II. Включают хроматограф «Кристалл 2000М» или «Кристалл 2005». При этом возможны следующие варианты:

1. Хроматограф подготовлен к работе инженерами кафедры (наиболее вероятный вариант), на панели управления хроматографом (рис. 56) горит зеленым цветом лампочка «Готовность».

2. Хроматограф не включен, но колонка с нужной для исследований неподвижной фазой уже помещена в термостат колонок. В этом случае, руководствуясь приложением 2, включают компьютер, управляющий хроматографом, и после загрузки Windows находят на рабочем столе монитора иконку «Хроматэк Аналитик», дважды кликают на ней левой клавишей мыши.

ВНИМАНИЕ! Категорически запрещается включать в электросеть хроматограф без потока газа-носителя.

После запуска программы устанавливают в меню требуемые для анализа температуры испарителя, детектора (катарометра), термостата колонок и расход газа-носителя через оба канала испарителя (см. приложение 2). Все эти параметры задает преподаватель или инженер, отвечающий за работу хроматографа.

Далее необходимо выждать 30 мин для выхода хроматографа на режим работы, лампочка «Готовность» на панели управления хроматографа (рис. 56) должна загореться зеленым цветом. Хроматограф готов к работе.

3. Хроматограф не включен, и не подготовлена неподвижная фаза. В этом случае, руководствуясь разделом 1.2.1.6.1.4, набивают в хроматографическую колонку заданную преподавателем фазу (адсорбент) и подготовленную таким образом колонку помещают в термостат колонок.

Выводят хроматограф на режим ~30 мин.

III. Погружают иглу шприца в исследуемую жидкость (её задает преподаватель) и прокачивают её несколько раз поршнем. Это позволяет вытеснить весь попавший в иглу и шприц воздух и сводит к минимуму т. н. «сухой» шприц. При этом следует также избегать чрезмерных усилий при перемещениях поршня, так как это может привести к его изгибанию.

Набирают в хроматографический шприц 1 мкл исследуемого вещества и закалывают в испаритель хроматографа, следует сжимать только кромку шприца и головку поршня. Это позволяет избежать ошибки в дозировании жидкости из-за нагрева корпуса шприца.

Проткнув иглой шприца резинку испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на блоке хроматографа, зеленая лампочка «Готовность» гаснет и загорается лампочка «Анализ» — это время начала анализа (рис. 56). После выхода пика исследуемого вещества нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на блоке хроматографа — это конец анализа, загорается лампочка «Подготовка».

В конце анализа на хроматограмме появляется информация о времени удерживания и площади пика. Распечатывают на принтере полученную хроматограмму.

IV. Входят в меню программы «Хроматэк Аналитик» (см. приложение 2) и повышают температуру термостата колонок на 10°C. Начинается нагрев термостата, загорается лампочка «Подготовка» на панели управления хроматографа. После выхода на новый температурный режим загорается зеленой лампочка «Готовность» — хроматограф готов к работе.

Вновь набирают в хроматографический шприц 1 мкл адсорбата и закалывают в испаритель хроматографа, как это описано ранее. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на блоке хроматографа (см. рис. 56), зеленая лампочка «Готовность» гаснет и загорается лампочка «Анализ». После окончания анализа распечатывают на принтере полученную хроматограмму.

Так несколько раз повышают температуру на 10°C, каждый раз при этом выписывают и распечатывают хроматограммы, как это описано выше.

V. Из полученных хроматограмм выписывают время удерживания t_R при каждой использованной температуре и заносят его в табл. 2.5.

Таблица результатов вычислений

Температура, °C	Температура, К	$T^{-1} \cdot 10^3, \text{K}^{-1}$	$t_R, \text{с}$	$\ln t_R$	$q,$ Дж/моль

Сравнивают полученные значения q с данными по q_{st} из лабораторной работы 2.1.2.2. Делают выводы по работе.

Контрольные вопросы к работе

1. Дайте определение хроматографии, расскажите о классификации хроматографических методов.
2. Какие процессы протекают при разделении веществ в хроматографической колонке?
3. Опишите основные характеристики хроматограммы.
4. Хроматографические пики, их форма, причины размывания. Способы определения площади пиков.
5. Элюационные характеристики, определение исправленного времени удерживания.
6. Основные детекторы, используемых в ГЖХ.
7. Основные положения теории Лэнгмюра.
8. Изотермы адсорбции Лэнгмюра и Генри.
9. Методика построения изотермы адсорбции на основе хроматограммы.
10. Основные закономерности адсорбции из жидких растворов на твердых адсорбентах.
11. Дифференциально-молярная изостерическая теплота адсорбции q_{st} , методы ее определения.
12. Дифференциально-молярная теплота адсорбции при максимальной концентрации адсорбата в газовой фазе.
13. Типы изотерм адсорбции на твердых адсорбентах.
14. Физическая адсорбция и хемосорбция, критерии их отличия.
15. Типы изотерм адсорбции, теория БЭТ.

Лабораторная работа 4. Определение теплоты и энтропии растворения газохроматографическим методом

Цель работы. Из температурной зависимости удерживаемых объемов углеводородов на заданной неподвижной фазе (нелетучей жидкости или полимере в вязкотекучем состоянии) рассчитать теплоты растворения углеводородов, установить характер зависимости теплоты растворения от числа атомов углерода в углеводороде.

Теоретическое обоснование. Одной из основных термодинамических характеристик процессов растворения жидкостей друг в друге или газов в жидкостях является молярная теплота растворения q . Величину q в хроматографии определяют из температурной зависимости удельного удерживаемого объема V_g адсорбата (см. раздел 1.2.2.2). Для этого выписывают хроматограммы вещества на заданной неподвижной фазе (чаще всего это нелетучая жидкость или полимер в вязкотекучем состоянии, нанесенные на инертный носитель (см. раздел 2.2.2)) при различной температуре T , определяют время удерживания t_R , вычисляют из него удельный удерживаемый объем V_g (см. раздел 1.2.2.2), полученные данные располагают в координатах $\ln V_R = f(1/T)$ и из тангенса прямой, проведенной через точки, определяют искомую молярную теплоту растворения q .

Методика выполнения работы. Выписывают хроматограмму эквимольной смеси нормальных углеводородов: гексана, гептана, октана и нонана на неподвижной фазе хроматографа (ее задает преподаватель) при температуре 75°C. Определяют время удерживания t_R всех четырех углеводородов (4 пика) и записывают его в таблицу 2.6. Порядок выхода углеводородов соответствует возрастанию их молярной массы. Повторяют опыт еще 2 раза. Вычисляют среднее время удерживания каждого вещества при данной температуре.

Далее повышают температуру термостата колонок на 25°C и вновь выписывают 3 хроматограммы. Определяют время удерживания углеводородов для табл. 2.6, вычисляют средние t_R .

Повторяют при температурах 125°C и 150°C. Результаты измерений заносят в табл. 2.6.

Из средних t_R для каждого исследованного углеводорода при всех температурах вычисляют удельные удерживаемые объемы V_g (раздел 1.2.2.2).

Представляют полученные данные в координатах $\ln V_g$ от $1/T$, через точки проводят прямые (см. рис. 60), из тангенса угла их наклона вычисляют $q_i = \operatorname{tg} \alpha \cdot R$ (для углеводородов с различным числом атомов углерода n_C).

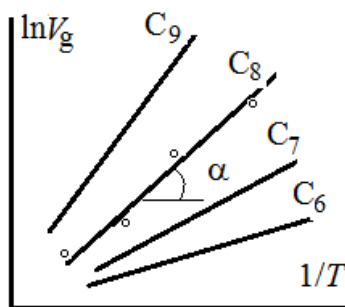


Рис. 60. График для определения теплоты растворения углеводородов с различным числом атомов углерода n_C ($C_6 - C_9$) в исследуемой неподвижной фазе

Полученные значения q_i для всех углеводородов записывают в табл. 2.5 и представляют их в координатах $q_i = f(n_C)$. Устанавливают характер полученной зависимости. Все вычисления и построения следует производить в программе Excel (см. приложение 1).

Делают выводы по работе.

Последовательность выполнения работы

I. Открывают баллон с газом-носителем (гелием), с помощью редуктора устанавливают давление на входе в хроматограф 3–5 ати (см. рис. 3).

II. Включают хроматограф «Кристалл 2000М» или «Кристалл 2005». При этом возможны следующие варианты:

1. Хроматограф подготовлен к работе инженерами кафедры (наиболее вероятный вариант).

2. Хроматограф не включен, но колонка с нужной для исследований неподвижной фазой уже помещена в термостат колонок. В этом случае, руководствуясь приложением 2, включают компьютер, управляющий хроматографом, и после загрузки Windows находят на рабочем столе монитора иконку «Хроматэк Аналитик», дважды кликают на ней левой клавишей мыши.

ВНИМАНИЕ! Категорически запрещается включать в электросеть хроматограф без потока газа-носителя;

После запуска программы устанавливают в меню требуемые для анализа температуры испарителя, детектора (катарометра), термостата колонок и расход газа-носителя через оба канала испарителя. Все эти параметры задает инженер, отвечающий за работу хроматографа (см. приложение 2).

Далее необходимо выждать 30 мин для выхода хроматографа на режим работы, лампочка на блоке управления хроматографа должна загореться зеленым цветом. Хроматограф готов к работе.

3. Хроматограф не включен, и не подготовлена в нем неподвижная фаза. В этом случае, руководствуясь разделом 1.2.1.6.1.4, набивают в хроматографическую колонку заданную преподавателем неподвижную фазу и колонку помещают в термостат колонок.

Выводят хроматограф на режим ~30 мин.

III. Погружают иглу шприца в исследуемую жидкость (эквимольную смесь нормальных углеводородов: гексана, гептана, октана и нонана) и прокачивают её несколько раз поршнем. Это позволяет вытеснить весь попавший в иглу и шприц воздух и сводит к минимуму т. н. «сухой» шприц. При этом следует также избегать чрезмерных усилий при перемещениях поршня, так как это может привести к его изгибанию.

Набирают в хроматографический шприц 1 мкл анализируемого раствора и закалывают в испаритель хроматографа. Для этого, проткнув иглой шприца резинку испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на блоке хроматографа (см. рис. 56), зеленая лампочка «Готовность» гаснет и загорается лампочка «Анализ» — это время начала анализа (рис. 56). После выхода всех 4 хроматографических пиков исследуемых веществ на хроматограмме вновь нажимают кнопку «Пуск/Стоп» — это время конца анализа. Загорается лампочка «Подготовка».

При работе с микрошприцем следует сжимать только кромку шприца и головку поршня. Это позволяет избежать ошибки в дозировании жидкости из-за нагрева корпуса шприца.

В конце анализа на хроматограмме появляется информация о времени удерживания и площадях пиков исследуемых углеводородов. Выписывают из хроматограммы время удерживания каждого вещества и заносят его в табл. 2.6. Повторяют опыт еще 2 раза.

IV. Входят в меню программы «Хроматэк Аналитик» (см. приложение 2) и повышают температуру термостата колонок на 25°C. Начинается нагрев термостата, загорается лампочка «Подготовка». После выхода на новый температурный режим вновь загорается зеленой лампочка «Готовность» — хроматограф готов к работе.

Снова набирают в хроматографический шприц 1 мкл указанной смеси веществ и закалывают ее в испаритель хроматографа. Выписывают хроматограмму, определяют время удерживания веществ. Повторяют опыт еще 2 раза так, как это описано выше.

Еще дважды повышают температуру на 25°C (проводя измерения при 125 и 150°C), каждый раз при этом выписывают 3 хроматограммы так, как это описано выше.

V. Далее из полученных хроматограмм выписывают t_R при каждой использованной температуре. Полученные данные заносят в табл. 2.6.

Рассчитывают средние значения t_R , вычисляют величины V_g и $\ln V_g$ записывают в таблицу 2.6.

По данным последних столбцов таблицы строят график зависимости $\ln V_g$ от $1/T$ для каждого углеводорода и по тангенсам угла наклона прямых определяют мольную теплоту растворения углеводородов (в Дж/моль):

$$q = R \cdot \operatorname{tg} \alpha.$$

Строят график зависимости q от числа атомов углерода в углеводороде (n_C).

Все вычисления и построения следует производить в программе Excel (см. приложение 1).

Таблица 2.6

Результаты измерений и расчетов

T		n_C	t_R , мин			Сред- нее t_R , мин	V_g , см ³ /мин	$\ln V_g$	$1/T$, K ⁻¹
°C	K		1	2	3				
75		6							
		7							
		8							
		9							

Продолжение табл. 2.6

T		n_c	t_R , мин			Сред- нее t_R , мин	V_g , см ³ /мин	$\ln V_g$	$1/T$, К ⁻¹
°С	К		1	2	3				
100		6							
		7							
		8							
		9							
125		6							
		7							
		8							
		9							
150		6							
		7							
		8							
		9							

Таблица 2.7

Таблица результатов расчетов

Углеводороды	n_c	$\operatorname{tg} \alpha$	q , Дж/моль
н-гексан	6		
н-гептан	7		
н-октан	8		
н-нонан	9		

Контрольные вопросы

1. Дайте определение хроматографии, расскажите о классификации хроматографических методов.
2. Какие процессы протекают при разделении веществ в хроматографической колонке?
3. Опишите элюационные характеристики хроматографии, удельный удерживаемый объем.
4. Опишите основные параметры хроматограммы.

5. Хроматографические пики, их форма, причины размывания. Способы определения площади пиков.
6. Основные детекторы, используемые в ГЖХ.
7. Методика определения теплоты растворения хроматографическим методом.
8. Молярная теплота растворения (абсорбции), методика ее хроматографического определения.

2.2. Лабораторные работы, в которых с помощью хроматографии исследуют физико-химические свойства полимеров (неподвижной фазы)

2.2.1. Общие сведения о физической химии полимеров

Среди многочисленных природных, искусственных и синтетических веществ выделяется группа соединений, отличающихся от других особыми свойствами. К этим свойствам в первую очередь относятся: способность испытывать большие упругие деформации (до 700%) — высокоэластические деформации, способность образовывать волокна, пленки, студни, растворы аномально высокой вязкости и др. Примерами таких веществ могут служить натуральный и синтетический каучуки, белки, целлюлоза, крахмал, большое число синтетических полимеров и т. п.

Было установлено, что все эти вещества состоят из макромолекул — гигантских молекул, относительная молярная масса которых превышает 5000. Поэтому указанные вещества называли **высокомолекулярными соединениями** (ВМС).

Высокомолекулярными соединениями называют вещества, в молекулах которых более или менее регулярно чередуется большое число одинаковых (или неодинаковых) атомных группировок, соединенных химическими связями в длинные линейные цепи или цепи, имеющие ответвления, а также в пространственные сетки.

Если в макромолекулярной цепи повторяются одинаковые звенья, то такие ВМС обычно называют полимерами (часто полимерами называют любые ВМС).

Особенности строения и свойств полимеров

Полимеров в настоящее время известно множество, их объединяют в данный класс веществ следующие особенности строения и свойств:

1. Наличие длинных цепных молекул (макромолекул), связанных между собой ван-дер-ваальсовыми связями. Сама цепь образована прочными химическими связями длиной $1-1,5 \text{ \AA}$, цепи же связаны между собой относительно слабыми ван-дер-ваальсовыми связями, радиус их действия $3-4 \text{ \AA}$.

В сетчатых полимерах химические связи действуют не только вдоль цепи, но и между цепями. Если число таких связей относительно мало по сравнению с числом звеньев в цепях (редкая сетка), то полимер сохраняет свойства, характерные для полимеров — способность к высокоэластическим деформациям и т. п. Если же практически каждое звено макромолекулы связано со звеном соседней цепи (сетка частая), то полимер теряет указанные свойства. Так, при вулканизации каучук превращается сначала в резину, которая еще сохраняет указанные свойства, а затем в эбонит — твёрдое вещество, не способное к высокоэластическим деформациям.

Если атомы в веществе соединены только химическими связями, то свойства его вообще не имеют ничего общего со свойствами полимеров. Так, алмаз — одна гигантская молекула (макромолекула), но полимерных свойств не проявляет. По этой же причине металлы также не могут быть отнесены к полимерам. Таким образом, *наличие гигантских молекул и двух типов связей* обуславливают все характерные свойства полимеров, которыми не обладают низкомолекулярные вещества.

2. Для полимеров свойственна неоднородность по химическому составу. В одной и той же цепи могут присутствовать звенья различного химического состава. Например, у ацетата целлюлозы различные звенья могут быть проэтерифицированы в разной степени. Но если среднее процентное содержание ацетатных групп в различных образцах ацетата целлюлозы одинаково, то и их физико-химические свойства практически не различимы (химическое строение звеньев при этом различается).

3. Для полимеров характерна неоднородность по молярной массе (полидисперсность). Макромолекулы, состоящие из одинаковых химических звеньев, но имеющие разную длину (молярную массу), называют **полимергомологами**. Поэтому полимеры обычно характеризуют некоторой **средней молярной массой**. В зависимости от типа усреднения различают среднечисловую, среднемассовую и средневязкостную молярные массы.

2.2.2. Физические и фазовые состояния полимеров

2.2.2.1. Фазовые состояния полимеров

Молекулярная структура (химический состав и последовательность соединения атомов в молекуле) не определяет однозначно поведение полимерного материала. Свойства полимера зависят также от его **надмолекулярной структуры**. Под этим термином понимают способ упаковки макромолекул в пространственно выделенных элементах, размеры и форму таких элементов, а также их взаимное расположение в материале.

В первую очередь надмолекулярная структура полимера определяется его фазовым состоянием. Если в структуре полимера имеется дальний порядок расположения элементов, т. е. существует кристаллическая решётка, то полимер является **кристаллическим**. Если в структуре полимера отсутствует дальний порядок, то полимер **аморфный**.

Главные мотивы структурной организации аморфных полимеров — *наличие упорядоченных областей, чередующихся с областями беспорядка, и малые размеры упорядоченных участков*.

Кристаллическое состояние получается в процессе кристаллизации жидкого (раствора или расплава) полимера, макромолекулы которого имеют *регулярное строение*. Такие полимеры называют **кристаллизующимися** (т. е. они могут кристаллизоваться). Все звенья и все заместители в таком полимере расположены в пространстве в определенном порядке.

Согласно проведённым исследованиям, главный мотив структурной организации кристаллических полимеров — **пластинчатые монокристаллы (ламели)**, в которых макромолекулы укладываются перпендикулярно широкой плоскости кристаллов. Толщина ламели обычно составляет 100–150 Å, а ширина и длина могут достигать нескольких микрометров. При регулярном складывании цепь макромолекулы после выхода из ламели сразу же возвращается обратно в соседнее положение, образуя на поверхности правильную петлю, содержащую 5–6 атомов цепи. В этом случае растут идеальные (совершенные) монокристаллы.

Однако в реальных кристаллах складывание макромолекулы в ламелях происходит нерегулярно: на поверхности ламели образуются петли различной длины, возвращение молекулы в ламель происходит в любой её точке (даже на других гранях). Часть макромолекул вообще не возвращаются в ламель, а составляют аморфную фазу на её поверхности или переходят в соседние ламели, соединяя их

между собой связками — **проходными цепями**. Связь между ламелями может осуществляться и за счёт сцепления двух петель от разных ламелей.

Длина кристаллизующейся макромолекулы намного превышает толщину ламели, и, чтобы уложиться в кристалл, макромолекула должна многократно сложиться.

2.2.2.2. Физические состояния аморфного полимера

Как уже отмечалось ранее, твердому агрегатному состоянию полимера могут соответствовать два фазовых состояния: кристаллическое и аморфное. При охлаждении расплавленных полимеров, макромолекулы которых имеют нерегулярное строение (некристаллизующиеся полимеры), образуется твердое аморфное состояние, которое называют **стеклообразным состоянием полимера**. Находясь в нём, полимер напоминает по виду и свойствам обычное силикатное (оконное) стекло: отсюда название — **органическое стекло**.

Стеклообразное состояние является единственно возможным твердым состоянием для некристаллизующихся полимеров. Процесс стеклования происходит не при строго определённой температуре (как это имеет место при кристаллизации), а в некоторой температурной области, охватывающей 5–10°C. В ней у полимера постепенно теряются свойства, характерные для жидкого состояния, и приобретаются свойства твердого тела. Среднюю температуру этой области называют **температурой стеклования T_c** .

Процесс кристаллизации полимеров должен происходить очень медленно, так как требуется определённое время для укладки макромолекул в ламели или другую решетку. Если *кристаллизующийся полимер* охлаждать быстро, то он не успевает закристаллизоваться и *переохлаждается*, переходя в стеклообразное состояние, при этом $T_c < T_{кр}$.

Из всех видов внутримолекулярного движения у полимера в стеклообразном состоянии возможны лишь колебательные движения атомов, входящих в состав цепи (валентные и деформационные). Вращение звеньев и перемещение цепей как единого целого отсутствуют.

При нагревании полимера выше T_c начинает проявляться внутреннее вращение звеньев вокруг -C—C- связей, цепи макромолекул приобретают способность под действием теплового движения или внешней нагрузки скручиваться и раскручиваться (менять свои конформации). При этом указанные колебательные движения

атомов сохраняются. Такое состояние аморфного полимера называют **высокоэластическим**. Полимеры в высокоэластическом состоянии (каучуки, эластомеры) способны к очень большим (до 700%) обратимым деформациям под действием относительно небольших нагрузок — **высокоэластическим деформациям**.

При дальнейшем нагревании *линейного* полимера (цепи такого полимера не «сшиты» поперечными связями — сеткой) реализуется подвижность цепей как единого целого. Макромолекулы приобретают способность при действии самой малой нагрузки перемещаться друг относительно друга, т. е. *течь*. При этом сохраняются колебательные и вращательные (вокруг σ -связей) движения атомов. Полимер переходит в **вязкотекучее состояние**. Такой переход осуществляется в некоторой области температур, среднюю температуру которой называют **температурой текучести** T_t .

Указанные три состояния аморфных полимеров называют *физическими состояниями*, они отличаются друг от друга не характером взаимного расположения макромолекул (структурой), как отличаются друг от друга фазовые состояния, а лишь *характером теплового движения частиц*, составляющих полимер: атомов, звеньев, макромолекул. В стеклообразном состоянии возможны лишь колебательные движения атомов. В высокоэластическом состоянии, наряду с колебаниями, становится возможным и вращение звеньев вокруг σ -связей. И, наконец, в вязкотекучем состоянии реализуется возможность перемещения макромолекул относительно друг друга.

В отличие от полимеров, низкомолекулярные аморфные вещества, например обычное стекло, могут находиться лишь в двух физических состояниях: стеклообразном и жидком (вязкотекучем). Высокоэластическое состояние *присуще лишь полимерам* и является уникальным состоянием вещества. Как уже говорилось, оно обусловлено способностью звеньев вращаться вокруг σ -связей, т. е. т. н. **гибкостью макромолекул**.

2.2.2.3. Термодинамика систем «полимер — растворитель»

Размеры макромолекул соизмеримы с размерами коллоидных частиц (1 нм — 1 мкм). Поэтому растворы ВМС обнаруживают ряд свойств, характерных для коллоидных систем, — светорассеяние (эффект Тиндаля), замедленную диффузию, тиксотропию и др. Однако в отличие от коллоидных золь-растворов ВМС являются молекулярно-дисперсными системами и удовлетворяют основным критериям истинных

растворов: самопроизвольности образования (термодинамически устойчивые системы), постоянству концентрации во времени, однофазности и др.

Сильно разбавленный раствор полимера небольшой молярной массы в хорошем растворителе представляет собой *гомогенный молекулярный раствор*. С увеличением концентрации или с ухудшением растворяющей способности растворителя макромолекулы полимера могут либо сворачиваться в относительно плотные клубки (глобулы), либо образовывать агрегаты из нескольких макромолекул. Оба этих процесса приводят к возникновению новой фазы. Раствор полимера, содержащий такую фазу, приобретает свойства обычного золя.

Состояние системы «полимер – растворитель» обычно показывают с помощью фазовой диаграммы в координатах температура – состав (равновесие ограниченно растворимых жидкостей). В любой точке диаграммы свойства системы не зависят от пути достижения этого состояния (равновесия): разбавления, концентрирования, охлаждения или нагревания.

Фазовые диаграммы, известные для систем ВМС-растворитель, приведены на рис. 61. Поскольку молярная масса ВМС значительно превышает молярную массу растворителя, состав на этих диаграммах обычно выражают в массовых или объёмных, но не в молярных долях. Известны системы с верхней критической температурой растворения (ВКТР), выше которой полимер полностью растворяется в низкомолекулярной жидкости при любой его концентрации. Область выше кривой соответствует однофазной гомогенной системе, область ниже кривой — двухфазной гетерогенной системе. Например, в точке *С* (рис. 62а) система расслаивается на две равновесные фазы составов N_1 (насыщенный раствор полимера В в растворителе А) и N_2 (насыщенный раствор растворителя в полимере). Здесь N_i — массовая или объёмная доля полимера в растворителе.

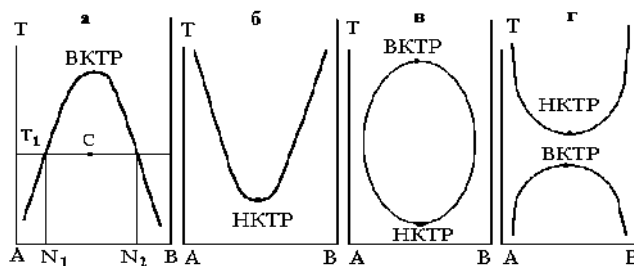


Рис. 61. Диаграммы фазового равновесия систем ВМС-растворитель:

а) система с ВКТР; б) система с НКТР; в) система с ВКТР и НКТР; г) система с ВКТР < НКТР.

Системами, имеющими ВКТР, являются: ацетат целлюлозы — хлороформ, полиизобутилен — бензол, полистирол — циклогексан и др. На рис. 61б приведена диаграмма системы с нижней критической температурой растворения (НКТР), ниже которой полимер и растворитель неограниченно растворимы друг в друге. Например, системы «полиэтиленоксид — вода», «метилцеллюлоза — вода», «нитрат целлюлозы — этанол» обладают НКТР. Для некоторых систем («полипропиленоксид — вода») реализуются замкнутые кривые растворимости с НКТР и ВКТР (рис. 61в).

Известен ещё один вид фазовых диаграмм, для которых НКТР находится выше ВКТР и выше температуры кипения растворителя (рис. 61г). Такие диаграммы характерны для систем, полимер и растворитель которых близки по химическому строению. При этом НКТР повышается при увеличении размеров молекул растворителя. Расслоение системы в данном случае принято объяснять большой разницей в термических коэффициентах расширения компонентов. Диаграммы состояния, соответствующие изображенной на рис. 61г, получены для систем «полиэтилен — алканы», «поливинилацетат — этилацетат», «поливиниловый спирт — вода» и др.

Термодинамика растворов объясняет существование диаграмм, изображенных на рис. 61, следующим образом. Поскольку растворы полимеров образуются самопроизвольно, их образование, как и всякий самопроизвольный процесс, сопровождается уменьшением энергии Гиббса, т. е.

$$\Delta_{\text{см}}G = (G_{\text{р-ра}} - \Sigma G_{\text{комп}}) < 0,$$

где $\Delta_{\text{см}}G$ — изменение энергии Гиббса при растворении; $G_{\text{р-ра}}$ — энергия Гиббса раствора; $\Sigma G_{\text{комп}}$ — сумма энергий Гиббса компонентов до растворения.

Энергия Гиббса связана с изменением энтальпии и энтропии процесса уравнением

$$\Delta_{\text{см}}G = \Delta_{\text{см}}H - T \cdot \Delta_{\text{см}}S, \quad (2.14)$$

где $\Delta_{\text{см}}H = H_{\text{р-ра}} - \Sigma H_{\text{комп}}$ и $\Delta_{\text{см}}S = S_{\text{р-ра}} - \Sigma S_{\text{комп}}$ — энтальпия и энтропия смешения соответственно.

Из условия $\Delta_{\text{см}}G < 0$ следует, что самопроизвольное растворение полимера без расслоения системы реализуется в нескольких вариантах:

$$1. \Delta_{\text{см}}H < 0 \text{ и } \Delta_{\text{см}}S > 0.$$

Растворение сопровождается выделением энергии в форме теплоты и возрастанием энтропии системы. Этот случай имеет место, когда энергия взаимодействия между разнородными молекулами больше, чем между однородными

(в расчете 1 моль растворителя и 1 моль звеньев цепи полимера). Как видно из (2.14), энергия Гиббса в процессе убывает и неограниченное растворение полимера в растворителе происходит при любых T .

$$2. \Delta_{\text{см}}H < 0 \text{ и } \Delta_{\text{см}}S < 0 \text{ при условии } |\Delta_{\text{см}}H| > |T \cdot \Delta_{\text{см}}S|.$$

Растворение также экзотермическое, но сопровождается уменьшением энтропии системы. Такой случай реализуется, например, при растворении полярных полимеров в полярных растворителях. Энтропия уменьшается за счет упорядочения структуры растворителя в сольватных оболочках вокруг звеньев макромолекул. При достижении определенной температуры реализуется соотношение $|T \cdot \Delta_{\text{см}}S| > |\Delta_{\text{см}}H|$ и $\Delta_{\text{см}}G$ становится положительной. Система расслаивается, т. е. такие системы обладают НКТР: ниже НКТР $\Delta_{\text{см}}G < 0$, выше НКТР $\Delta_{\text{см}}G > 0$.

$$3. \Delta_{\text{см}}H > 0 \text{ и } \Delta_{\text{см}}S > 0 \text{ при условии } |\Delta_{\text{см}}H| < |T \cdot \Delta_{\text{см}}S|.$$

Этот случай реализуется в неполярных растворителях, энергия взаимодействия макромолекул с которыми мала. Расслаивание в таких системах происходит при понижении температуры, т. е. они обладают ВКТР.

$$4. \Delta_{\text{см}}H = 0 \text{ и } \Delta_{\text{см}}S > 0.$$

Растворение атермическое (без теплового эффекта) и сопровождается возрастанием энтропии. Это наблюдается при растворении полимера в соответствующем ему гидрированном мономере, например поливинилацетата в этилацетате и др.

Диаграммам ϵ и ζ на рис. 61 соответствуют случаи сложной зависимости $\Delta_{\text{см}}H$ и $\Delta_{\text{см}}S$ от T : при одних температурах $\Delta_{\text{см}}H$ и $\Delta_{\text{см}}S$ больше нуля, при других меньше.

При образовании идеальных растворов (подчиняющихся закону Рауля) $\Delta_{\text{см}}H = 0$, $\Delta_{\text{см}}V = 0$ (объем раствора равен сумме объемов компонентов). В этом случае растворение обусловлено лишь возрастанием энтропии. Энтропия же увеличивается за счёт увеличения в процессе смешения числа энергетически эквивалентных микросостояний. Такую энтропию растворения называют комбинаторной и обозначают $\Delta_{\text{см}}S^0$. Так как $\Delta_{\text{см}}S^0 > 0$, $\Delta_{\text{см}}H = 0$, то $\Delta_{\text{см}}G < 0$.

Растворы полимеров всегда обнаруживают существенные отклонения от идеального поведения, даже если $\Delta_{\text{см}}H = 0$. Это обусловлено тем, что за счет гибкости макромолекул и большой разницы размеров молекул ВМС и растворителя

$\Delta_{\text{см}}S > \Delta_{\text{см}}S^0$. То есть даже атермический раствор полимера обнаруживает отрицательное отклонение от идеальности $\Delta_{\text{см}}G < \Delta_{\text{см}}G^0$.

На самом деле при растворении полимеров обычно $\Delta_{\text{см}}H \neq 0$ и $\Delta_{\text{см}}V \neq 0$, наблюдаемые отклонения от идеальности велики. Флори и Хаггинс для учета отклонения от идеальности в выражение для $\Delta_{\text{см}}G$ атермального раствора ввели дополнительный член, содержащий некоторый безразмерный **параметр χ** (параметр Флори — Хаггинса). Тогда уравнение для вычисления $\Delta_{\text{см}}G$ реальных растворов:

$$\Delta_{\text{см}}G = RT(n_1 \ln \phi_1 + n_2 \ln \phi_2 + n_1 \phi_2 \cdot \chi).$$

Здесь n_1, n_2 — число моль растворителя и полимера; ϕ_1, ϕ_2 — объемные доли растворителя и полимера соответственно.

Различают хорошие и плохие растворители. Хороший растворитель, интенсивно взаимодействующий с высокомолекулярным соединением, образует растворы со значительным понижением давления пара (отрицательные отклонения от закона Рауля). В плохом растворителе понижение давления пара невелико. Согласно теории Флори и Хаггинса, для растворителя, дающего идеальный раствор, $\chi = 1/2$, для хороших растворителей $\chi < 1/2$, для плохих растворителей $\chi > 1/2$. Например, параметр χ раствора натурального каучука в бензоле 0,42, в толуоле 0,39, ацетоне 1,40. Таким образом, χ — мера термодинамического сродства растворителя к полимеру, или мера качества растворителя (для очень хороших растворителей он может быть меньше нуля).

Применимость правила фаз к системам полимер – растворитель, как уже отмечалось, означает, что это термодинамически устойчивые равновесные системы. Однако из-за большого размера молекул ВМС равновесие в таких системах обычно устанавливается значительно медленнее, чем в растворах низкомолекулярных веществ. Скорость установления равновесия определяется скоростью взаимной диффузии и сильно зависит от природы полимера и растворителя, молярной массы и концентрации полимера, а также от его исходного физического состояния и исходной степени дисперсности полимерных частиц. Медленность установления равновесия обуславливает существование характерной только для процессов растворения полимеров стадии — стадии **набухания**.

Растворы полимеров агрегативно устойчивы в хорошо растворяющих их жидкостях. Нарушить устойчивость растворов ВМС можно путем ухудшения растворимости, вводя жидкости, плохо растворяющие данный полимер. Например, для белков и полисахаридов такими жидкостями являются этанол и ацетон. Для водорастворимых полимеров устойчивость нарушается также введением электролитов.

Под влиянием электролитов и «плохих» растворителей происходит процесс выделения ВМС из раствора, называемый **высаливанием**. Внешне такой процесс похож на коагуляцию. Однако если для коагуляции золь требуется малое количество электролита, а сам процесс коагуляции необратим, то для разрушения раствора ВМС требуется большая концентрация высаливателя, а сам процесс является обратимым. В основе механизма высаливания лежит процесс дегидратации (пересольватации). Ионы или молекулы введенного вещества сами начинают сольватироваться, отбирая часть молекул растворителя у полимера.

Возникающие в концентрированных растворах ВМС ассоциаты могут становиться зародышами новой фазы. Выделение образующейся фазы в виде мельчайших капелек называют **коацервацией**. При этом одна из фаз представляет собой концентрированный вязкий раствор полимера, а другая — разбавленный раствор того же полимера. *Коацерват* — термодинамически неравновесная система, близкая по свойствам к эмульсиям.

Лабораторная работа 5. Исследование термодинамики систем «полимер — растворитель» методом обращенной газовой хроматографии

Цель работы. Определить основные термодинамические функции системы «полимер — растворитель» методом обращенной газовой хроматографии. Вычислить параметр Флори — Хаггинса для указанной системы.

Теоретическое обоснование. Как уже отмечалось (см. раздел 2.2.2.3), одной из особенностей растворов полимеров является их неидеальное поведение (неподчинение закону Рауля) при самых малых концентрациях. Отрицательные отклонения от закона Рауля свидетельствуют о сильном сродстве компонентов раствора друг к другу, а положительные — о слабом. Отклонения от идеальности в растворах обуславливаются несоблюдением следующих условий:

$$\Delta_{\text{см}}H \neq 0 \text{ и } \Delta_{\text{см}}S \neq \Delta S_{\text{ид}},$$

где $\Delta_{\text{см}}H$ и $\Delta_{\text{см}}S$ — энтальпия и энтропия смешения компонентов. Характеристикой отклонения от идеальности в растворах могут служить *избыточные парци-*

альные молярные термодинамические функции смешения. Если обозначить изменение термодинамических функций при получении идеального раствора через $\Delta G^{\text{ид}}$, $\Delta H^{\text{ид}}$ и $\Delta S^{\text{ид}}$, а изменение энергии Гиббса, сопровождающее образование реального раствора, через $\Delta_{\text{см}}G$, то соответствующие избыточные функции смешения (отмечаются верхним индексом «E») можно представить как разность:

$$G^E = \Delta_{\text{см}}G - \Delta G^{\text{ид}}, \quad (2.15)$$

$$S^E = \Delta_{\text{см}}S - \Delta S^{\text{ид}}. \quad (2.16)$$

Поскольку при образовании идеального раствора $\Delta H^{\text{ид}} = 0$, то

$$H^E = \Delta_{\text{см}}H. \quad (2.17)$$

Из термодинамики известно, что избыточные термодинамические функции смешения могут быть вычислены из соотношений

$$G^E = RT \cdot \sum \ln \gamma_i, \quad (2.18)$$

$$H^E = R \frac{\partial \ln \gamma_i}{\partial (1/T)}, \quad (2.19)$$

$$S^E = \frac{H^E - G^E}{T}. \quad (2.20)$$

При реализации обращенной газовой хроматографии, когда неподвижной фазой служит нелетучая жидкость или полимер в вязкотекучем состоянии (о физических состояниях полимеров см. в разделе 2.2.2.2), то она выступает в роли растворителя (индекс 1 в обозначении γ_1), а в роли растворенного вещества — адсорбат (индекс 2 в обозначении γ_2). Можно принять, что при хроматографировании реализуется условие бесконечного разбавления (концентрация адсорбата в фазе ничтожно мала) и для растворителя $\gamma_1 \cong 1$. Тогда в уравнении (2.18) сумму можно свести к одному слагаемому $\ln \gamma_2$ (индекс i заменить на «2») и все отклонения от идеальности свести к γ_2 .

Величину $\ln \gamma_2$ можно определить из хроматографических данных по уравнению

$$\ln \gamma_2 = \ln \frac{273,15 \cdot R}{V_g P_2^0 M_1} - \frac{P_2^0}{RT} (B_{11} - V_2). \quad (2.21)$$

Здесь M_1 — молярная масса нелетучей жидкости или полимера в неподвижной фазе, B_{11} — второй вириальный коэффициент адсорбата при температуре колонки, V_2 — его молярный объём, P_2^0 — давление насыщенного пара чистого сорбата, V_g — приведённый (к 273,15 К) удельный удерживаемый объём (см. раздел 1.2.2.2).

Вычислив, используя хроматографические данные, по уравнению (2.18) $\ln \gamma_2$, можно определить G^E при различных температурах. Из тангенса угла наклона прямой, проведенной через опытные точки, расположенные в координатах $\ln \gamma_2 = f(1/T)$, можно рассчитать H^E . Далее, зная H^E и G^E , по уравнению (2.20) вычислить S^E , т. е. можно определить все избыточные термодинамические функции смещения адсорбата с жидкостью неподвижной фазы (полимера и растворителя).

В уравнение (2.21) входит молярная масса неподвижной фазы M_1 , что в случае полимерных неподвижных фаз вызывает неопределенность в расчете $\ln \gamma_2$, тем более если это относится к полидисперсным полимерам. В приведенной ниже лабораторной работе M_1 будет подбираемым параметром, т. е. его значение выбирают таким, чтобы вычисленные значения γ_2 были близки к значениям, определяемым другим, независимым методом.

Применение теории Флори — Хаггинса в хроматографии дает уравнение для вычисления параметра Флори — Хаггинса:

$$\chi = \ln \frac{273,15 \cdot R \cdot v_1}{V_g P_2^0 V_2} - \left(1 - \frac{V_2}{M_1 v_1}\right) - \frac{P_2^0}{RT} (B_{11} - V_2), \quad (2.22)$$

где v_2 и v_1 — удельные объемы адсорбата и полимера.

Отметим, что при использовании уравнений (2.21) и (2.22) необходимо знать величину второго вириального коэффициента адсорбата B_{11} . Для неполярных адсорбатов B_{11} можно рассчитать, зная критические параметры адсорбата, например

$$\frac{B_{11} P_{кр}}{RT_{кр}} = \frac{9}{128} \left[1 - 6 \left(\frac{T_{кр}}{T}\right)^2\right]. \quad (2.23)$$

Для $T/T_{кр}$ от 0,6 до 1,0 $\frac{P_{кр} V_{кр}}{RT_{кр}} = 0,282$ и

$$B_{11} = V_{кр} \left[0,25 - 1,5 \left(\frac{T_{кр}}{T}\right)^2\right]. \quad (2.24)$$

Методика выполнения работы. По заданию преподавателя готовят неподвижную фазу хроматографа, для этого наносят нелетучую жидкость или полимер в вязкотекучем состоянии на инертный носитель.

Набивают полученную фазу в хроматографическую колонку и помещают колонку в термостат колонок хроматографа «Кристалл 2000М» или «Кристалл 5000».

Включают хроматограф и выводят его на требуемый режим работы (см. приложение 2).

Выписывают хроматограмму заданного преподавателем адсорбата на полученной неподвижной фазе хроматографа при температуре T_1 . Определяют из нее время удерживания t_R и записывают в таблицу 2.8. Повторяют опыт еще 2 раза. Вычисляют среднее время удерживания вещества при данной температуре.

Далее повышают температуру термостата колонок на 10°C и вновь выписывают 3 хроматограммы. Определяют время удерживания адсорбата для табл. 2.8 и вычисляют среднее t_R .

Повторяют опыт еще при двух температурах. Результаты измерений заносят в табл. 2.8.

Из средних t_R при всех температурах вычисляют удельные удерживаемые объемы V_g (раздел 1.2.2.2).

Подставляют полученные данные в уравнения (2.18–2.20) и вычисляют термодинамические свойства системы «адсорбат — жидкость» неподвижной фазы хроматографической колонки.

Все вычисления и построения следует производить в программе Excel (см. приложение 1).

Делают выводы по работе.

Последовательность выполнения работы

По заданию преподавателя готовят неподвижную фазу хроматографа, для этого наносят на инертный носитель нелетучую жидкость (с большой молярной массой) или полимер в вязкотекучем состоянии.

Набивают полученную фазу в хроматографическую колонку и помещают колонку в термостат колонок хроматографа «Кристалл 2000М» или «Кристалл 5000».

1. Открывают баллон с газом-носителем (гелием), с помощью редуктора устанавливают давление на входе в хроматограф 3–5 ати (см. рис. 3).

2. Включают хроматограф. Для этого включают компьютер, управляющий хроматографом, и после загрузки Windows находят на рабочем столе монитора иконку «Хроматэк Аналитик», дважды кликают на ней левой клавишей мыши.

ВНИМАНИЕ! Категорически запрещается включать в электросеть хроматограф без потока газа-носителя.

После запуска программы устанавливают в меню требуемые для анализа температуры испарителя, детектора (катарометра), термостата колонок и расход газа-носителя через оба канала испарителя (см. приложение 2). Все эти параметры задает инженер, отвечающий за работу хроматографа.

Далее необходимо выждать 30 мин для выхода хроматографа на режим работы, лампочка «Готовность» на блоке управления хроматографа должна загореться зеленым цветом. Хроматограф готов к работе.

3. Погружают иглу шприца в исследуемую жидкость (адсорбат) и прокачивают ее несколько раз поршнем. Это позволяет вытеснить весь попавший в иглу и шприц воздух и сводит к минимуму т. н. «сухой» шприц. При этом следует также избегать чрезмерных усилий при перемещениях поршня, так как это может привести к его изгибанию

Набирают в хроматографический шприц 1 мкл анализируемого вещества и закалывают в испаритель хроматографа. Для этого, проткнув иглой шприца мембрану испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на блоке хроматографа (см. рис. 57), зеленая лампочка «Готовность» гаснет и загорается лампочка «Анализ» — это время начала анализа. После выхода хроматографического пика исследуемого вещества на хроматограмме вновь нажимают кнопку «Пуск/Стоп» — это время конца анализа. Загорается лампочка «Подготовка».

В этот момент на хроматограмме появляется информация о времени удерживания и площади пика исследуемого адсорбата. Заносят эти данные в табл. 2.8. Повторяют опыт еще 2 раза.

4. Входят в меню программы «Хроматэк Аналитик» (см. приложение 2) и повышают температуру термостата колонок на 10°C. Начинается нагрев термостата, загорается лампочка «Подготовка». После выхода на новый температурный режим вновь загорается зеленым лампочка «Готовность» — хроматограф готов к работе.

Снова набирают в хроматографический шприц 1 мкл адсорбата и закалывают в испаритель хроматографа. Выписывают хроматограмму, определяют время удерживания вещества.

Еще дважды повышают температуру на 10°C, каждый раз при этом выписывают 3 хроматограммы так, как это описано выше.

5. Из полученных при всех использованных температурах хроматограмм выписывают t_R . Полученные данные заносят в табл. 2.8.

Подставляют полученные данные в уравнения (2.18–2.22) и вычисляют термодинамические свойства системы «адсорбат — жидкость» неподвижной фазы хроматографической колонки, а также параметр термодинамического взаимодействия Флори — Хаггинса.

Таблица 2.8

Таблица результатов опытов и вычислений

Время удерживания, с	Приведённый удерживаемый объем, м ³	$\ln \gamma_2$	ΔG , Дж/моль	ΔH , Дж/моль

Делают выводы по работе.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение хроматографии, расскажите о классификации хроматографических методов.

2. Какие процессы протекают при разделении веществ в хроматографической колонке?

3. Опишите элюационные характеристики хроматографии, удельный удерживаемый объем.

4. Опишите основные параметры хроматограммы.

5. Хроматографические пики, их форма, причины размывания. Способы определения площади пиков.

6. Основные детекторы, используемые в ГЖХ.

7. Избыточные парциальные молярные термодинамические функции смешения, методика их определения хроматографическим методом.

8. Критерий Флори — Хаггинса, методика его определения хроматографическим методом.

9. Фазовые диаграммы систем ВМС-растворитель, виды и термодинамический анализ.

10. Последовательность выполнения работы.

Лабораторная работа 6. Определение температуры стеклования полимеров методом обращенной газовой хроматографии

Цель работы. Определить температуру стеклования полимера неподвижной фазы методом обращенной газовой хроматографии.

Теоретическое обоснование. Как уже обсуждалось ранее (см. раздел 2.2.2.2), аморфные полимеры могут находиться в трех физических состояниях: стеклообразном, высокоэластическом и вязкотекучем, отличающихся друг от друга характером теплового движения кинетических единиц. Так, в стеклообразном полимере возможны только колебательные движения (валентные или деформационные) атомов полимерных цепей, в высокоэластическом состоянии к ним добавляются вращательные движения звеньев цепи вокруг σ -связей (т. н. сегментальное движение). Изменение характера теплового движения приводит к изменению характера сорбционных процессов, на которые способна фаза полимера.

Действительно, стеклообразный полимер, по сути, обычное твердое тело — адсорбент, который способен лишь к *адсорбции* веществ из газовой или жидкой фазы, в этом случае адсорбаты не способны проникать вглубь полимера. И если при этом для исследования адсорбционных свойств такого полимера используют «чуждые по полярности» тестирующие вещества (адсорбаты), то время их удерживания при хроматографировании будет небольшим. При повышении температуры до и выше температуры стеклования $T_{ст}$ полимер переходит в высокоэластическое состояние и становятся возможными процессы проникновения (диффузии) адсорбатов вглубь фазы полимера (абсорбция адсорбата). Время удерживания при этом возрастает.

На этом основано хроматографическое определение $T_{ст}$ полимеров. Полимер в виде гранул, порошка или нанесенного на поверхность инертного носителя помещают в хроматографическую колонку и, повышая температуру колонки, выписывают хроматограммы тестирующих веществ. С повышением температуры время удерживания веществ постепенно уменьшается (см. раздел 1.3.4), но при достижении температуры стеклования возрастает и далее с ростом T вновь

падает — время удерживания и в высокоэластическом состоянии полимера снижается при повышении температуры (см. рис. 41).

Методика выполнения работы. Заданную преподавателем неподвижную фазу (полимер в том или ином виде) набивают в хроматографическую колонку и помещают ее в термостат колонок хроматографа «Кристалл 2000М» или «Кристалл 5000».

Включают хроматограф и выводят его на требуемый режим работы (см. приложение 2).

Выписывают хроматограмму заданного преподавателем адсорбата на неподвижной фазе хроматографа при начальной температуре T_1 . Определяют из хроматограммы время удерживания адсорбата t_R . Далее повышают температуру термостата колонок на 5°C , вновь выписывают хроматограмму и определяют t_R . Время удерживания с повышением температуры закономерно уменьшается.

Повторяют опыты, повышая температуру на 5°C до тех пор, пока время t_R при определенной температуре T_x возрастет или не изменится. Далее температуру повышают лишь на $2\text{--}3^\circ\text{C}$ до тех пор, пока время удерживания не станет вновь снижаться. Результаты измерений заносят в табл. 2.9.

Полученные данные располагают в координатах $\ln t_R = f(1/T)$, по точкам перегибов на кривой определяют температуру стеклования, как это показано на рис. 41.

По заданию преподавателя описанные опыты могут быть повторены с другим тестирующим веществом (адсорбатом), это позволит точнее определить температуру стеклования исследуемого полимера.

Все вычисления и построения следует производить в программе Excel (см. приложение 1).

Последовательность выполнения работы

По заданию преподавателя готовят неподвижную фазу, для этого наносят полимер *в стеклообразном состоянии* на инертный носитель (см. раздел 1.2.1.6.1.4) либо используют порошкообразный полимер.

Набивают полученную фазу в хроматографическую колонку и помещают колонку в термостат колонок хроматографа «Кристалл 2000М» или «Кристалл 5000».

1. Открывают баллон с газом-носителем (гелием), с помощью редуктора устанавливают давление на входе в хроматограф $3\text{--}5$ ати (см. рис. 3).

2. Включают хроматограф. Для этого включают компьютер, управляющий хроматографом, и после загрузки Windows находят на рабочем столе монитора иконку «Хроматэк Аналитик», дважды кликают на ней левой клавишей мыши.

ВНИМАНИЕ! Категорически запрещается включать в электросеть хроматограф без потока газа-носителя.

После запуска программы устанавливают в меню требуемые для анализа температуры испарителя, детектора (катарометра), термостата колонок и расход газа-носителя через оба канала испарителя. Начальную температуру T можно задать, если известна температура стеклования исследуемого полимера — T должна быть ниже $T_{ст}$ на 20–30°. Если полимер неизвестен, то начинать следует с 30–40°C (или ее устанавливает преподаватель).

Далее необходимо выждать 30 мин для выхода хроматографа на режим работы, лампочка «Готовность» на блоке управления хроматографа должна загореться зеленым цветом. Хроматограф готов к работе.

3. Погружают иглу шприца в исследуемую жидкость (адсорбат) и прокачивают её несколько раз поршнем. Это позволяет вытеснить весь попавший в иглу и шприц воздух и сводит к минимуму т. н. «сухой» шприц. При этом следует также избегать чрезмерных усилий при перемещениях поршня, так как это может привести к его изгибанию.

Набирают в хроматографический шприц 1 мкл тестирующего вещества (адсорбата) и закалывают в испаритель хроматографа. Для этого, проткнув иглой шприца резинку испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на блоке хроматографа (см. рис. 56), зеленая лампочка «Готовность» гаснет и загорается лампочка «Анализ» — это время начала анализа (рис. 56). После выхода хроматографического пика вещества на хроматограмме вновь нажимают кнопку «Пуск/Стоп» — это время конца анализа. Загорается лампочка «Подготовка».

В конце анализа на хроматограмме появляется информация о времени удерживания и площади пика исследуемого адсорбата. Выписывают из хроматограммы время удерживания вещества и заносят в табл. 2.9.

4. Входят в меню программы «Хроматэк Аналитик» (см. приложение 2) и повышают температуру термостата колонок на 5°C. Начинается нагрев термо-

стата, загорается лампочка «Подготовка». После выхода на новый температурный режим вновь загорается зеленым лампочка «Готовность» — хроматограф готов к работе.

Снова набирают в хроматографический шприц 1 мкл адсорбата и закалывают в испаритель хроматографа. Выписывают хроматограмму, определяют время удерживания вещества. Повторяют опыты, повышая температуру на 5°C до тех пор, пока время t_R при определенной температуре T_x возрастет или не изменится. Далее температуру повышают лишь на 2–3°C до тех пор, пока время удерживания не станет вновь снижаться. Результаты измерений заносят в табл. 2.9.

5. Строят график в координатах $\ln t_R$ от $1/T$, по характерному перегибу на нём определяют температуру стеклования полимера (рис. 41).

Таблица 2.9

Таблица результатов опытов и вычислений

Температура, °C	Время удерживания t_R , с	$1/T$, K ⁻¹	$\ln t_R$	Температура стеклования $T_{ст}$, °C

Делают выводы по работе.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение хроматографии, расскажите о классификации хроматографических методов.
2. Какие процессы протекают при разделении веществ в хроматографической колонке?
3. Опишите элюационные характеристики хроматографии, удельный удерживаемый объем.
4. Хроматографические пики, их форма, причины размывания. Способы определения площади пиков.
5. Основные детекторы, используемые в ГЖХ.
6. Физические и фазовые состояния полимеров.

7. Особенности высокоэластического состояния полимеров.
8. Температура стеклования и методика ее определения хроматографическим методом.
9. Адсорбция и абсорбция тестирующих веществ фазой полимера.

Лабораторная работа 7. Определение коэффициента диффузии веществ в полимерах (неподвижной фазе) методом обращенной газовой хроматографии

Цель работы. Определить коэффициент диффузии органического вещества (далее тестирующего вещества) в фазе нелетучей жидкости или полимера методом обращенной газовой хроматографии.

Теоретическое обоснование. Как это следует из раздела 1.2.3.3, коэффициент диффузии адсорбата (летучего органического вещества) входит в выражение для константы C уравнения Ван-Деемтера:

$$H = A + \frac{B}{u} + C \cdot u, \quad (2.25)$$

связывающего высоту, эквивалентную теоретической тарелке H , с линейной скоростью газа-носителя u . Здесь A , B и C — константы уравнения.

То есть если хроматографическим методом определить константу C , то можно вычислить коэффициент диффузии D тестирующего вещества в неподвижной фазе хроматографа.

Для этого нелетучую жидкость или полимер помещают в хроматографическую колонку и записывают хроматограммы тестирующих веществ при различных линейных скоростях газа-носителя u . По уравнению (1.23) рассчитывают ВЭТТ (H), соответствующие данным u . Далее методом наименьших квадратов вычисляют константы A , B и C . Из последней рассчитывают D из уравнения:

$$C = \frac{8d_f^2 k'}{\pi^2 D \cdot (1 + k')^2}, \quad (2.26)$$

где d_f — толщина пленки полимера; k' — коэффициент емкости.

Методика выполнения работы. Заданную преподавателем неподвижную фазу (нелетучую жидкость, нанесенную на инертный носитель или полимер в том или ином виде) набивают в хроматографическую колонку и помещают её в термостат колонок хроматографа «Кристалл 2000М» или «Кристалл 5000».

Включают хроматограф и выводят его на требуемый режим работы (см. приложение 2).

Выписывают хроматограмму заданного преподавателем тестирующего вещества (органического растворителя) на неподвижной фазе хроматографа при определенной температуре T и объемной скорости газа-носителя ω . Определяют из хроматограммы время удерживания t , исправленное время удерживания t_R , а также ширину пика на середине его высоты $l_{0,5}$. Опыт повторяют еще 2 раза и вычисляют средние при данной скорости ω , указанные выше элюационные характеристики хроматограммы (см. раздел 1.2.2.2).

Далее увеличивают объемную скорость на ~ 5 см³/мин, вновь трижды выписывают хроматограммы и вычисляют средние значения указанных величин. Всего таких измерений нужно произвести 5–6. Результаты измерений заносят в табл. 2.10.

По разности средних времен удерживания t и t_R вычисляют «мертвое» время $t_0 = t - t_R$ и $k' = t_R/t_0$ — коэффициент емкости. Зная среднее $l_{0,5}$ и t_R , рассчитывают число теоретических тарелок N :

$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{l_{0,5}} \right)^2 = \left(\frac{t_R}{l_s} \right)^2 = 4 \left(\frac{t_R}{l_{2\sigma}} \right)^2.$$

Из полученного значения N определяют высоту, эквивалентную теоретической тарелке H (см. раздел 1.2.2.3).

Средние линейные скорости u газа-носителя вычисляют по уравнению

$$u = L/t_0,$$

где L — длина колонки.

Все вычисления и построения следует производить в программе Excel (см. приложение 1): в таблицу Excel вносят полученные экспериментальные данные, из них вычисляют H и u , подбирают константы уравнения Ван-Деемтера (1.43). Из найденной таким образом константы C , зная k' и толщину пленки полимера d_f , вычисляют по (2.26) коэффициент диффузии D .

Последовательность выполнения работы

1. По заданию преподавателя готовят неподвижную фазу, для этого наносят нелетучую жидкость или полимер на инертный носитель (см. раздел 1.2.1.6.1.4). Для того чтобы можно было точно определить толщину пленки по-

лимера d_f в (2.26), следует использовать непористый носитель, например стеклянные шарики (носитель для хроматографии) определенного среднего радиуса r (обычно он известен).

2. Перед нанесением полимера взвешивают $n \cong 20\text{--}30$ стеклянных шариков и определяют их массу m , далее вычисляют число шариков, приходящихся на единицу их массы: n/m . Взвешивают (масса m_1) все стеклянные шарики, на которые предполагается наносить полимер, и определяют их число: $n_1 = m_1 \cdot n/m$. Зная площадь одного шарика ($4\pi r^2$), вычисляют поверхность всех шариков фазы: $S_1 = 4\pi r^2 \cdot n_1$. Наносят на шарики определенную навеску (или объем V) полимера. Толщину пленки d_f вычисляют делением объема нанесенного полимера на площадь всех использованных шариков: V_1/S_1 .

Набивают полученную фазу в хроматографическую колонку и помещают колонку в термостат колонок хроматографа «Кристалл 2000М» или «Кристалл 5000».

3. Открывают баллон с газом-носителем (гелием), с помощью редуктора устанавливают давление на входе в хроматограф 3–5 ати (см. рис. 3).

4. Включают хроматограф. Для этого включают компьютер, управляющий хроматографом, и после загрузки Windows находят на рабочем столе монитора иконку «Хроматэк Аналитик», дважды кликают на ней левой клавишей мыши.

ВНИМАНИЕ! Категорически запрещается включать в электросеть хроматограф без потока газа-носителя.

После запуска программы устанавливают в меню требуемые для анализа температуры испарителя, детектора (катарометра), термостата колонок и расход газа-носителя через оба канала испарителя.

Далее необходимо выждать время, необходимое для выхода хроматографа на режим работы, лампочка «Готовность» на блоке управления хроматографа должна загореться зеленым цветом. Хроматограф готов к работе.

5. Погружают иглу шприца в исследуемую жидкость и прокачивают её несколько раз поршнем. Это позволяет вытеснить весь попавший в иглу и шприц воздух и сводит к минимуму возникновение т. н. «сухого» шприца. При этом следует также избегать чрезмерных усилий при перемещениях поршня, так как это может привести к его изгибанию.

Набирают в хроматографический шприц 1 мкл тестирующего вещества и закалывают в испаритель хроматографа. Для этого, проткнув иглой шприца мембрану испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/Стоп» на блоке хроматографа (см. рис. 57), зеленая лампочка «Готовность» гаснет и загорается лампочка «Анализ» — это время начала анализа. После выхода хроматографического пика вещества на хроматограмме вновь нажимают кнопку «Пуск/Стоп» — это время конца анализа. Загорается лампочка «Подготовка».

В конце анализа на хроматограмме появляется информация о времени удерживания воздуха t_0 и тестирующего вещества t и площади пика. Заносят эти данные в табл. 2.10. Повторяют опыт еще 2 раза.

6. Входят в меню программы «Хроматэк Аналитик» (см. приложение 2) и увеличивают объемную скорость газа носителя на $\sim 5 \text{ см}^3/\text{мин}$. После выхода на новый режим работы вновь загорается зеленой лампочка «Готовность» — хроматограф готов к работе.

Снова набирают в хроматографический шприц 1 мкл вещества и закалывают в испаритель хроматографа. Выписывают хроматограмму и определяют на ней указанные выше величины. Повторяют опыты, повышая ω на $\sim 5 \text{ см}^3/\text{мин}$, всего должно быть 5–6 значений ω . Результаты измерений заносят в табл. 2.10.

7. По разности среднего времени удерживания вычисляют «мертвое» время $t_0 = t - t_R$ и $k' = t_R/t_0$ — коэффициент емкости. Зная среднее t_R и $l_{0,5}$, рассчитывают число теоретических тарелок N :

$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{l_{0,5}} \right)^2 = \left(\frac{t_R}{l_s} \right)^2 = 4 \left(\frac{t_R}{l_{2\sigma}} \right)^2.$$

Из полученного значения N определяют высоту, эквивалентную теоретической тарелке H (см. раздел 1.2.2.3). Рассчитывают линейные скорости:

$$u = L/t_0,$$

где L — длина колонки.

Все вычисления и построения следует производить в программе Excel (см. приложение 1): в таблицу Excel вносят полученные данные t , t_R , $l_{0,5}$, k' , H и u , подбирают константы уравнения (2.25). Из найденной таким образом константы C , зная k' и толщину пленки полимера d_f , вычисляют коэффициент диффузии D .

Таблица результатов опытов и вычислений $T = ^\circ\text{C}$, $d_f = \text{м}$

ω , $\text{см}^3/\text{мин}$	Вре- мя удер- жива- ния t , с	Исправ- ленное время удержи- вания t_R , с	Мерт- вое время, t_0	k'	$l_{0.5}$	H , м	C	D , $\text{м}^2/\text{с}$

Лабораторная работа 8. Определение молярной массы полимера методом эксклюзионной (гель-проникающей) хроматографии

Цель работы. Методом эксклюзионной (гель-проникающей) хроматографии определить молярную массу исследуемого полимера (полимергомолога), для этого провести калибровку хроматографа по узкодисперсным полимерным стандартам и рассчитать среднюю молярную массу образца с неизвестной молярной массой.

Теоретическое обоснование. Как уже отмечалось (см. раздел 1.3.1.1.1), роль подвижной фазы в жидкостной хроматографии играет жидкость (элюент), движущаяся в каналах между частицами неподвижной фазы вдоль колонки. Анализируемое вещество (макромолекула), перемещаясь вместе с подвижной фазой, время от времени делает остановки при попадании в поры неподвижной фазы, размер которых по порядку величины соответствует размеру макромолекулы. Время между последовательными остановками может быть записано как

$$t = t_R + t_0 + t_k.$$

Здесь t_R — время, проведенное молекулой в подвижной фазе, $t_0 = d^2/D$, d — размер каналов, по которым макромолекулы двигаются в неподвижной фазе, D — коэффициент поперечной диффузии, t_k — время перехода из подвижной фазы в неподвижную и обратно.

Обычно в процессах высокоэффективной жидкостной хроматографии (High Performance Liquid Chromatography) время t_k много меньше первых двух слагаемых и его можно не учитывать. Если число остановок при движении по колонке достаточно велико, то и общее время движения макромолекулы по колонке достаточно велико по сравнению с характерным временем установления равновесия растворенного вещества между подвижной и неподвижной фазами. В этом случае для определения вероятности нахождения макромолекулы в единице объема неподвижной фазы по отношению к подвижной фазе — коэффициента емкости k' (см. раздел 1.2.2.2) можно использовать методы равновесной термодинамики.

$$k' = \exp\left(\frac{-\Delta G^0}{RT}\right) = \exp\left(\frac{T\Delta S^0 - \Delta H^0}{RT}\right). \quad (2.27)$$

Для цепи, состоящей из N сегментов:

$$k' = \exp(N \cdot \Delta\mu), \quad (2.28)$$

где $\Delta\mu$ — изменение химического потенциала сегмента при его межфазном переходе.

Коэффициент в случае жидкостной хроматографии макромолекул определяется следующим образом:

$$k' = \frac{V_R - V_0}{V_t - V_0}, \quad (2.29)$$

где V_R — объем элюэнта, с которым выходит из колонки данное вещество; V_0 — объем элюэнта, определяемый по выходу наиболее крупных макромолекул, не попадающих в поры; V_t — объем элюирования веществ, выходящих вместе с фронтом растворителя.

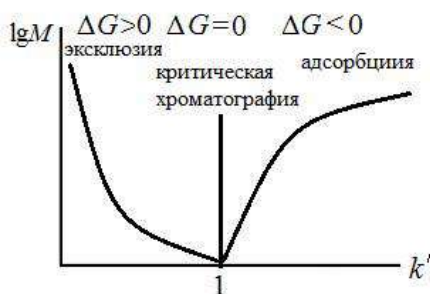


Рис. 62. Режимы жидкостной хроматографии в зависимости от k'

Из (2.31) видно, что в зависимости от знака ΔG макромолекулы ведут себя различным образом при попадании в поры неподвижной фазы (см. рис. 62): если

$\Delta G > 0$, то k' стремится к 0 с ростом длины макромолекулы (при этом уменьшается и объем элюирования). Это соответствует эксклюзионному режиму хроматографии. При $\Delta G < 0$ k' экспоненциально растет с ростом молярной массы, и это соответствует адсорбционному режиму хроматографии. Таким образом, оба режима хроматографии могут рассматриваться в рамках единого механизма, и, более того, плавно меняя энергию взаимодействия сегментов с поверхностью частиц неподвижной фазы за счет изменения состава растворителя или температуры, можно обратимо переходить от одного режима к другому.

Точка (для данной пары «полимер — сорбент» — это состав растворителя и температура), соответствующая равенству $\Delta G = 0$, при которой происходит компенсация энтропийных потерь и энергетического выигрыша при каждом соударении сегмента макромолекулы со стенкой поры, называется критической точкой адсорбции или критическими условиями хроматографии. В этих условиях не происходит деления по молярной массе макромолекул, и это обстоятельство является предпосылкой для использования режима критической хроматографии для исследования разных типов молекулярной неоднородности полимеров, таких как число функциональных групп на концах цепи, состав блоксополимеров, топология (наличие разветвленных или циклических макромолекул).

Режим хроматографии, соответствующий условию $\Delta G < 0$, широко применяется для разделения низкомолекулярных соединений и называется, в зависимости от химической природы функциональных групп на поверхности сорбента, адсорбционной, нормально-фазной, обращенно-фазной, ионпарной и т. д. хроматографией. Для полимеров его применение ограничено областью слабых взаимодействий вблизи критических условий и областью олигомерных макромолекул, так как с ростом длины цепи происходит переход к практически необратимой адсорбции макромолекулы в колонке.

Наиболее важным для полимеров является режим эксклюзионной хроматографии, или, как его еще называют, гель-проникающей хроматографии.

Эксклюзионная хроматография (Size Exclusion Chromatography, SEC), или гель-проникающая хроматография, реализуется, когда поведение макромолекул в порах определяется энтропийной составляющей энергии Гиббса, а энергетическая составляющая её мала. В этом случае коэффициент распределения экспоненциально зависит от соотношения размера макромолекулы и размера пор. Теория предсказывает следующие закономерности для случая пор, соизмеримых с

размером макромолекулы:

$$k' = A \cdot \exp \left[- \left(\frac{R}{d} \right)^\alpha \right], \quad (2.30)$$

где $R \approx \alpha \cdot N^{1/2}$ — характерный радиус идеальной цепи или $R \approx \alpha \cdot N^{3/5}$ для цепи с объемным взаимодействием; d — диаметр пор; α — показатель степени от 4/3 до 2 в зависимости от принятой модели пор (щель, капилляр, полоса) и модели цепи (идеальная или неидеальная).

Таким образом, поведение макромолекул в условиях эксклюзионной хроматографии определяется размером цепи. Размер макромолекулы определяется её химическим строением, числом звеньев в цепи (или молярной массой), топологией (например, размер разветвленной макромолекулы или макроцикла уменьшается по сравнению с линейной макромолекулой того же химического строения). Кроме того, размер гибких макромолекул в определенной степени зависит от природы использованного растворителя.

Метод ГПХ получил широкое распространение в лабораторной практике как метод разделения по молярным массам, определения средних молекулярных масс и молекулярно-массовых распределений (ММР). Как можно видеть из соотношений (2.32), метод не является абсолютным для определения молекулярных масс, но требует соответствующей калибровки по стандартным (желательно узкодисперсным) образцам с известной ММ, связывающей объем (или время) удерживания с ММ. Калибровочные кривые в координатах $\lg M$ — V_R на органических сорбентах с различным размером пор известны в литературе.

Для анализа какого-либо полимера по молярным массам необходимо подобрать колонку с подходящим размером пор или серию колонок с разными порами или воспользоваться колонкой со смесью сорбентов с разными порами. Следует помнить, что для применения метода для анализа ММР необходимо обеспечить условия реализации эксклюзионного механизма разделения, не осложненного эффектами взаимодействия как срединных, так и концевых звеньев цепи. Речь идет об адсорбционном взаимодействии из неполярного растворителя или обращенно-фазном взаимодействии неполярных фрагментов цепи при хроматографии гидрофильных полимеров в водной среде. Кроме того, водорастворимые полимеры, содержащие ионизированные группы, способны к сильным электростатическим взаимодействиям и требуют особенно тщательного подбора условий анализа, в том числе выбора подходящих для анализа сорбента и растворителя (элюента).

Хроматограмма полимера, полученная в условиях эксклюзионной хроматографии $F(V)$, является отражением функции его молекулярно-массового распределения $W(M)$. Для перехода от хроматограммы к функции ММР необходимо иметь калибровочную функцию $V = f(M)$, тогда искомая функция будет

$$W(M) = F(f(M)) \left[\frac{df(M)}{dM} \right]. \quad (2.31)$$

Эти соотношения записаны без учета приборного уширения, а реальная хроматограмма является результатом разделения анализируемого образца по ММ при движении его по колонке и одновременном перемешивании полимергомологов за счет размывания зон. Однако в современных хроматографических системах вклад уширения пиков невелик по сравнению с ММР и им можно пренебречь.

Методика выполнения работы. Включают жидкостный хроматограф (например, Thermo Scientific Vanquish). Подбирают нужный для работы элюент (см. раздел 3.1.3) и наборы узкодисперсных стандартов. Они существуют для таких ВМС, как полистирол, полиизопрен, полиметилметакрилат, полиэтиленоксид, декстранов и т. п.

Проводят калибровку хроматографа по молярно-массовому распределению исследуемого полимера. Для этого используют указанные выше узкодисперсные стандарты с разными ММ, определяют для них объемы элюирования (V_R или V_b) и строят калибровочную зависимость в форме:

$$\lg M = \sum_{i=0}^n c_i \cdot v_b^i. \quad (2.32)$$

Для описания зависимости применяют полиномы первой или третьей степени (именно полиномы нечетных степеней наиболее точно описывают характерную форму калибровочных кривых с верхним и нижним пределами по ММ).

Выписывают хроматограмму исследуемого образца с неизвестными молярными массами.

Последовательность выполнения работы

1. Приготавливают раствор смеси стандартов.
2. Получают хроматограмму стандартов и определяют из нее объемы удерживания (V_b).
3. Строят калибровочную зависимость в виде (2.32).
4. Приготавливают раствор исследуемого полимера.

5. Получают хроматограмму исследуемого полимера.
6. Рассчитывают средние ММ образца.

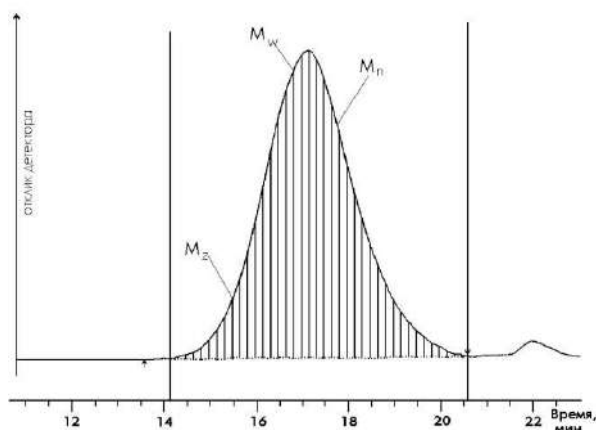


Рис. 63. Пример хроматограммы для расчета ММ

На рисунке представлен типичный пример хроматограммы образца полимера, подготовленный для расчета средних ММ, а именно проведена базовая линия, определяющая начало и конец хроматограммы, и затем хроматограмма разбита на равные доли вдоль оси времени, так называемые слайсы. Для каждого слайса определяется его площадь A_i , и молярная масса, соответствующая его середине, вычисляется из калибровочной зависимости. Затем вычисляют средние молярные массы:

$$\bar{M}_n = \frac{\sum_i A_i}{\sum_i \frac{A_i}{M_i}}$$

Делаются выводы по работе.

Контрольные вопросы

1. Дайте общую характеристику метода жидкостной хроматографии.
2. Чем отличается ВЭЖХ от классической жидкостной хроматографии?
3. Какова роль подвижной фазы в жидкостной хроматографии?
4. В чем состоит сущность нормально-фазового и обращенно-фазового вариантов жидкостной хроматографии?
5. Какие типы неподвижных фаз используются в различных вариантах жидкостной хроматографии?
6. Дайте определение эксклюзионной хроматографии. На чем основано разделение в этом варианте хроматографии?

7. Назовите области применения эксклюзионной хроматографии. Как определяют молекулярно-массовое распределение полимеров?

2.3. Лабораторные работы по физической химии, в которых хроматография применяется для анализа смеси веществ

Лабораторная работа 9. Исследование фазового равновесия в системе ограниченно растворимых жидкостей хроматографическим методом

Цель работы. Хроматографическим методом определить составы равновесных фаз в двухкомпонентной системе ограниченно растворимых жидкостей при нескольких температурах, построить бинодальную кривую, по правилу Алексеева определить критическую точку растворения.

Теоретическое обоснование. Фазовое равновесие в двухкомпонентных ограниченно растворимых жидкостях. Многие жидкости способны образовывать раствор (гомогенную систему) лишь в ограниченной области концентраций и температур. В общем случае при их смешении система расслаивается, т. е. происходит образование гетерогенной системы, состоящей из двух фаз:

- 1) насыщенного раствора жидкости А в жидкости В;
- 2) насыщенного раствора жидкости В в жидкости А. Такие жидкости называют **ограниченно растворимыми жидкостями**.

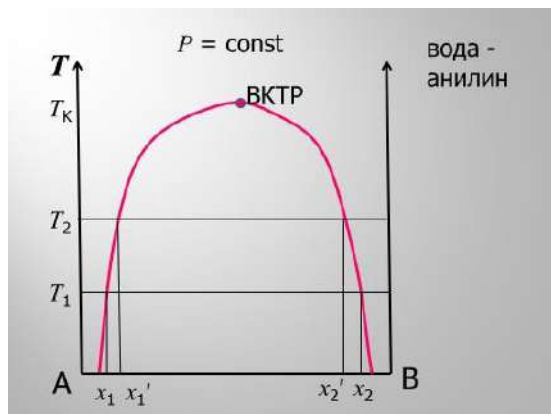


Рис. 64. Диаграмма фазового равновесия ограниченно растворимых жидкостей с верхней критической температурой растворения

Взаимная растворимость таких жидкостей зависит от температуры T , поэтому обычно опытные данные по изучению растворимости строят в виде **диаграмм фазового равновесия в координатах «температура — состав» равновесных жидкостей** (при $P = \text{const}$). Такие диаграммы позволяют определять,

например, составы пищевых продуктов, не расслаивающиеся при хранении.

Рассмотрим диаграмму состояния (рис. 64) в координатах «температура — состав» системы вода (А) — анилин (В). При некоторой температуре T_1 к чистой воде добавим немного анилина. Он полностью растворится, и система останется прозрачной: жидкость состоит из одной фазы — раствора анилина в воде. Прильём ещё порцию анилина, и ещё и т. д., каждый раз тщательно перемешивая раствор. Поначалу жидкости смешиваются друг с другом, образуя однофазный раствор, но, наконец, при добавлении очередной порции система достигнет концентрации x_1 , когда анилин более не растворяется без остатка в воде: появляется легкое помутнение. Дальнейшее прибавление нитробензола вызывает сильное помутнение системы, а при её отстаивании — появление нового слоя жидкости, анилина, насыщенного водой, состава x_2 .

Если добавлять ещё анилин, то вода будет переходить из слоя, богатого водой (x_1), в слой, богатый анилином (x_2). Это означает, что относительное количество фазы, богатой анилином, растёт за счёт другой фазы, т. е. объём первого слоя будет уменьшаться, а второго — увеличиваться. Концентрация слоёв при этом остаётся постоянной (x_1 и x_2). Наконец, достигается точка, где анилина так много, что он может действовать как растворитель для всей имеющейся воды, и поэтому система снова становится однофазной (после x_2). Дальнейшее добавление анилина приводит просто к разбавлению раствора: он остаётся однофазным (причем содержание анилина продолжает увеличиваться) до тех пор, пока при бесконечно большем содержании анилина система не становится по существу чистым анилином $x \approx 1$, исходное количество воды — лишь примесь в анилине.

Изменение температуры влияет на концентрации смежных растворов, при которых происходит разделение фаз. В приведенном примере при повышении температуры взаимная растворимость компонентов возрастает. Разделение фаз не происходит, пока в воде не будет более высокой концентрации анилина, и для поглощения всей воды нужно меньше анилина. Поэтому двухфазная область при T_2 сузится, новые равновесные составы фаз будут x'_1 и x'_2 , это видно из рис. 64.

Выше определенной температуры, называемой **верхней критической температурой растворения (ВКТР)**, разделение фаз не происходит ни при каких концентрациях: система состоит из неограниченно растворимых жидкостей.

При наличии достаточно полных экспериментальных данных, полученных при разных температурах, можно построить линию, огибающую всю двухфазную область, включая ВКТР, — **бинодальную кривую** (рис. 64). Левая половина кривой соответствует составам насыщенных растворов компонента В в А, а правая половина — насыщенных растворов компонента А в В при различных температурах. Соотношение количеств равновесных фаз при любой температуре и общем составе системы можно определить по правилу рычага.

Для определения ВКТР используют правило Алексеева: точки, соответствующие серединам коннод, располагаются на линии, проходящей через ВКТР.

В некоторых системах наблюдается **нижняя критическая температура растворения**, выше которой жидкости образуют гетерогенную систему (два слоя), а ниже неё они смешиваются в любых пропорциях. Примером может служить система «вода — триэтиламин». Объясняется такое поведение жидкостей тем, что при низких температурах смешиваемые молекулы образуют слабые комплексы, так что растворимость их увеличивается. При повышенных же температурах комплексы разрушаются и молекулы связываются в агрегаты из одинаковых молекул (процесс ассоциации), растворимость жидкостей при этом снижается. И чем выше температура, тем ниже их взаимная растворимость — шире область гетерогенности фаз.

Для некоторых систем наблюдаются как верхняя, так и нижняя критические температуры растворения. Наиболее известным примером является система никотин — вода; эти жидкости частично смешиваются при температурах между 61 и 210°C.

Существуют системы, которые не имеют ни верхней, ни нижней критической температуры растворения. Примером может служить система вода — диэтиловый (серный) эфир. При -3,8°C кристаллизуется насыщенный раствор эфира в воде, и при более низких температурах в виде жидкости существует лишь раствор воды в эфире. А при температурах, превышающих 20°C, не может существовать эфирный слой (2% воды) — он закипает.

Методика выполнения работы. Готовят смесь двух ограниченно растворимых друг в друге жидкостей, дают ей отстояться (расслоиться) при комнатной температуре и далее аккуратно, не перемешивая слои, с помощью хроматографического шприца отбирают жидкость из каждого слоя на анализ.

Определив хроматографически концентрацию компонентов в каждом слое, откладывают соответствующие им точки на диаграмме T — состав жидкости.

С помощью термостата повышают температуры на 5–10°C и вновь проводят определение концентрации смежных слоев хроматографическим методом. Температуру повышают вновь и производят анализ равновесных жидкостей, и так еще 4–5 раз. Полученные данные откладывают на диаграмме T — состав жидкости и соединяют точки плавной кривой (бинодальной кривой). Составы равновесных фаз соединяют коннодами, определяют середины коннод и через них проводят линию, с помощью правила Алексеева определяют ВКТР.

Последовательность выполнения работы

I. Включают хроматограф «Кристалл 2000М». При этом возможны следующие варианты:

1. Хроматограф подготовлен к работе инженерами кафедры (наиболее вероятный вариант).

2. Хроматограф не включен, но колонка с нужной для анализа неподвижной фазой уже помещена в термостат колонок. В этом случае: открывают баллон с газом-носителем (гелием), с помощью редуктора устанавливают давление на входе в хроматограф 3–5 ати (см. рис. 3).

ВНИМАНИЕ! Категорически запрещается включать в электросеть хроматограф без потока газа-носителя.

Далее включают компьютер, управляющий хроматографом, и после загрузки Windows находят на рабочем столе монитора иконку «Хроматэк Аналитик», дважды кликают на ней левой клавишей мыши.

После запуска программы устанавливают в меню требуемые для анализа температуры испарителя, детектора (катарометра), термостата колонок и расход газа-носителя через оба канала испарителя. Все эти параметры задает инженер, отвечающий за работу хроматографа (см. приложение 2).

Далее необходимо выждать время для выхода хроматографа на режим работы, лампочка «Готовность» на блоке хроматографа должна загореться зеленым цветом. Хроматограф готов к работе.

3. Хроматограф не включен, и не выбрана неподвижная фаза. Этот вариант возможен в том случае, когда предполагается исследование новой двухкомпонентной системы ограниченно растворимых жидкостей.

В этом случае необходимо, используя табл. 1.6 и 1.7, подобрать подходящую для разделения неподвижную фазу. Выбранную фазу набить в пустую хроматографическую колонку так, как это описано в разделе 1.2.1.6.1.4.

Подготовленную таким образом колонку помещают в термостат колонок хроматографа и далее проводят исследования с целью выбора оптимальной для анализа температуры (см. вариант б и раздел 1.2.1.4).

II. Калибруют детектор (катарометр) хроматографа. Так как растворимость исследуемых веществ друг в друге обычно очень мала, то приготовить калибровочную смесь (раствор) с соизмеримыми количествами компонентов не представляется возможным. По этой причине производят *абсолютную калибровку детектора* (см. раздел 1.2.4.2). Набирают в хроматографический шприц объемом 1,0 мкл первый компонент определенного объема и закалывают его в испаритель хроматографа. Для этого, проткнув иглой шприца мембрану испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/стоп», на блоке хроматографа загорается лампочка «Анализ» — это время начала анализа. После выхода хроматографических пиков анализируемых веществ вновь нажимают кнопку «Пуск/стоп» — это время конца анализа.

В конце анализа на хроматограмме появляется информация о времени удерживания и площади пика I_i . Далее опыт повторяют несколько раз с другими объемами жидкости. Пересчитывают объем поданной в испаритель жидкости в массу m_i и строят график в координатах $m_i = f(I_i)$. Указанную графическую зависимость проще получить в программе Excel, угловой коэффициент прямой в этом случае и будет калибровочным коэффициентом k_i .

Далее аналогично проводят калибровку детектора по другому веществу.

III. Готовят в бюксе смесь исследуемых веществ (соотношение объемов задает преподаватель). Их перемешивают и дают системе отстояться (расслоиться). Далее аккуратно, не перемешивая слои, с помощью хроматографического шприца объемом 1 мкл отбирают жидкость из верхнего слоя на анализ. Проткнув иглой шприца резинку испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/стоп» на блоке хроматографа. После выхода хроматографических пиков анализируемых веществ А и В вновь нажимают кнопку «Пуск/стоп» — это время конца анализа.

Анализ верхнего слоя жидкости повторяют 3–5 раз с целью получения данных для статистического анализа результатов экспериментов.

Далее проводят аналогичные опыты, анализируя нижний слой системы.

IV. Вновь перемешивают жидкость в бюксе и ставят его в термостат, нагревают жидкость на 10°C и вновь проводят определение концентрации смежных слоев так, как это было описано выше.

V. Температуру повышают вновь на 10°C и проводят анализ равновесных жидкостей, и так еще 4–5 раз.

VI. Выписывают из полученных хроматограмм площади пиков веществ и вычисляют их массы $m_i = k_i \cdot I_i$ в каждой смеси. Далее вычисляют массовую концентрацию x_i каждого компонента в каждой исследованной смеси:

$$x_i = \frac{m_i}{\sum_i m_i}.$$

VII. Полученные данные откладывают на диаграмме T -состав (две точки x_i для каждой смеси, см. рис. 64) и соединяют точки плавной кривой (бинодальной кривой). Составы равновесных фаз соединяют коннодами (здесь изотермами), определяют середины коннод и через них проводят линию, с помощью правила Алексеева определяют ВКТР.

Делают выводы по работе.

Контрольные вопросы

1. Сформулируйте цель предстоящей работы.
2. Расскажите порядок выполнения работы.
3. Как определить составы равновесных фаз на диаграмме, от чего они зависят?
4. Что называют бинодальной кривой, как ее можно получить экспериментально?
5. Чем отличаются две части диаграммы, разделенные бинодальной кривой? Определите число степеней свободы в обеих областях диаграммы. Какие параметры можно менять в данной системе для реализации этих степеней свободы?
6. Какие процессы протекают при разделении веществ в хроматографической колонке?
7. Опишите основные параметры хроматограммы.
8. Хроматографические пики, их форма, причины размывания. Способы определения площади пиков.

9. Какими параметрами описывается эффективность колонки, как они рассчитываются из экспериментальных данных?
10. Что объясняет молекулярно-кинетическая теория Ван-Деемтера?
11. Каковы критерии хроматографического разделения? Расскажите о влиянии различных факторов на разделение веществ.
12. По каким параметрам проводится идентификация веществ в хроматографии?
13. Расскажите о методах количественного анализа в хроматографии.
14. Дайте общую характеристику метода газовой хроматографии.
15. Расскажите о классификации методов газовой хроматографии по механизму разделения.

Лабораторная работа 10. Исследование фазового равновесия в трехкомпонентной системе ограниченно растворимых жидкостей хроматографическим методом

Теоретическое обоснование. Фазовое равновесие в трехкомпонентных системах. Диаграммы фазового равновесия трехкомпонентных систем объёмные, они изображаются в трехмерном пространстве (рис. 65): состав системы передают точкой на плоскости, а любое свойство системы (P , T и т. п.) откладывают по оси аппликат.

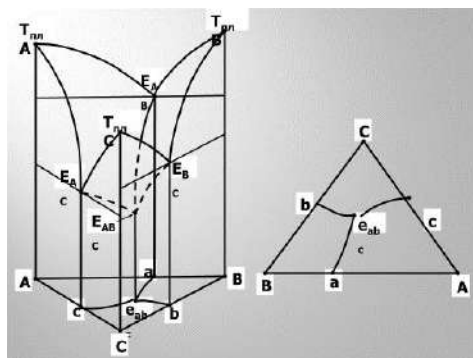


Рис. 65. Объемная диаграмма трехкомпонентной системы в координатах T -состав трехкомпонентной системы, изображенный с помощью треугольника Гиббса — Розебома, и одно из сечений фигуры

Пользоваться такой объемной диаграммой неудобно, поэтому производят сечение объемной фигуры плоскостью при постоянной аппликате (температуре

или давлении) и полученное плоское сечение рассматривают как полноценную диаграмму состояния трехкомпонентной системы. На рис. 65 в качестве примера дана объемная *диаграмма плавкости* трехкомпонентной системы для случая, когда все три компонента, А, В и С, неизоморфны друг другу. В данной работе будут рассматриваться трехкомпонентные системы с ограниченно растворимыми жидкостями. Состав трехкомпонентной системы принято изображать с помощью равностороннего треугольника — *концентрационного треугольника Гиббса — Розебома* (рис. 66).

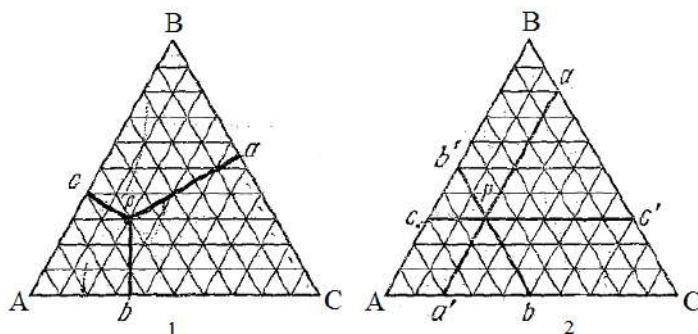


Рис. 66. Концентрационный треугольник Гиббса — Розебома для выражения состава и свойств трехкомпонентной системы: 1 — метод Гиббса; 2 — метод Розебома

Вершины равностороннего треугольника отвечают содержанию в системе 100% каждого из компонентов, А, В и С. Стороны треугольника позволяют описать составы двухкомпонентных систем: (А + В), (В + С) и (А + С). Точки, лежащие внутри треугольника, описывают составы трехкомпонентных систем.

Для определения состава системы в любой точке внутри треугольника по *методу Гиббса* опускают из данной точки перпендикуляры на стороны треугольника. Концентрации компонентов определяют исходя из того, что сумма перпендикуляров равна полной высоте треугольника (100%) (рис. 66).

Для определения состава системы по *методу Розебома* используют отрезки на сторонах треугольника, отсекаемые прямыми, параллельными сторонам треугольника, и проведенными через заданную точку. Сумма отрезков равна длине его стороны (100%). Состав системы в точке *p* (рис. 66) равен: 50% А, 30% В и 20% С.

Линии, параллельные одной из сторон треугольника (например, стороне АВ), представляют собой точки, соответствующие смесям с одинаковым содержанием одного из компонентов (здесь С). Линии, проведенные из вершины треугольника (например, вершины А) до пересечения с противоположной стороной (ВС), представляют собой точки, соответствующие системам с одинаковым отношением концентраций двух компонентов (здесь В и С).

На рис. 67 представлена диаграмма взаимной растворимости в системе «вода – хлороформ – изопропанол».

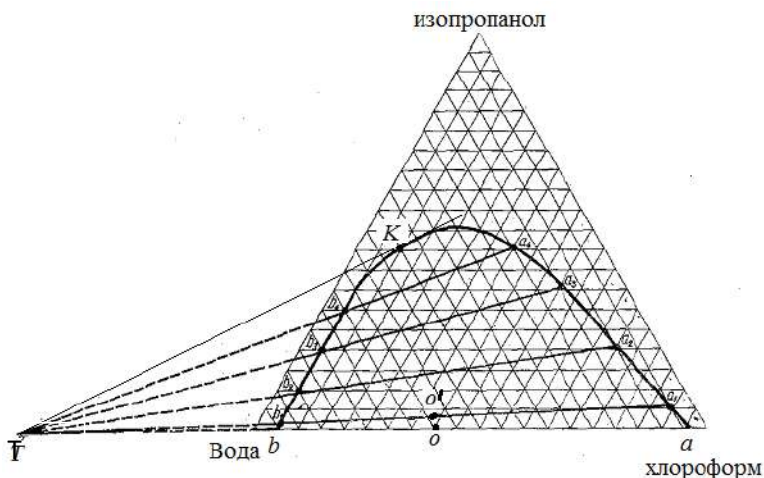


Рис. 67. Диаграмма взаимной растворимости в системе «вода — хлороформ — изопропанол»

Хлороформ и вода практически не растворимы (ограниченно растворимы) друг в друге. При их смешении (например, 40 г хлороформа и 60 г воды — точка O) система расслаивается на две фазы: одна из них имеет состав b — насыщенный раствор хлороформа в воде, другая — состав a , насыщенный раствор воды в хлороформе (рис. 67). Изопропанол неограниченно смешивается как с водой, так и с хлороформом. Прибавление его к указанной смеси хлороформа и воды (точка O') приводит к увеличению их взаимной растворимости. Составы вновь полученных равновесных жидких фаз определяются по конноде, проведенной через точку O' (это a_1 и b_1).

При определенном содержании изопропанола, зависящем от соотношения массы воды и хлороформа, система становится гомогенной. Таким образом, диа-

грамма растворимости оказывается разделённой *бинодальной кривой* на гетерогенную область, лежащую под этой кривой, и гомогенную область, расположенную над ней.

Составы a_1 и b_1 двух *сопряжённых слоёв* (фаз, находящихся в равновесии) представляют собой насыщенные растворы хлороформа в водном слое (левая ветвь бинодальной кривой) и насыщенные растворы воды в хлороформе (правая ветвь бинодальной кривой) в присутствии изопропанола (каждая точка — трехкомпонентный раствор изопропанола, воды и хлороформа).

Если добавлять к рассматриваемой системе новые порции изопропанола, он будет неравномерно распределяться между двумя слоями. Поэтому на диаграмме наклон коннод (рис. 67) будет изменяться (в данном случае — возрастать).

В соответствии с приближённым *правилом Тарасенкова* продолжения всех коннод пересекаются в одной точке T , лежащей на продолжении одной из сторон треугольника, а касательная, проведённая из этой точки к бинодальной кривой, определяет положение критической точки смешения K . Это правило позволяет по одной экспериментально определенной конноде найти положение точки T и, проведя лучи из этой точки до пересечения с бинодальной кривой, оценить составы сопряжённых слоёв (a_i и b_i) при других заданных валовых составах системы.

Данная работа состоит из двух частей. В первой части методом титрования строят бинодальную кривую в трехкомпонентной системе ограниченно растворимых жидкостей.

Во второй части работы хроматографическим методом определяют составы смежных (равновесных) слоев в нескольких валовых составах системы, т. е. точки для проведения коннод. Проверяют выполнимость правила Тарасенкова и определяют критическую точку растворения.

Работа 10а. Построение изотермы взаимной растворимости в трехкомпонентной жидкой системе (построение бинодальной кривой)

Цель работы. Построить бинодальную кривую на диаграмме взаимной растворимости в трехкомпонентной системе.

Методика выполнения работы. Взаимную растворимость в трехкомпонентной системе определяют методом титрования и анализа сопряжённых растворов. Этот метод заключается в том, что, приготовив ряд двухкомпонентных

смесей различного состава, поочередно титруют их третьим компонентом. При этом возможны два варианта:

1. Исходная смесь представляет собой гомогенную систему (например, хлороформ — изопропанол). Возникновение устойчивого помутнения при добавлении по каплям третьего компонента (воды) указывает на насыщение раствора третьим компонентом и появление следов второй фазы. Состав полученной таким образом системы соответствует точке на бинодальной кривой. Титрованием смесей с различным соотношением хлороформ/изопропанол получают другие точки, лежащие на бинодальной кривой.

2. Исходная смесь представляет собой гетерогенную систему (например, хлороформ — вода). При добавлении по каплям третьего компонента (изопропанола) вначале мутная двухфазная смесь становится прозрачным раствором. Момент исчезновения второй фазы отвечает достижению состава трехкомпонентного раствора, лежащего на бинодальной кривой. В этом случае точка полученной трехкомпонентной смеси будет лежать на линии, соединяющей точку исходной бинарной смеси (хлороформ — вода) с вершиной треугольника (100% изопропанола).

Оба варианта дают одинаковые результаты, поскольку положение равновесия не зависит от того, с какой стороны к нему приближается система.

Последовательность выполнения работы. Исходные бинарные смеси в количестве 5 см³ каждая готовят в конических колбочках с притертыми пробками. Рекомендуются следующие соотношения объёмов компонентов А/В: 1:9; 2:8; 3:7; 4:6; 5:5; 6:4; 7:3; 8:2; 9:1. К каждой бинарной смеси приливают по каплям из бюретки третий компонент С. По варианту 1 титрование ведут до появления устойчивого помутнения смеси. По варианту 2 титрование ведут до исчезновения мути и возникновения прозрачного раствора.

Определив объем третьего компонента V_C (см³), пошедший на титрование смеси, пересчитывают его в массовые проценты по уравнению

$$g_C = \frac{V_C \cdot \rho_C \cdot 100}{V_A \cdot \rho_A + V_B \cdot \rho_B + V_C \cdot \rho_C}, \quad (2.33)$$

где ρ_A , ρ_B и ρ_C — плотности компонентов в г·см⁻³, берутся из справочника. Аналогично можно вычислить и массовые проценты g_i компонентов А и В.

Для нанесения на треугольной диаграмме точек бинодальной кривой вычисленные объёмные проценты компонента С откладывают на линиях, соединя-

ющих точки составов исходных двойных систем с вершиной треугольника, отвечающей 100% третьего компонента. Соединив нанесённые точки плавной кривой, получают изотерму растворимости (бинодальную кривую) в данной трехкомпонентной системе (рис. 67).

Метод титрования позволяет быстро и точно построить бинодальную кривую в системе трех ограниченно растворимых жидкостей, но не даёт возможности установить составы сопряжённых фаз и положение их коннод.

Работа 106. Определение хроматографическим методом состава равновесных фаз ограниченно растворимых жидкостей в трехкомпонентной системе

Цель работы. Определить составы равновесных фаз в трехкомпонентной системе ограниченно растворимых жидкостей хроматографическим методом, построить бинодальную кривую, проверить выполнимость правила Тарасенкова, определить критическую точку растворения.

Методика выполнения работы. Готовят 4–5 смесей трех ограниченно растворимых друг в друге жидкостей, дают им отстояться (расслоиться), и далее аккуратно, не перемешивая слои, с помощью хроматографического шприца отбирают жидкость из каждого слоя на анализ.

Определив хроматографическим методом концентрацию компонентов в каждой слое, откладывают соответствующие им точки на треугольнике Гиббса. Соединяют полученные точки плавной кривой (бинодальной кривой), составы равновесных (смежных) фаз соединяют коннодами и продолжают их до пересечения с продолжением стороны треугольника. Если они пересекаются (или близки к этому) в одной точке, то принимается, что правило Тарасенкова выполняется для данной системы.

Из точки пересечения коннод проводят касательную к бинодальной кривой, находят критическую точку растворения K .

Последовательность выполнения работы

I. Включают хроматограф «Кристалл 2000М». При этом возможны следующие варианты:

1. Хроматограф подготовлен к работе инженерами кафедры (наиболее вероятный вариант).

2. Хроматограф не включен, но колонка с нужной для анализа неподвижной фазой уже помещена в термостат колонок. В этом случае:

- открывают баллон с газом-носителем (гелием), с помощью редуктора устанавливают давление на входе в хроматограф 3–5 ати (см. рис. 3);
- включают компьютер, управляющий хроматографом, и после загрузки Windows находят на рабочем столе монитора иконку «Хроматэк Аналитик», дважды кликают на ней левой клавишей мыши.

После запуска программы устанавливают в меню требуемые для анализа температуры испарителя, детектора (катарометра), термостата колонок и расход газа-носителя через оба канала испарителя (см. приложение 2). Все эти параметры задает инженер, отвечающий за работу хроматографа.

III. Далее необходимо выждать время для выхода хроматографа на режим работы, лампочка «Готовность» на блоке хроматографа должна загореться зеленым цветом. Хроматограф готов к работе.

3. Хроматограф не включен, и не выбрана неподвижная фаза. Этот вариант возможен в том случае, когда предполагается исследование новой трехкомпонентной системы ограниченно растворимых жидкостей.

В этом случае необходимо, используя табл. 1.6 и 1.7, подобрать подходящую для разделения неподвижную фазу. Выбранную фазу набить в пустую хроматографическую колонку так, как это описано в разделе 1.2.1.6.1.4.

Подготовленную таким образом колонку помещают в термостат колонок хроматографа и далее проводят исследования с целью выбора оптимальной для анализа температуры (см. вариант б и раздел 1.2.1.4).

II. Калибруют детектор (катарометр) хроматографа, для этого готовят в бюксе (его выдает инженер) смесь трех исследуемых компонентов (например, воды, хлороформа и изопропанола) такой концентрации, при которой все компоненты растворяются друг в друге (образуют одну фазу). Можно позаимствовать одну из уже готовых смесей, полученных при выполнении первой части работы (после титрования смесь становится однофазной и объемы каждого вещества известны).

Используя уравнение (2.33), вычисляют массовые проценты g_i компонентов в калибровочном растворе.

III. Далее с помощью хроматографического шприца объемом 1 мкл отбирают жидкость на анализ. Проткнув иглой шприца резинку испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/стоп» на блоке

хроматографа, загорается лампочка «Анализ» — это время начала анализа. После выхода всех трех хроматографических пиков анализируемых веществ вновь нажимают кнопку «Пуск/стоп» — это время конца анализа.

ВНИМАНИЕ! Работа с микрошприцем требует внимания и аккуратности. Первую пробу вводить только после объяснения инженера.

Описанный анализ повторяют 3–5 раз с целью получения данных для статистической обработки результатов.

После завершения анализов выписывают площади каждого пика Π_i из хроматограмм. Исходя из площадей, вычисляют массовые проценты g_i^0 каждого компонента по уравнению

$$g_i^0 = \frac{\Pi_i}{\sum_i \Pi_i}. \quad (2.34)$$

Вычисляют среднюю массовую концентрацию каждого компонента из всех проведенных анализов.

Сравнивают концентрации компонентов g_i и g_i^0 , вычисленные из уравнений (2.33) и (2.34), и определяют калибровочные коэффициенты каждого компонента k_i так, как это описано в разделе 1.2.4.2:

$$k_i = g_i/g_i^0.$$

IV. Подготавливают первую смесь трех указанных ограниченно растворимых друг в друге жидкостей, например сливают в бюкс 1 см³ А, 1 см³ В и 1 см³ С. Дают системе отстояться (расслоиться), и аккуратно, не перемешивая слои, с помощью хроматографического шприца объемом 1 мкл отбирают жидкость из верхнего слоя на анализ. Проткнув иглой шприца резинку испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/стоп» — это время начала анализа. После выхода всех трех хроматографических пиков анализируемых веществ А, В и С вновь нажимают кнопку «Пуск/стоп» — это время конца анализа.

Анализ верхнего слоя жидкости повторяют 3–5 раз с целью получения данных для статистического анализа результатов экспериментов.

Далее проводят аналогичные опыты, анализируя нижний слой системы.

Готовят новые смеси веществ с другим соотношением компонентов и проводят аналогичные описанным анализы.

V. Выписывают из полученных хроматограмм площади пиков всех веществ и вычисляют их концентрации в каждом опыте по уравнению:

$$C_i = \frac{P_i \cdot k_i}{\sum_i P_i \cdot k_i}.$$

Полученные значения C_i откладывают на треугольнике Гиббса. Соединяют полученные точки плавной кривой (бинодальной кривой), сравнивают полученную кривую с кривой из первой части работы 10а.

Составы равновесных (смежных) фаз соединяют коннодами и продолжают их до пересечения с продолжением стороны треугольника. Если они пересекаются (или близки к этому) в одной точке, то принимается, что правило Тарасенкова выполняется для данной системы.

Из точки пересечения коннод проводят касательную к бинодальной кривой, находят критическую точку растворения K .

Делают выводы по работе.

Контрольные вопросы

1. Как определить состав трехкомпонентной смеси на концентрационном треугольнике методом Гиббса?
2. Как определить состав трехкомпонентной смеси на концентрационном треугольнике методом Розебома?
3. Какими свойствами обладают смеси, точки составов которых лежат на прямых: (а) параллельных стороне концентрационного треугольника, (б) исходящих из вершины треугольника?
4. Назовите компоненты и фазы в изучаемой системе.
5. Чем отличаются две части диаграммы, разделенные бинодальной кривой? Определите число степеней свободы в обеих областях диаграммы. Какие параметры можно менять в данной системе для реализации этих степеней свободы?
6. Какое максимальное число фаз может быть в трехкомпонентной системе при постоянных температуре и давлении?
7. Сформулируйте и проиллюстрируйте на треугольнике Гиббса правило Тарасенкова.
8. Какие процессы протекают при разделении веществ в хроматографической колонке?
9. Опишите основные параметры хроматограммы.

10. Какими параметрами описывается эффективность колонки, как они рассчитываются из экспериментальных данных?

11. Каковы критерии хроматографического разделения? Расскажите о влиянии различных факторов на разделение веществ.

12. По каким параметрам проводится идентификация веществ в хроматографии?

13. Расскажите о методах количественного анализа в хроматографии.

14. Дайте общую характеристику метода газовой хроматографии. Расскажите о классификации методов газовой хроматографии по механизму разделения.

Лабораторная работа 11. Определение состава равновесных фаз азеотропной системы хроматографическим методом

Теоретическое обоснование. Равновесие «жидкость — пар» в двухкомпонентных жидких системах. Составы равновесных жидкости и пара изображают с помощью диаграмм в координатах давление P -состав системы или температура T -состав системы, последние обычно называют «диаграммы кипения». В качестве примера на рис. 68 приведена такая диаграмма, построенная в координатах T -состав пара (y) и жидкости (x), полученная при внешнем давлении $P = \text{const}$. На диаграмме T_A и T_B — температуры кипения компонентов A и B при давлении P . Нижняя линия носит название кривой жидкости (или кривой кипения). Она представляет собой зависимость температуры начала кипения жидкости от ее состава. Поле диаграммы ниже кривой жидкости соответствует равновесному состоянию жидкой фазы.

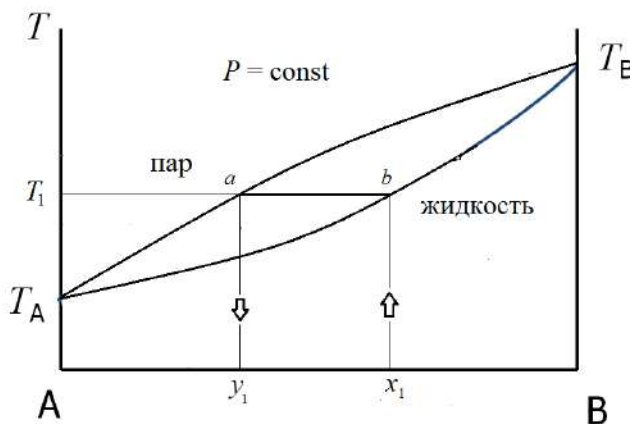


Рис. 68. Диаграмма кипения жидкостей A и B

Верхняя линия на рис. 68 носит название *кривой пара* (или *кривой конденсации*). Она представляет собой зависимость температуры начала конденсации пара (или конца кипения жидкости) от его состава. Поле диаграммы выше кривой пара соответствует равновесному состоянию паровой фазы. Между кривыми жидкости и пара находится *гетерогенная* область, которая отвечает равновесию двух фаз: жидкости и пара.

Жидкость состава x_1 , согласно диаграмме, начинает кипеть при температуре T_1 . Состав равновесного пара (y_1) определяется проведением т. н. конноды (ab).

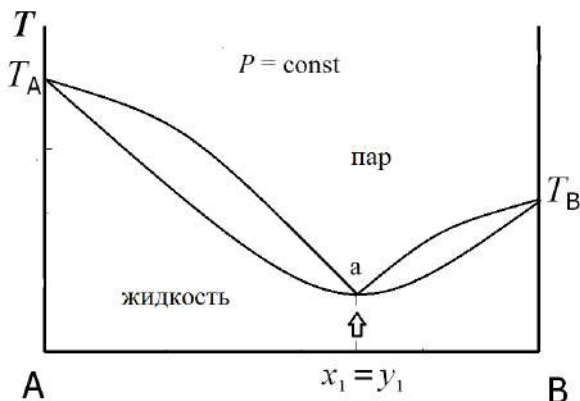


Рис. 69. Диаграмма кипения с азеотропом

Если жидкости имеют близкие температуры кипения или сильно отличаются по своим свойствам, то зависимость T от состава раствора может иметь экстремум (максимум или минимум): в точках экстремума составы пара и жидкости одинаковы.

Смеси, составы которых соответствуют точкам экстремума, кипят как чистые жидкости при постоянной температуре. Такие смеси Коновалов назвал *азеотропными*, что в переводе означает нераздельнокипящие. В качестве примера на рис. 69 приведена диаграмма кипения с азеотропом состава $x_1 = y_1$ (точка a).

При ректификации или перегонке с дефлегматором таких смесей A и B (рис. 69) в голове колонны или дефлегматора будет гнаться азеотроп. Состав азеотропа можно определить с помощью газовой хроматографии, отобрав пробу жидкости из головы колонны.

Цель работы. Определить составы равновесных фаз жидкости и пара азеотропной системы.

Методика выполнения работы. В перегонную колбу с дефлегматором заливают смесь жидкостей A и B состава, близкого к составу низкокипящего

азеотропа. Примером такой системы может служить система этанол — четыреххлористый углерод (см. рис. 28.8 в [1]). Доводят систему до кипения и после установления равновесия отбирают первую пробу конденсата. Анализируют ее состав хроматографически. Спустя некоторое время (3–5 мин) отбирают новую пробу и вновь анализируют ее. Такие действия производят до тех пор, пока состав конденсата не перестанет изменяться — это и есть азеотроп.

Последовательность выполнения работы

Собирают установку, изображенную на рис. 70. В колбу 2 заливают смесь жидкостей *A* и *B* состава, близкого к составу низкокипящего азотропа.

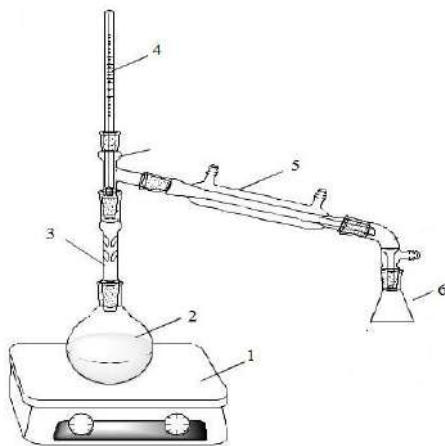


Рис. 70. Схема установки для перегонки с дефлегматором: 1 — нагреватель; 2 — перегонная колба; 3 — дефлегматор; 4 — термометр; 5 — холодильник; 6 — сосуд для отбора пробы.

Доводят систему до кипения и после установления равновесия (температура перестает изменяться) отбирают первую пробу конденсата. Анализируют ее состав хроматографически. Спустя несколько минут отбирают новую пробу и анализируют ее. Такие действия производят до тех пор, пока состав конденсата не перестанет изменяться — это и есть азеотроп.

Включают хроматограф «Кристалл 2000М» или «Кристалл 500». При этом возможны следующие варианты:

1. Хроматограф подготовлен к работе инженерами кафедры (наиболее вероятный вариант).

2. Хроматограф не включен, но колонка с нужной для анализа неподвижной фазой уже помещена в термостат колонок. В этом случае:

- открывают баллон с газом-носителем (гелием), с помощью редуктора устанавливают давление на входе в хроматограф 3–5 ати (см. рис. 3);
- включают компьютер, управляющий хроматографом, и после загрузки Windows находят на рабочем столе монитора иконку «Хроматэк Аналитик», дважды кликают на ней левой клавишей мыши.

После запуска программы устанавливают в меню требуемые для анализа температуры испарителя, детектора (катарометра), термостата колонок и расход газа-носителя через оба канала испарителя. Все эти параметры задает инженер, отвечающий за работу хроматографа (установка рабочих параметров хроматографа описана в приложении 2).

Далее необходимо выждать время для выхода хроматографа на режим работы, лампочка «Готовность» на блоке хроматографа должна загореться зеленым цветом. Хроматограф готов к работе.

3. Хроматограф не включен, и не выбрана неподвижная фаза. Этот вариант возможен в том случае, когда предполагается исследование новой системы с азеотропом.

В этом случае необходимо, используя табл. 1.6 и 1.7, подобрать подходящую для разделения неподвижную фазу. Выбранную фазу набить в пустую хроматографическую колонку так, как это описано в разделе 1.2.1.6.1.4.

Подготовленную таким образом колонку помещают в термостат колонок хроматографа и далее проводят исследования с целью выбора оптимальной для анализа температуры (см. вариант б и раздел 1.2.1.4).

Калибруют детектор (катарометр) хроматографа, для этого готовят в бюксе (его выдает инженер) смесь исследуемых жидкостей *A* и *B* определенного состава. Вычисляют массовые проценты g_i компонентов в калибровочном растворе (см. уравнение 2.33).

Далее с помощью хроматографического шприца объемом 1 мкл отбирают жидкость на анализ. Проткнув иглой шприца резинку испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/стоп» на блоке хроматографа, загорается лампочка «Анализ» — это время начала анализа. После выхода хроматографических пиков анализируемых веществ вновь нажимают кнопку «Пуск/стоп» — это время конца анализа.

ВНИМАНИЕ! Работа с микрошприцем требует внимания и аккуратности. Первую пробу вводить только после объяснения инженера.

Описанный анализ повторяют 3–5 раз с целью получения данных для статистической обработки результатов.

После завершения анализов выписывают из хроматограмм площади каждого пика Π_i . Исходя из площадей, вычисляют массовые проценты g_i^0 каждого компонента по уравнению

$$g_i^0 = \frac{\Pi_i}{\sum_i \Pi_i}. \quad (2.35)$$

Вычисляют среднюю массовую концентрацию каждого компонента из всех проведенных анализов.

Сравнивают концентрации компонентов g_i и g_i^0 , вычисленные из уравнений (2.33) и (2.34), и определяют калибровочные коэффициенты каждого компонента k_i так, как это описано в разделе 1.2.4.2:

$$k_i = g_i / g_i^0.$$

Отбирают на анализ первую пробу жидкости. Проткнув иглой шприца резинку испарителя, быстрым движением выдавливают отобранную пробу в поток газа-носителя. Одновременно с движением поршня шприца нажимают кнопку «Пуск/стоп» на блоке хроматографа — это время начала анализа. После выхода хроматографических пиков анализируемых веществ А и В, нажимают кнопку «Пуск/стоп» — это время конца анализа. Анализ повторяют 3–5 раз с целью получения данных для статистического анализа результатов экспериментов.

Анализируют новые отобранные пробы жидкости.

Выписывают из полученных хроматограмм площади пиков веществ и вычисляют их концентрации в каждом опыте по уравнению:

$$C_i = \frac{\Pi_i \cdot k_i}{\sum_i \Pi_i \cdot k_i}.$$

Делают выводы по работе.

Общие вопросы для контроля знаний по хроматографии

1. Дайте определение хроматографии, расскажите о классификации хроматографических методов.
2. Какие процессы протекают при разделении веществ в хроматографической колонке?
3. Что характеризуют изотермы адсорбции, уравнения Лэнгмюра, Генри?
4. Опишите основные параметры хроматограммы.

5. Хроматографические пики, их форма, причины размывания. Способы определения площади пиков.
6. Какими параметрами описывается эффективность колонки, как они рассчитываются из экспериментальных данных?
7. Что объясняет молекулярно-кинетическая теория Ван-Деемтера?
8. Каковы критерии хроматографического разделения? Расскажите о влиянии различных факторов на разделение веществ.
9. По каким параметрам проводится идентификация веществ в хроматографии?
10. Расскажите о методах количественного анализа в хроматографии.
11. Дайте общую характеристику метода газовой хроматографии. Расскажите о классификации методов газовой хроматографии по механизму разделения.
12. Дайте определение метода газожидкостной хроматографии. Опишите основные узлы ГЖХ хроматографа.
13. Какими свойствами должна обладать неподвижная фаза в ГЖХ?
14. Расскажите об основных детекторах, используемых в ГЖХ.
15. Дайте общую характеристику метода жидкостной хроматографии.
16. Чем отличается ВЭЖХ от классической жидкостной хроматографии?
17. Какова роль подвижной фазы в жидкостной хроматографии?
18. В чем состоит сущность нормально-фазового и обращенно-фазового вариантов жидкостной хроматографии?
19. Какие типы неподвижных фаз используются в различных вариантах жидкостной хроматографии?
20. Расскажите суть ионообменной хроматографии.
21. Расскажите о классификации ионообменников, напишите уравнения ионообменного равновесия.
22. Дайте определение эксклюзионной хроматографии. На чем основано разделение в этом варианте хроматографии?
23. Назовите области применения эксклюзионной хроматографии. Как определяют молекулярно-массовое распределение полимеров?
24. Опишите основы тонкослойной хроматографии и методику проведения анализа.
25. Каким образом осуществляется обработка тонкослойных пластинок?
26. Как проводится идентификация компонентов в анализируемой смеси и количественный анализ в методе ТСХ?

Приложение 1

Покажем на произвольном примере, как осуществляется расчет в среде *Excel*.

Запускаем программу, вносим исходные данные, преобразуем координаты.

	A	B	C	D	E
1	p, Па	t, °C	T, K	$x = 1/T, 1/K$	$y = \ln p$
2	5333	31,80	304,95	0,00328	8,5826
3	7999	40,3	313,45	0,00319	8,988
4	13330	51,9	325,05	0,00308	9,4988
5	26660	69,5	342,65	0,00292	10,192
6	53330	89,5	362,65	0,00276	10,885

В этом примере нам нужно получить параметры уравнения прямой $y = ax + b$ и результаты статистической обработки данных для зависимости $\ln p = f\left(\frac{1}{T}\right)$.

Исходные данные находятся в столбцах D и E, массив обратных температур в ячейках D2:D6, соответствующие значения логарифма давления записаны в ячейках E2:E6. Для решения поставленной задачи будем использовать функцию «ЛИНЕЙН», которая умеет возвращать не только параметры (a, b) уравнения прямой $y = ax + b$, но и статистические данные.

Установим курсор в ячейку, с которой мы хотим начать вывод результатов, например в ячейку D10. Затем в строке выражений над таблицей напомним вызов функции «ЛИНЕЙН» (адреса ячеек применительно к нашему примеру):
=ЛИНЕЙН(E2:E6;D2:D6;ИСТИНА;ИСТИНА)

В этом выражении:

E2:E6 — начало и конец массива значений функции ($y = \ln p$) в столбце E;

D2:D6 — начало и конец массива значений аргумента ($x = 1/T$) в столбце D;

ИСТИНА (в третьем параметре) — необходимость рассчитывать оба параметра в уравнении прямой (свободный член b не равен 0);

ИСТИНА (в четвёртом параметре) — необходимость расчёта не только параметров уравнения прямой, но и дополнительных статистических параметров.

Написав в строке выражений вызов функции «ЛИНЕЙН», подготовим место для записи всех результатов её работы. Для этого, потянув за правый нижний угол рамки ячейки, выделим 10 ячеек вблизи выбранной (в нашем примере от

D10 до E14). После этого одновременно нажимаем на клавиши «Ctrl», «Shift», «Enter» и все подготовленные ячейки заполняются числами.

Результаты будут иметь следующий вид.

	A	B	C	D	E
1	p, Па	t, °C	T, K	$x = 1/T, 1/K$	$y = \ln p$
2	5333	31,80	304,95	0,00328	8,5826
3	7999	40,3	313,45	0,00319	8,988
4	13330	51,9	325,05	0,00308	9,4988
5	26660	69,5	342,65	0,00292	10,192
6	53330	89,5	362,65	0,00276	10,885
7				0,01522	48,147
8				0,00304	
9					
10				-4411,22	23,059
11				26,9144	0,0821
12				0,99989	0,0113
13				26862,5	3
14				3,41794	0,0004

В первой строке (10) после пропущенной (9) находятся значения параметров a (ячейка D10) и b (ячейка E10). Во второй строке (11) в ячейках D11 и E11 — их стандартные отклонения. Для расчёта доверительных интервалов параметров найденные стандартные отклонения надо умножить на квантиль распределения Стьюдента t_s .

Имеющаяся в *Excel* встроенная функция «СТЮДРАСПОБР» позволяет рассчитать значения t_s для требуемой доверительной вероятности (обычно 95%) и заданного числа степеней свободы (в данном случае число опытов, уменьшенное на два). В этом примере массив данных содержит 5 пар значений ($1/T$, $\ln p$), поэтому запрос квантили Стьюдента должен иметь вид

$$=\text{СТЮДРАСПОБР}(0,05;3),$$

где $0,05 = 1 - 0,95$ соответствует доверительной вероятности 95%, 3 — число степеней свободы дисперсии адекватности (при пяти экспериментальных точках для уравнения с двумя параметрами $5 - 2 = 3$). Значение квантили Стьюдента в ячейке D15 (см. рис. далее).

Доверительный интервал для параметра a — в ячейке E16 (результат умножения D11*D15), и, наконец, теплота испарения, равная $R \cdot A = -R \cdot a$, с учетом ошибки $8,314 \cdot D11 \cdot D15$ в ячейке E17 — в нижней строке (18).

	A	B	C	D	E
1	p, Па	t, °C	T, K	x = 1/l, 1/К	y = ln p
2	5333	31,80	304,95	0,00328	8,5826
3	7999	40,3	313,45	0,00319	8,988
4	13330	51,9	325,05	0,00308	9,4988
5	26660	69,5	342,65	0,00292	10,192
6	53330	89,5	362,65	0,00276	10,885
7				0,01522	48,147
8				0,00304	
9					
10				-4411,22	23,059
11				26,9144	0,0821
12				0,99989	0,0113
13				26862,5	3
14				3,41794	0,0004
15				3,18245	
16				±	85,6537
17				±	712,125
18		$\Delta_{исп}H =$	36674,883	±712 Дж/моль	

Окончательный результат запишем в виде $\Delta_{исп}H = 36,7 \pm 0,7$ кДж/моль.

Теперь кратко поясним, почему запись результата значительно отличается от множества цифр, приведенных на рисунке (копии экрана). Любое число представляют с помощью определенной комбинации цифр. В случае точных чисел количество цифр при записи может быть любым. Применительно к приближенным (экспериментально найденным) числам действует жесткое ограничение по количеству цифр в числе. Оно должно всегда соответствовать абсолютной погрешности определения данного числа. Абсолютную погрешность измерения, как правило, округляют до первой значащей цифры, увеличивая ее на единицу. Примеры:

$$\begin{aligned} \pm 6,34 &\approx \pm 7 & \pm 0.454 &\approx \pm 0.5 \\ \pm 0,0743 &\approx \pm 0.08 & \pm 767.3 &\approx 800 \end{aligned}$$

Результаты измерения округляют с точностью «до погрешности», т. е. последняя значащая цифра в числе должна находиться в том же разряде, что и в погрешности.

Вернемся теперь к данным, приведенным на рисунке. Доверительный интервал вычисленного значения энтальпии составляет (строка E17) $\pm 712,125$. Округляем до ± 700 Дж/моль или $\pm 0,7$ кДж/моль, что соответствует погрешности в десятых долях кДж/моль. Следовательно, приведенная в распечатке величина 36 674 Дж/моль должна быть преобразована к виду $36,7 \pm 0,7$ кДж/моль. В этом случае последняя значащая цифра будет действительно находиться в разряде погрешности.

Рекомендации при работе с газовым хроматографом «Кристалл 5000»

Основой успешного использования газового хроматографа «Кристалл 5000» является работа с программным обеспечением (ПО) «Хроматэк Аналитик», которое предназначено для сбора и обработки хроматографической информации, поступающей от хроматографов серии «Кристалл» и другого аналитического оборудования.

ПО «Хроматэк Аналитик» позволяет:

- управлять хроматографами серии «Хроматэк Кристалл», а также другим хроматографическим оборудованием, таким как Блок сбора данных, Формирователь газовых потоков и т. п.;
- осуществлять автоматизированный сбор и хранение хроматографической и разнообразной диагностической информации;
- выполнять обработку хроматографической информации с выдачей результатов анализов;
- оформлять отчеты по выполненным анализам в соответствии с требованиями пользователя;
- преобразовывать хроматографические данные в различные файловые форматы для использования этих данных в программах других производителей;
- выполнять различные узкоспециализированные расчеты по конкретным аналитическим задачам с помощью приложений, не входящих в стандартную поставку ПО.

Запуск соединения

Запуск соединения для начала работы с программой *Панель управления* может быть осуществлен тремя способами:

1. Наиболее простой (и рекомендуемый) способ заключается в запуске соединения непосредственно с помощью его ярлыка, расположенного на рабочем столе Windows.
2. Второй способ предполагает запуск программы *Панель управления* с помощью одного из ярлыков на рабочем столе Windows: Кристалл ПМ2, Кристалл ПМ1, Кристалл 2000. Запущенная таким образом *Панель управления* автоматически предлагает оператору выбрать соединение из списка.

3. Третий способ — автозапуск соединения при загрузке компьютера. Он возможен в случае, если вы отметили соответствующую опцию на стадии создания соединения. Необходимо помнить, что хроматограф в этом случае нужно включить перед включением компьютера.

Главное окно программы

Главное окно программы *Панель управления*, показанное на рис. 1, состоит из следующих элементов (сверху вниз):

- заголовок окна;
- главное меню;
- панель инструментов;
- информационная область с закладками;
- строка состояния.

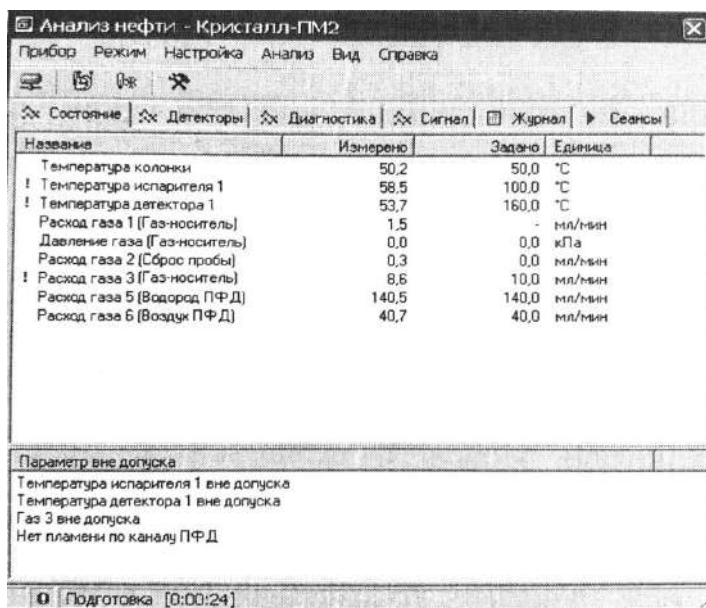


Рис. 1. Главное окно программы

Заголовок главного окна *Панели управления* содержит информацию о названии соединения и типе прибора (в примере на рисунке название соединения — **Анализ нефти**, тип прибора — **Кристалл-ПМ2**).

Главное меню содержит набор команд, необходимых для работы с программой.

На панели инструментов расположены кнопки быстрого доступа (дублирующие наиболее часто используемые команды меню).

В нижней части окна программы расположена строка состояния. Она предназначена для индикации этапа работы хроматографа (в примере на рисунке хроматограф находится на этапе «Подготовка»). Рядом с названием этапа указано его текущее время.

Закладки главного окна

В рабочей области программы расположены информационные закладки.

1. **Состояние.** На данной закладке выводится таблица заданных и измеренных значений температур (колонки, испарителя, детектора, обогреваемых зон различных периферийных устройств), расходов и давлений газов. Если данные не поступали из прибора в течение 3 с, на месте значения выводится прочерк. Параметры, находящиеся вне допуска, отмечаются красным восклицательным знаком, расположенным слева от названия параметра, а также выводятся в нижней области закладки (рис. 2).

Название	Измерено	Задано	Единица
Температура колонки	50,2	50,0	°C
! Температура испарителя 1	58,5	100,0	°C
! Температура детектора 1	53,7	160,0	°C
Расход газа 1 (Азот)	1,5	-	мл/мин
Расход газа 2 (Азот)	0,3	0,0	мл/мин
! Расход газа 3 (Азот)	0,6	10,0	мл/мин
Расход газа 4 (Азот)	0,7	0,0	мл/мин
Расход газа 5 (Водород)	140,5	140,0	мл/мин
Расход газа 6 (Воздух)	40,7	40,0	мл/мин
Давление газа 1 (Азот)	0,0	0,0	кПа
Давление газа 2 (Азот)	-	-	кПа
Давление газа 3 (Азот)	-	-	кПа
Давление газа 4 (Азот)	-	-	кПа
Давление газа 5 (Водород)	-	-	кПа
Давление газа 6 (Воздух)	-	-	кПа
Параметр вне допуска			
Температура испарителя 1 вне допуска			
Температура детектора 1 вне допуска			
Газ 3 вне допуска			
Нет пламени по каналу ПФД			

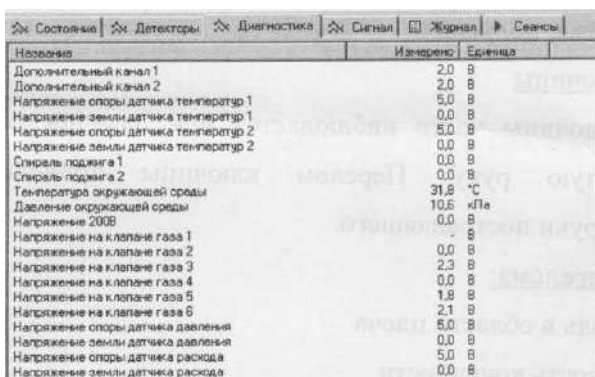
Рис. 2. Закладка «Состояние»

2. **Детекторы.** На данной закладке выводятся измеренные значения сигналов детекторов, присутствующих в хроматографе, и частота детекторных каналов. Во время анализа в столбце Старт выводится канал старта (Старт 1 или Старт 2, рис. 3).

Название	Старт	Гц	Измерено	Единица
ПВД-1		24,9	0,00	мВ
ПВД-2		24,9	0,00	мВ
ПФД	Старт-1	24,9	5,55	мВ

Рис. 3. Закладка «Детекторы»

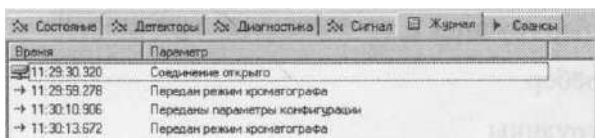
3. **Диагностика.** Эта закладка служит для отображения различной диагностической информации, такой как напряжения на клапанах РРГ, значения АЦП, температура окружающей среды и т. п. (рис. 4).



Название	Измерено	Единица
Дополнительный канал 1	2,0	В
Дополнительный канал 2	2,0	В
Напряжение опоры датчика температур 1	5,0	В
Напряжение земли датчика температур 1	0,0	В
Напряжение опоры датчика температур 2	5,0	В
Напряжение земли датчика температур 2	0,0	В
Спираль поджига 1	0,0	В
Спираль поджига 2	0,0	В
Температура окружающей среды	31,8	°C
Давление окружающей среды	10,6	кПа
Напряжение 200В	0,0	В
Напряжение на клапане газа 1	-	В
Напряжение на клапане газа 2	0,0	В
Напряжение на клапане газа 3	2,3	В
Напряжение на клапане газа 4	0,0	В
Напряжение на клапане газа 5	1,8	В
Напряжение на клапане газа 6	2,1	В
Напряжение опоры датчика давления	5,0	В
Напряжение земли датчика давления	0,0	В
Напряжение опоры датчика расхода	5,0	В
Напряжение земли датчика расхода	0,0	В

Рис. 4. Закладка «Диагностика»

4. **Журнал.** В журнале сохраняются все записи об операциях, выполняемых с данным прибором, а также фатальные аварии и ошибки прибора (рис. 5).



Время	Параметр
11:29:30.320	Соединение открыто
→ 11:29:59.278	Передан режим кронхографа
→ 11:30:10.906	Переданы параметры конфигурации
→ 11:30:13.672	Передан режим кронхографа

Рис. 5. Закладка «Журнал»

5. **Сигнал.** На данной закладке отображаются графики изменения сигналов со всех диагностических и детекторных каналов за последний час (рис. 6). Канал, график сигнала с которого необходимо просмотреть, выбирается из выпадающего списка. Для того чтобы масштабировать график, выполните на нем двойной щелчок левой кнопкой мыши. На экране появится окно, показанное на рис. 6.

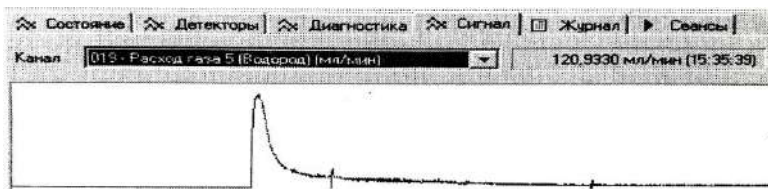
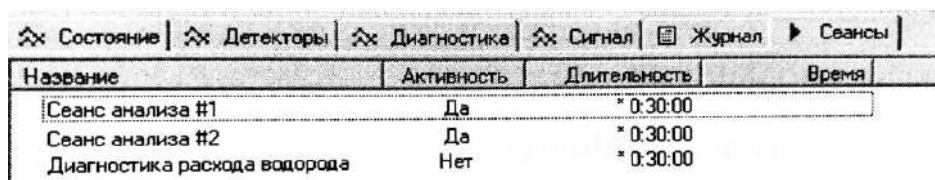


Рис. 6. Закладка «Сигнал»

6. **Сеансы.** На этой закладке (рис. 7) выводится список сеансов, созданных

для текущего соединения. В столбце **Активность** показано состояние каждого сеанса: значение **Да** — сеанс активен и может быть автоматически запущен при старте анализа (если имеет привязку к данному каналу старта), значение **Нет** — сеанс не будет запущен даже при старте связанного с ним анализа (соответственно, в этом случае не будет получено никаких хроматограмм или диагностических графиков).



Название	Активность	Длительность	Время
Сеанс анализа #1	Да	* 0:30:00	
Сеанс анализа #2	Да	* 0:30:00	
Диагностика расхода водорода	Нет	* 0:30:00	

Рис. 7. Закладка «Сеансы»

Настройка конфигурации хроматографа

Основные сведения

После первого запуска хроматографа необходимо настроить его конфигурацию. Для разных типов процессорных модулей состав конфигурационных настроек и их диалоги различны, но в общем случае оператор должен выполнить следующие операции:

- указать наличие или отсутствие в хроматографе компонентов и устройств, которые не могут быть обнаружены автоматически, и задать их параметры;
- задать параметры автоматически обнаруженных устройств хроматографа, если такие присутствуют;
- задать блокировки температур термостатов колонок, детекторов и испарителей, а также дополнительных термостатов, если такие присутствуют;
- задать параметры поджига пламени для пламенных детекторов (ПИД, ТИД, ПФД) при их наличии в хроматографе.

1. **Общее** (рис. 8). Отметьте наличие дополнительной нагревательной платформы для **Испарителя 2** и **Детектора 2**. Если в хроматографе какая-либо из дополнительных нагревательных платформ отсутствует, соответствующий признак должен быть отключен.

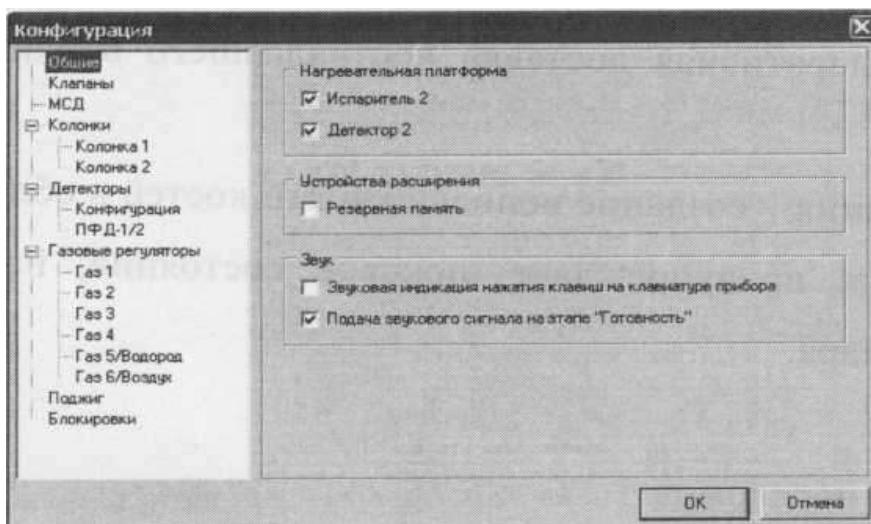


Рис. 8. Диалог «Конфигурация». Страница «Общее»

Если вы хотите, чтобы нажатие клавиш на клавиатуре хроматографа сопровождалось звуковым сигналом, отметьте опцию **Звуковая индикация нажатия клавиш на клавиатуре прибора**. Установите опцию **Подача звукового сигнала при наличии параметров вне допуска**, если хотите продублировать звуковым сигналом световой индикатор **Допуск**.

2. Настройка параметров клапанов. На странице **Клапаны** задайте параметры электромагнитных клапанов. Если клапан отсутствует в хроматографе, выберите из выпадающего списка параметр **Выключен**. Если необходимо, чтобы при включении питания хроматографа клапан был открыт, выберите из выпадающего списка параметр **Нормальное состояние клапана — «открыт»**. Если необходимо, чтобы при включении питания хроматографа клапан был закрыт, выберите из выпадающего списка параметр **Нормальное состояние клапана — «закрыт»**.

3. Настройка параметров колонок. На страницах **Колонка 1** и **Колонка 2** (рис. 9) введите параметры используемых в работе колонок. Как правило, если в хроматографе применяются капиллярные колонки, то капиллярная колонка 1 обслуживается парой газовых регуляторов **Газ 1 — Газ 2**, а капиллярная колонка 2 — парой **Газ 3 — Газ 4**.

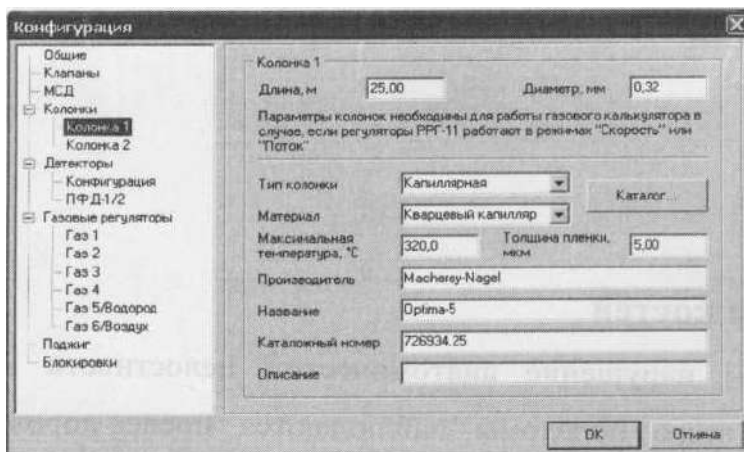


Рис. 9. Диалог «Конфигурация». Группа параметров «Колонки»

Часть параметров колонок несет исключительно информативный характер, поэтому эти параметры заполнять необязательно. Обязательными для заполнения являются следующие.

Длина и Диаметр колонки. Данные параметры используются при расчете газового режима капиллярных колонок в соответствующем диалоге. Параметры **Колонки 1** используются в расчете газового режима для пары регуляторов **Газ 1 — Газ 2**, а параметры **Колонки 2** — в аналогичном расчете для пары **Газ 3 — Газ 4**.

Макс. температура колонки. Данный параметр вводится для предотвращения перегрева колонки. Для ускорения процесса заполнения параметров колонок вы можете воспользоваться их каталогом. Для этого нажмите кнопку **Каталог**. На экране появится диалоговое окно. В данном диалоге выберите необходимую колонку из списка, отсортированного по производителю колонок, и нажмите кнопку **ОК**.

4. Настройка блокировок. Назначение страницы **Блокировки** — задание максимальных температур термостатов, времен аварии и ожидания, переключение режимов **работа/проверка**. Окно диалога **Конфигурация** с выбранной страницей **Блокировки** показано на рис. 10.

На данной странице задайте предельные значения температур термостатов колонки, испарителей и детекторов.

Эти параметры предназначены для защиты от перегрева: если по каким-либо причинам хотя бы одна из температур превысит заданное предельное значение на 10 градусов, прибор, выдав сообщение **Фатальная авария**, начнет принудительное охлаждение.

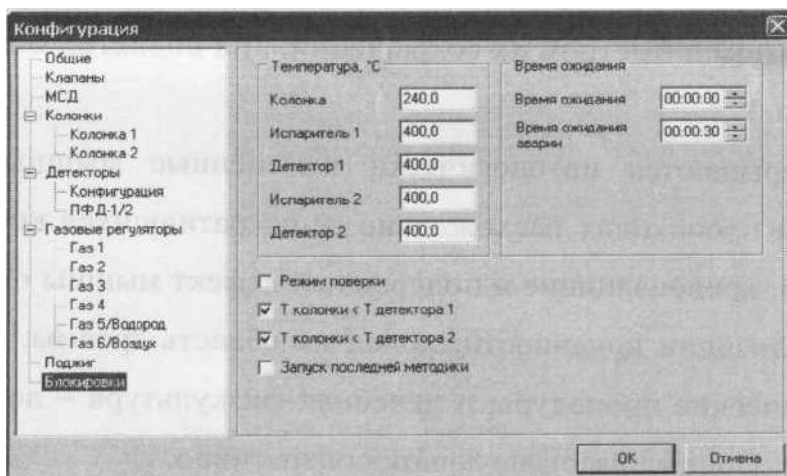


Рис. 10. Диалог «Конфигурация». Страница «Блокировки»

Предельная температура термостата колонок определяется максимальной температурой сорбентов используемых колонок. Температура термостатов испарителей определяется природой анализируемых веществ и обычно не превышает 300°C.

Температура детекторов определяется также конструкцией детектора:

- для ПИД, ТИД, ЭЗД, ПФД — не выше 400°C;
- для ДТП — не выше 300°C.
- для ФИД — не выше 250°C.

5. Настройка параметров поджига. Назначение страницы **Поджиг** — задание параметров режима поджига пламенных детекторов. Обычно эти параметры устанавливаются только один раз на заводе-изготовителе, но в случае необходимости вы можете изменить их.

В группе Режим газа задайте значения параметров газов, поддерживаемые на этапе Поджиг. При поджиге пламени измеряемый фон пламенных детекторов увеличивается. Для того чтобы хроматограф зафиксировал наличие пламени, фон должен превысить некоторое пороговое значение, задаваемое параметром Порог приращения фона. Конкретные значения порога для различных пламенных детекторов описаны в руководстве по эксплуатации хроматографа.

Укажите способ поджига.

Если вы выбрали способ поджига по водороду, укажите значение приращения водорода при каждой последующей попытке поджига. В зависимости от использования различных пламенных детекторов, этап поджига начинается так: для ПИД, ПФД — по достижении температуры 150°C, при условии, что прошло не менее 10 мин с момента пересечения температуры 80°C.

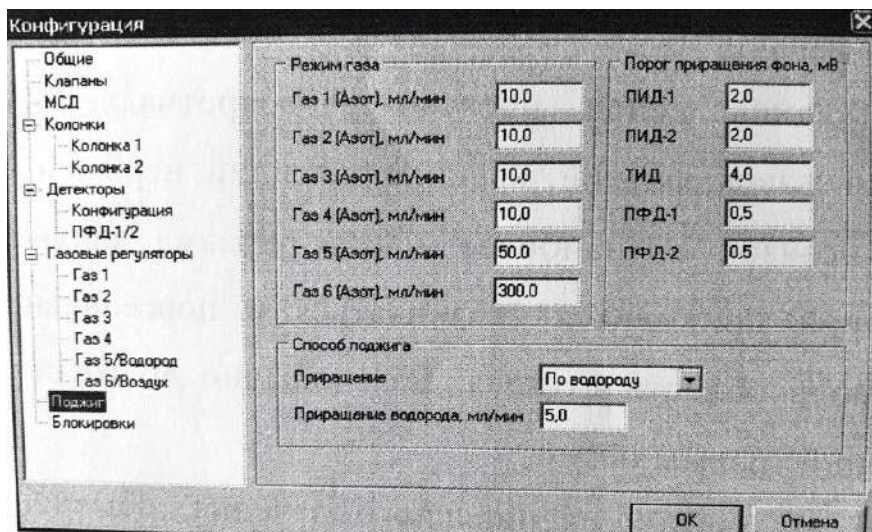


Рис. 11. Диалог «Конфигурация». Страница «Поджиг»

6. **Детекторы.** В группе **Детекторы** расположены настройки тех детекторов, чьи усилители обнаружены хроматографом. Детекторы обладают рядом общих параметров (настройка данной конфигурации зависит от схемы хроматографа и делается опытным работником).

7. **Газовые регуляторы.** Назначение — выбор типа регулятора газа по каждому газовому каналу и проведение настройки регуляторов в соответствии с поставленной задачей. Страница настроек каждого из газовых регуляторов содержит три закладки.

Режим хроматографа Кристалл

В левой области диалога **Режим хроматографа** расположен список страниц, каждая из которых содержит определенную группу параметров режима.

1. **Страница «Общее».** На странице **Общее** задается время анализа (рис. 12).

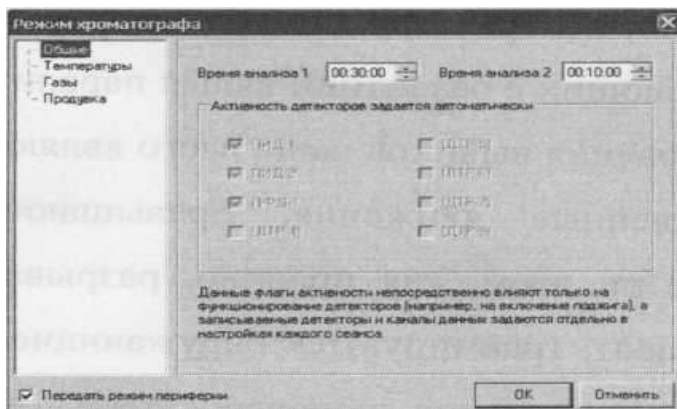


Рис. 12. Страница «Режим хроматографа»

2. **Страница «Температуры».** На странице **Температуры** (рис. 12) задайте **температуры** колонки, детекторов и испарителей. В правой части диалога приведены справочные значения блокировок температуры, которые выставлены в диалоге **Конфигурация**. Для редактирования значений блокировок необходимо открыть указанный диалог. Кроме того, данная закладка позволяет программировать температуру в термостате во время анализа для оптимизации условий хроматографирования.

3. **Страница «Газы».** На странице **Газы** задайте значения параметров газов. Режимы газов: расход, давление, скорость или поток задаются в диалоге **Конфигурация** на странице **Газовые регуляторы**. Данная закладка очень полезна при оптимизации хроматографического анализа.

4. **Страница «Продувка».** На странице **Продувка** задайте значения параметров газов и температуру колонки, которые хроматограф будет отрабатывать на этапе **продувка** после анализа. Используйте **продувку после анализа** в тех случаях, когда анализируемая проба содержит компоненты с большим временем удерживания, детектирование которых не требуется. В этом случае время анализа может быть небольшим и определяется последним выходящим целевым компонентом, для того чтобы более высококипящие, но ненужные для количественного или качественного расчета компоненты были удалены из хроматографического тракта.

Сохранение и загрузка режима

Созданный режим можно сохранить, если в дальнейшем он будет часто использоваться. Для этого служат команды **Загрузить** и **Сохранить** в меню **Ре-**

жим. При выборе команды **Сохранить** появляется стандартный диалог Windows, в котором нужно выбрать место сохранения файла, ввести его имя и нажать кнопку **ОК**. После этого будет выдан запрос: **загружать данный режим автоматически при следующем подключении к прибору?** Если вы выберете ответ **Да**, то при каждом новом запуске данного соединения хроматограф будет автоматически обрабатывать сохраненный режим. В случае ответа **Нет** функция автозапуска не будет активизирована, но вы можете в любой момент выбрать и запустить сохраненный режим вручную с помощью команды **Запустить**.

Охлаждение хроматографа

Режим охлаждения прибора используется после окончания работы перед выключением хроматографа. Для вызова диалога в меню **Режим** выберите команду **Охлаждение**. В данном диалоге:

- задайте значения **температур** термостатов на этапе **Охлаждение**;
- введите значения **параметров газов** при охлаждении прибора;
- запустите режим **Охлаждение** и при достижении прибором указанных условий произведите выключение прибора.

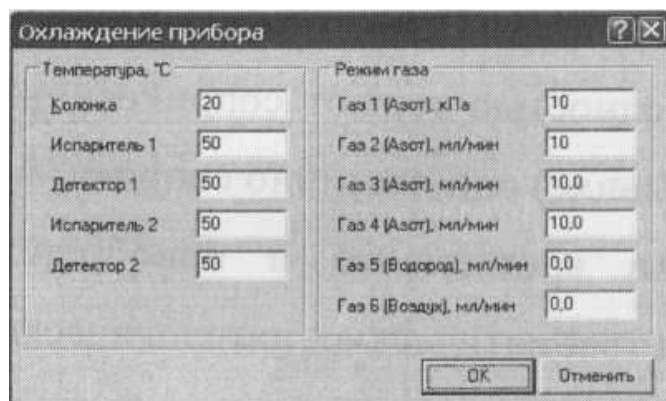


Рис. 13. Диалог «Охлаждение»

Обработка результатов измерений

1. Виды погрешностей измерений

Метод измерения — совокупность определенных действий с измеряемым объектом и средствами измерений, обеспечивающих получение результата измерений. Различают два вида экспериментальных измерений — прямые и косвенные. При прямом измерении определяемую величину сравнивают с единицей измерения непосредственно — при помощи измерительного прибора, при косвенном измерении определяемую величину вычисляют по формуле, включающей результаты прямых измерений.

Погрешность измерения — отличие измеренного значения величины от ее истинного значения. *Истинное значение* измеряемой величины принципиально недостижимо, поэтому никакое измерение не может быть выполнено абсолютно точно. Существует множество типов погрешностей, которые классифицируются по трем основным критериям. С точки зрения уменьшения погрешностей при выполнении конкретных измерений наиболее важной является классификация по закономерности проявления.

Абсолютной погрешностью (ошибкой) измерения называют разность между измеренным значением величины X и ее истинным значением $X_{ист}$. Так как истинное значение принципиально неизвестно, то вместо него на практике используют среднее. Абсолютная погрешность вычисляется по формуле: $\Delta X = X_i - X_{ср}$. Абсолютная погрешность показывает два значения измеряемой величины, между которыми заключено ее истинное значение.

Относительную погрешность вычисляют как отношение абсолютной ошибки данного измерения к самой величине:

$$E = \Delta X / X_{ср} \cdot 100\%.$$

Таким образом, относительная погрешность показывает долю, которую составляет ошибка от самой величины, т. е. характеризует качество измерения. Упрощенная форма записи результата многократного измерения некоторой ве-

личины с учетом усредненной абсолютной погрешности всех измерений выглядит следующим образом:

$$X = X_{cp.} \pm \Delta X_{cp.},$$

или (с использованием относительной погрешности):

$$X = X_{cp.} \pm E_{cp.} (\%).$$

Данные о результатах измерения обязательно должны сопровождаться сведениями о погрешностях измерений.

После измерительной операции наступает следующая стадия экспериментальной работы — *математическая обработка результатов измерений* с учетом класса точности прибора.

Все числа, получаемые при измерениях, являются приближенными. В приближенных числах различают *значащие и незначащие цифры*. Значащими цифрами приближенного числа называют все его цифры, кроме нулей, стоящие левее первой отличной от нуля цифры, и нулей, стоящих в конце числа. Например, число 0,504 имеет три значащих цифры; число 6300, полученное в результате округления числа 6257, имеет две значащие цифры, и его *можно* записать в виде $63 \cdot 10^2$.

Если класс точности прибора не указан, то абсолютную погрешность принимают равной половине цены наименьшего деления шкалы прибора. Приборная погрешность принимается равной цене деления в тех случаях, когда указателем прибора является не плавно перемещающаяся стрелка (мениск ртути в термометре), а «скачущая» стрелка (секундомер, цифровое табло *pH*-метра и т. п.). В промежуточных вычислениях допускается использовать на одну значащую цифру больше, чем в конечном результате. Конечный результат целесообразно представлять в виде среднего арифметического измеренной величины с соответствующими погрешностями. Например: при потенциометрическом определении *pH* раствора были получены следующие значения: 4,05; 4,01; 4,03; 4,02; 4,05 (приборная погрешность $\pm 0,01$). Требуется определить характеристики точности измерения. Для оценки точности используем следующие расчетные формулы:

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n}{n} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i,$$

где n — число результатов измерений; X — единичный результат измерения; \bar{X} — среднее арифметическое значение случайной величины.

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}},$$

где S — значение средней квадратичной погрешности.

$$\Delta = t_{\alpha, f} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

где Δ — абсолютная погрешность; $t_{\alpha, f}$ — коэффициент Стьюдента.

$$E = \frac{\Delta}{\bar{X}} \cdot 100,$$

где E — относительная погрешность, %.

Таким образом, измерение выполнено с точностью $\text{pH} = 4,03 \pm 0,02$; $\pm 0,55\%$.

Если расчетная абсолютная погрешность меньше приборной, то для характеристики точности и оценки относительной погрешности используют приборную погрешность. Запись среднего значения заканчивается тем разрядом чисел, которым начинается абсолютная погрешность.

2. Описание количественных переменных

Нормальное распределение (Гаусса, закон распределения вероятностей) — это такое распределение величины переменной, когда ее частные значения характеризуются более или менее симметричным расположением относительно ее среднего значения. При нормальном распределении переменной чаще всего встречаются те ее значения, которые близки к средней величине (рис. 1).

В аналитической, физической и коллоидной химии обычно допускают, что распределение аналитического сигнала (исследуемый признак) близко к Гауссовому распределению.

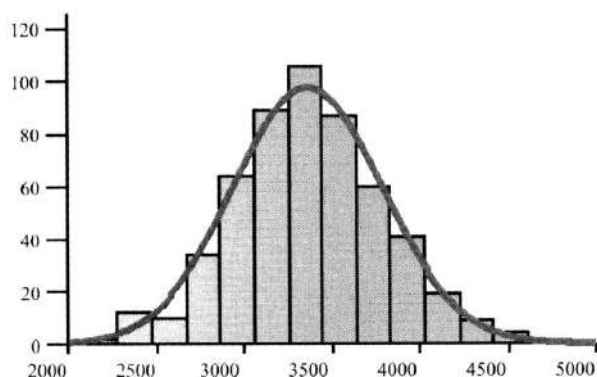


Рис. 1. Кривая нормального распределения

3. Доверительный интервал и доверительная надежность измерения

Предположим, что истинное значение измеряемой величины μ ($X_{cp.} \rightarrow \mu$ при $n \rightarrow \infty$) находится в некотором интервале:

$$X_{cp.} - \Delta X < \mu < X_{cp.} + \Delta X.$$

Этот интервал называют *доверительным*, а вероятность того, что результат измерений не выходит за предел доверительного интервала, называют доверительной вероятностью α (а также коэффициентом или уровнем надежности и просто надежностью). Надежность растет с увеличением доверительного интервала. Поэтому для характеристики величины случайной ошибки нужно одновременно задавать величину надежности и доверительного интервала.

При малых выборках ($n < 30$) закон Гаусса неприменим. При обычных значениях n (5–7) пользуются распределением Стьюдента и коэффициентами Стьюдента.

4. Обработка результатов измерений

В случае нормального распределения случайной величины обработка результатов проводится по следующему алгоритму:

- 1) среднее арифметическое $X_{cp.} = \sum x_i / n$;
- 2) среднее отклонение $\Delta X = \sum (x_i - x) / n$;
- 3) дисперсия $S^2 = \sum (x_i - x)^2 / n - 1$;
- 4) средняя квадратичная ошибка $S = \sqrt{S^2}$;

- 5) средняя квадратичная ошибка среднего арифметического $S_x = S/\sqrt{n}$;
- 6) доверительный интервал $\pm t_{\alpha,f} S_x$ при $f = n-1$ ($t_{\alpha,f}$ — коэффициент Стьюдента, который определяется по справочной таблице 1);
- 7) истинное значение $X = X_{cp.} \pm t_{\alpha,f} S_x < S_x$;
- 8) относительная погрешность $E = \pm \%$.

Табл. 1

Коэффициенты Стьюдента $t_{\alpha,f}$

α	f									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	15
0,70	2,0	1,3	1,3	1,2	1,2	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
0,95	12,7	4,3	3,2	2,8	2,6	2,4	2,4	2,3	2,3	2,1
0,99	63,7	9,9	5,8	4,6	4,0	3,7	3,5	3,4	3,3	3,0

При косвенных измерениях обрабатывают каждую серию измерений, как и в случае прямых измерений с той же надежностью, составляют выражение погрешности согласно виду функциональной зависимости результата, записывают окончательный результат в форме

$$f(x_{cp.}) = f(r_{cp.}, s_{cp.}, t_{cp.} \dots) \pm \Delta f.$$

Находят относительную погрешность $E = \Delta f / f_{cp.} \cdot 100\%$.

5. Оформление результатов измерений

Данные опытов и полученные из них расчетом значения тех или иных величин целесообразно представлять в виде таблиц и графиков. Графики служат для иллюстрации или проверки теоретических уравнений. Таблицы обязательно должны иметь названия и заголовки граф, содержащие краткое и точное описание.

Все измерения содержат по меньшей мере две переменные, одну из которых выбирают в качестве независимой (в опытах ее задают как аргумент x), а другие (или другая) являются зависимыми (функции y , z и др.). В таблице должна быть графа для x и графы значений y , имеющие заголовки (название и единицы измерения). За независимые переменные принимают такие величины, как время, температура, давление, концентрация и т. п. При составлении таблицы значения

аргумента и соответствующих функций располагают в порядке возрастания или убывания. При заполнении таблицы значения должны быть расположены так, чтобы запятые, отделяющие десятичные знаки, были расположены на одной вертикали.

Каждое число в таблице должно содержать не больше и не меньше цифр, чем позволяет точность опытных данных. Числа, полученные как среднее из нескольких опытных данных или расчетным путем, следует округлять так, чтобы последняя цифра в числе была первой сомнительной цифрой.

Графическое изображение экспериментальных и расчетных данных облегчает сравнение величин, позволяет легко обнаружить характер изменения величин — наличие точек перегиба, периодичность, появление предельных значений и другие важные свойства. В таблицах эти особенности проявляются менее отчетливо. С помощью графиков можно произвести дифференцирование и интегрирование, даже не зная математической формы представленной графически зависимости.

При построении графиков соблюдаются следующие правила. Значение независимой переменной (аргумента) откладывают по оси абсцисс, а значение функции — по оси ординат. Какую из двух переменных считать независимой, следует обычно из эксперимента. Если в ходе опыта значения одной переменной устанавливают произвольно, а соответствующие значения других переменных оказываются при этом уже вполне определенными, то первая переменная и считается независимой.

Масштаб нужно выбирать так, чтобы координаты любой точки графика могли быть определены быстро и легко. Если на миллиметровой бумаге расстояние между двумя главными соседними линиями разделено на десять равных частей, то удобнее всего выбирать такой масштаб, в котором это расстояние принято за 1, 2 или 5 единиц или эти значения умножены на $10^{\pm n}$, где n — целое число.

Не все линии координатной сетки должны быть надписаны; часто для чтения графика оказывается удобным надписывать линии через одну или несколько.

Но какая бы система надписи обозначений не была принята, она должна быть соблюдена на всем графике. Целесообразно сделать так, чтобы числа, проставленные на оси, содержали столько значащих цифр, сколько допускает точность данных или сколько можно прочесть по кривой. Для удобства пользования графиком необходимо проставить на каждой координатной оси название представляемой ею величины и единицы, в которых она измеряется.

При выборе масштаба также нужно следить, чтобы погрешность измерений соответствовала погрешности на графике не более чем в одно-два наименьших деления масштаба. При выборе шкалы по оси координат нет необходимости обязательно начинать с нулевого значения, если это не вызвано специальными соображениями (необходимостью экстраполяции и т. п.). В соответствии с этим правилом шкала для каждой переменной может начинаться с наименьшего округленного значения из совокупности данных или несколько ниже и кончаться наибольшим округленным значением или несколько выше.

Масштаб должен быть выбран так, чтобы кривая насколько возможно была наклонена к оси абсцисс под углом, близким к 45° .

При необходимости подчеркнуть характерные особенности в изменении функции (наличие экстремальных точек, точек перегибов и т. п.) следует относительно увеличить масштаб функции и уменьшить масштаб аргумента.

При проведении кривой через нанесенные точки учитываются следующие правила.

1. Обычно кривая, выражающая зависимость $y = f(x)$, должна быть плавной. Однако возможны и скачки вследствие нарушения непрерывности.

2. Кривая должна проходить насколько возможно близко ко всем нанесенным точкам, однако не обязательно через каждую из них, особенно через конечные, отвечающие измерениям, точность которых часто оказывается меньшей, чем остальных, так как они отвечают пределу точности инструмента или применяемого метода.

3. Если из теории следует, что зависимость $f(y) = \varphi(x)$ линейна, то при проведении прямой удобно использовать прозрачную линейку. Ее следует расположить так, чтобы половина точек, не лежащих на прямой, располагалась по одну ее сторону, а половина — по другую.

4. Кривую следует проводить возможно более тонкой. Если кривая, изображающая зависимость $y = f(x)$, предназначается для определения констант эмпирического или полуэмпирического уравнения, графического дифференцирования или интегрирования, то ее необходимо проводить как можно точнее. В подобных случаях целесообразно использовать метод наименьших квадратов: кривая (или прямая) должна быть проведена так, чтобы сумма квадратов расстояний от точек кривой была минимальной. Это отвечает предположению, что разброс экспериментальных точек подчиняется закону нормального распределения.

Литература

1. Краткий справочник физико-химических величин. — 10-е изд., испр. и доп. ; под ред. А. А. Равделя и А. М. Пономаревой. — СПб. : Иван Федоров, 2003. — 240 с.
2. IUPAC Compendium of chemical terminology (Gold Book). — URL : <https://goldbook.iupac.org/> (дата обращения: 02.09.2019).
3. Вишняков, А. В. Физическая химия: учебник для вузов / А. В. Вишняков, Н. Ф. Кизим. — М. : Химия, 2012. — 840 с.
4. Арутюнов, Ю. И. Качественный газо-хроматографический анализ : Лабораторный спецпрактикум / Ю. И. Арутюнов, Л. А. Онучак [и др.]. — Самара : Самарский ун-т, 1997. — 51 с.
5. Арутюнов, Ю. И. Количественный газо-хроматографический анализ: Лабораторный спецпрактикум / Арутюнов Ю. И., Онучак Л. А., Платонов И. А. [и др.]. — Самара : Самарский ун-т, 1997. — 51 с.
6. Арутюнов, Ю. И. Хроматографическое измерение состава нефтяных газов. — М. : Недра, 1987. — 264 с.
7. Баффингтон, Р., Уилсон М. Детекторы для газовой хроматографии: пер с англ. / под ред. В. Г. Березкина. — М. : Мир, 1993. — 80 с.
8. Бельский В. Г., Виленчик Л. З. Количественная газовая хроматография : В 2 т. — М. : Мир, 1991. — 215 с.
9. Березкин, В. Г. Что такое хроматография. — М. : Наука, 2005. — 76 с.
10. Березкин, В. Г. Газо-жидко-твердофазная хроматография. — М. : Химия, 1986. — 311 с.
11. Белякова, Л. Д. Применение хроматографии в физико-химических исследованиях / Л. Д. Белякова, А. К. Буряк, О. Г. Ларионов // Современные проблемы физической химии. — М. : ИД «Граница», 2005. — С. 264–286.
12. Брек, Д. Цеолитовые молекулярные сита. — М. : Мир, 1976. — 113 с.
13. Вигдергауз, М. С. Физико-химические основы и современные аспекты газовой хроматографии. — Самара : Самарский ун-т, 1993. — 312 с.
14. Вигдергауз, М. С. Хроматография как метод химии растворов. — Самара : Самарский ун-т, 1994. — 145 с.
15. Высокоэффективная газовая хроматография : пер. с англ. / под ред. К. Хайвера. — М. : Мир, 1993. — 288 с.
16. Геккелер, К. Аналитические и препаративные лабораторные методы / К. Геккелер, Х. Экштайн. — М. : Химия, 1994. — 211 с.

17. *Гиошон, Ж.* Количественная газовая хроматография для лабораторных анализов и промышленного контроля. В 2 т. / Ж. Гиошон, К. Гийемен. — М. : Мир, 1991. — 1 ч. — 680 с., 2 ч. — 375 с.
18. *Гольберт, К. А.* Введение в газовую хроматографию / К. А. Гольберт, М. С. Вигдергауз. — М. : Химия, 1990. — 352 с.
19. *Грэг, С.* Адсорбция. Удельная поверхность. Пористость / С. Грэг, К. Синг. — М. : Мир, 1984. — 310 с.
20. *Даванков В. А.* Сто лет хроматографии / В. А. Даванков, Я. И. Яшин // Вестн. РАН. — 2003. — Т. 73, № 7. — С. 637–646.
21. *Дубинин, М. М.* Кинетика и динамика физической адсорбции / М. М. Дубинин, К. М. Николаев, Н. С. Поляков. — М. : Наука, 1973. — 134 с.
22. Жидкостная колоночная хроматография / под ред. З. Дейка, К. Мацека, Я. Янака. — М. : Мир, 1978. — 213 с.
23. *Киселев, А. В.* Адсорбционная газовая и жидкостная хроматография / А. В. Киселев, Я. И. Яшин. — М. : Химия, 1979. — 254 с.
24. *Киселев А. В.* Межмолекулярные взаимодействия в адсорбции и хроматографии. — М. : Высшая школа, 1986. — 212 с.
25. *Киселев, А. В.* Молекулярные основы адсорбционной хроматографии / А. В. Киселев, Д. П. Пошкус, Я. И. Яшин. — М. : Химия, 1986. — 324 с.
26. *Когановский, А. М.* Адсорбция органических веществ из воды / А. М. Когановский, Н. А. Клименко, Т. М. Левченко [и др.]. — Л. : Химия, 1990. — 256 с.
27. *Кокотов, Ю. А.* Теоретические основы ионного обмена. Сложные ионообменные системы / Ю. А. Кокотов, П. П. Золотарев, Г. Э. Елькин. — Л. : Химия, 1986. — 280 с.
28. Количественный анализ хроматографическими методами : пер. с англ. / под ред. Э. Кэц. — М. : Мир, 1990. — 336 с.
29. *Конюхов, В. Ю.* Исследование адсорбционных свойств красочных пигментов методом газовой хроматографии // Журн. прикл. химии. — 2000. — Т. 73. — С. 563–566.
30. *Король, А. Н.* Неподвижные фазы в газожидкостной хроматографии. — М. : Химия, 1985. — 240 с.

31. *Крейчи, М.* Вычисления и величины в сорбционной колоночной хроматографии : пер. с чешск. / М. Крейчи, Я. Паюрек, Комерс [и др.] — М. : Мир, 1993. — 208 с.
32. *Лопаткин, А. А.* Теоретические основы физической адсорбции. — М. : Изд-во МГУ, 1983. — 186 с.
33. *Мак-Нейр* Введение в газовую хроматографию / Мак-Нейр, Э. Бонелли. — М. : Мир, 1970. — 277 с.
34. *Митрука, Б. М.* Применение газовой хроматографии в микробиологии и медицине : пер. с англ. — М. : Медицина, 1978. — 608 с.
35. *Онучак, Л. А.* Хроматографические измерения : Лабораторный спец-практикум / Л. А. Онучак, Ю. И. Арутюнов [и др.]. — Самара : Самарский ун-т, 1996. — 55 с.
36. *Остерман, Л. А.* Хроматография белков и нуклеиновых кислот. — М. : Наука, 1985. — 234 с.
37. *Перри, С.* Практическое руководство по жидкостной хроматографии : пер. с англ. / С. Перри, Р. Амос, П. Брюер — М. : Мир, 1974. — 260 с.
38. *Пецев, Н.* Справочник по газовой хроматографии : пер. с болг / Н. Пецев, Н. Коцев. — М. : Мир, 1987. — 260 с.
39. Руководство по газовой хроматографии : пер с нем. / под ред. А. А. Жуховицкого. — М. : Мир, 1989. — 503 с.
40. Руководство по современной тонкослойной хроматографии / Под ред. О. Г. Ларионова. — М. : Изд-во научн. совета РАН по хроматографии, 1994.
41. Руководство по газовой хроматографии / под ред. Э. Лейбница, Х. Г. Штруппе. Т. 1, 2. — М. : Мир, 1988. — 480 с.
42. *Сакодынский, К. И.* Аналитическая хроматография / К. И. Сакодынский, В. В. Бражников, С. А. Волков [и др.]. — М. : Химия, 1993. — 195 с.
43. *Самсонов, Г. В.* Сорбционные и хроматографические методы физико-химической биотехнологии / Г. В. Самсонов, А. Г. Меленький. — Л. : Наука, 1986. — 168 с.
44. *Серов, Ю. М.* Хроматографические методы анализа / Ю. М. Серов, В. Ю. Конюхов, А. Ю. Крюков [и др.]. — М. : Изд-во РУДН, 2011. — 219 с.
45. *Столяров, Б. В.* Руководство к практическим работам по газовой хроматографии / Б. В. Столяров, И. М. Савинов, А. Г. Виттенберг. — Л. : Химия, 1988. — 336 с.

46. *Сычев К. С.* Практическое руководство по жидкостной хроматографии. — М. : Техносфера, 2010. — 272 с.
47. *Тесаржик, К.* Капиллярные колонки в газовой хроматографии : пер. с чешск. / К. Тесаржик, К. Комарек — М. : Мир, 1987. — 222 с.
48. *Товбин, Ю. К.* Теория физико-химических процессов на границе газ — твердое тело. — М. : Наука, 1990. — 288 с.
49. Хроматографический анализ окружающей среды / под ред. В. Г. Березкина. — М. : Химия, 1979. — 608 с.
50. Хроматография. Практическое применение метода / под ред. Э. Хефтмана : пер. с англ. Ч. 1–2. — М. : Мир, 1986.
51. *Энгельгардт Х.* Жидкостная хроматография при высоких давлениях / пер. с англ. / под ред. К. В. Чмутова. — М. : Мир, 1980. — 156 с.
52. *Яшин, Я. И.* Физико-химические основы хроматографического разделения. — М. : Химия, 1976. — 168 с.
53. *Evans, D.* Chem. Soc. / D. Evans, J. J. Tatlov, 1955. — 1184 с.

*Валерий Юрьевич КОНЮХОВ,
Галина Михайловна БОНДАРЕВА*

**ХРОМАТОГРАФИЯ
В ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ПРАКТИКУМ**
Учебное пособие

Зав. редакцией
литературы по химии, пищевой биотехнологии
и технологии продуктов питания *Т. В. Карпенко*
Ответственный редактор *В. В. Яески*
Корректор *М. А. Лауконен*
Выпускающий *Е. С. Шумская*

ЛР № 065466 от 21.10.97
Гигиенический сертификат 78.01.10.953.П.1028
от 14.04.2016 г., выдан ЦГСЭН в СПб

Издательство «ЛАНЬ»
lan@lanbook.ru; www.lanbook.com
196105, Санкт-Петербург, пр. Юрия Гагарина, д. 1, лит. А
Тел./факс: (812) 336-25-09, 412-92-72
Бесплатный звонок по России: 8-800-700-40-71

Подписано в печать 30.09.21.
Бумага офсетная. Гарнитура Школьная. Формат 70×100 ¹/₁₆.
Печать офсетная/цифровая. Усл. п. л. 20,48. Тираж 30 экз.

Заказ № 1137-21.

Отпечатано в полном соответствии с качеством
предоставленного оригинал-макета в АО «Т8 Издательские Технологии».
109316, г. Москва, Волгоградский пр., д. 42, к. 5.