

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Федеральное государственное автономное образовательное  
учреждение высшего образования «Национальный исследовательский  
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»**

**Дзержинский филиал**

**Н.Я. Супрядкина  
Л.А. Демина**

**КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ**

Учебно-методическое пособие

Рекомендовано Объединённой методической комиссией Института  
открытого образования и филиалов университета для слушателей,  
обучающихся по образовательной программе повышения квалификации  
«Хроматография и наладка хроматографической аппаратуры»

Дзержинск  
2017

УДК 543.544  
ББК 24.46  
С89

С89 Количественный хроматографический анализ. Авторы: Супрядкина Н.Я., Демина Л.А. Учебно-методическое пособие. – Дзержинск: ННГУ, 2017. - 41 с.

**Рецензент:** начальник аналитической лаборатории МБУ «Инженерно-экологической службы г.Дзержинска» О.Г.Солодухина

В настоящем пособии кратко изложены основы теории и практики количественного хроматографического анализа методами газовой, жидкостной и ионной хроматографии, рассмотрены различные способы количественного расчета состава смесей по хроматограммам.

Учебно-методическое пособие предназначено для слушателей групп, изучающих хроматографические методы с целью приобретения навыков практического выполнения количественного хроматографического анализа с использованием различных современных аналитических хроматографов и рассчитано в первую очередь на начинающих специалистов. Методические указания могут быть использованы лаборантами, инженерами, научными сотрудниками, использующими в своей практике хроматографические методы анализа.

Ответственный за выпуск:

Председатель Объединённой методической комиссии Института открытого образования и филиалов университета – Назарова Н.Е.

УДК 543.544  
ББК 24.46

© Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 2017

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение _____	4
Лабораторная работа №1. Методы расчета состава смесей по хроматограммам _____	6
Контрольные вопросы к лабораторной работе №1 _____	17
Лабораторная работа №2. Использование обращено-фазовой ВЭЖХ для определения массовой концентрации фенола в воде методом абсолютной градуировки _____	18
Контрольные вопросы к лабораторной работе № 2 _____	25
Лабораторная работа №3. Анализ питьевой воды на содержание фторид-, хлорид-, и нитрат-ионов методом ионной хроматографии с использованием кондуктометрического детектора с подавлением фоновой электропроводности элюента _____	27
Контрольные вопросы к лабораторной работе №3 _____	39
Список рекомендуемых источников _____	40

## ВВЕДЕНИЕ

В своей практической работе химику-аналитику чаще всего приходится отвечать на два вопроса:

- 1) какие соединения находятся в исследуемом образце?
- 2) в каких количествах присутствуют эти соединения в анализируемой пробе?

В настоящее время одним из основных методов анализа сложных органических и неорганических смесей является хроматография.

**Хроматография** — это физико-химический метод разделения веществ, основанный на различиях в скоростях их перемещения в системе двух несмешивающихся фаз, одна из которых неподвижна, а другая подвижна и постоянно протекает через неподвижную фазу.

В аналитической практике широкое распространение получили различные виды хроматографии, такие как газовая хроматография [1], высокоэффективная жидкостная хроматография [2-4], ионная хроматография [5,6], капиллярная хроматография [1] и др. Эти виды, дополняя друг друга, позволяют проводить анализ сложных многокомпонентных смесей и объектов.

Современное промышленное производство, медицина, контроль состояния окружающей среды и развитие науки предъявляют очень высокие требования к методам определения состава различных объектов, и хроматографические методы отвечают этим требованиям. Высокая эффективность, экспрессность, высокая чувствительность, воспроизводимость результатов, простота эксперимента, доступность и надежность стандартной аппаратуры, возможность полной автоматизации анализа – эти и другие положительные особенности хроматографических методов объясняют их широкое применение для целей аналитического анализа и контроля [7].

Хроматографические методы позволяют разделить многокомпонентную смесь на отдельные составляющие, с последующей идентификацией и количественным определением каждого компонента. В хроматографии разделение, идентификация и количественное определение компонентов анализируемой пробы проводятся одновременно, на одном приборе. Сегодня хроматографы - самые распространенные аналитические приборы. Современный хроматограф оборудован жидкокристаллическим дисплеем, электронными блоками регулирования потоков подвижной фазы, набором детекторов и инжекторов различного типа и другими устройствами для целей выполнения того или иного анализа [8].

При проведении лабораторных работ слушатели знакомятся с различными вариантами хроматографии, получают навыки работы на разных хроматографах и знакомятся с методами расчета состава смесей по хроматограммам.

В предлагаемом учебно-методическом пособии приводится описание трех лабораторных работ, проводимых на газовом, жидкостном и ионном хроматографах.

Лабораторная работа рассчитана на 6 академических часов и заканчивается составлением отчета. Рекомендуемый план отчета:

1. Название лабораторной работы.
2. Цель работы.
3. Краткое описание теоретической и практической частей работы.
4. Результаты (с приложением хроматограмм, таблиц и расчетов).
5. Выводы.

## Лабораторная работа № 1

### Методы расчета состава смесей по хроматограммам

**Цель работы.** Получение навыков работы на газовом хроматографе, изучение различных методов количественного расчета состава смесей по хроматограммам.

Целью количественного анализа является определение концентрации или количества данного анализируемого вещества в пробе. Источником сведений о количественном составе анализируемой смеси является экспериментальная хроматограмма, представляющая собой график зависимости выходного сигнала детектора от времени.

Основными количественными параметрами хроматограммы являются площадь пика  $S$ , а так же высота пика  $h$ .

В теории хроматографического количественного анализа допускают, что состав пробы, введенной в хроматограф, идентичен составу анализируемого образца. Это можно выразить равенством массовых долей определяемого компонента:

$$g_i = W_i/W_n = m_i/m_n, \quad (1)$$

где  $W_i$  и  $m_i$  - масса определяемого компонента в анализируемой пробе и в дозируемой пробе, соответственно;

$W_n$  и  $m_n$  - навеска анализируемой пробы и хроматографируемой пробы, соответственно.

В основе количественного расчета лежит пропорциональная зависимость между количеством анализируемого вещества в образце и откликом детектора на это количество, т.е., фактически, между концентрацией и параметром пика (высотой или площадью). Взаимосвязь между количеством вещества в образце и выходным сигналом детектора называется градуировочной характеристикой хроматографа. При условии линейной работы детектора, в частности, можно написать:

$$m_i = K_i S_i, \quad (2)$$

где  $m_i$  - масса компонента в анализируемой пробе;

$S_i$  - площадь пика;

$K_i$  - коэффициент пропорциональности, называемый в хроматографии градуировочным коэффициентом.

Градуировочный коэффициент ( $K_i$ ) учитывает различную чувствительность детектора к разным веществам.

В линейном динамическом диапазоне детектора  $K_i$  - величина постоянная и от величины пробы не зависит. Объединив уравнения (1) и (2), получим:

$$g_i = K_i S_i / m_n \quad (3)$$

Для определения состава анализируемой смеси требуется знание чувствительности детектора к определяемым веществам, получение количественных параметров пиков и учет массы пробы. Различные методы расчета состава смесей по хроматограммам, речь о которых пойдет ниже, отличаются способом учета величины пробы.

В аналитической практике наибольшее распространение получили следующие методы количественного расчета: метод абсолютной градуировки, метод внутренней нормализации и метод внутреннего стандарта. Реже используют метод стандартной добавки.

### **Метод абсолютной градуировки**

Метод абсолютной градуировки основан на использовании пропорциональной зависимости между высотой или площадью хроматографического пика и количеством компонента в пробе. Эту зависимость определяют экспериментально, хроматографируя искусственные смеси известного состава, и выражают в виде графика «Параметр пика – Количество (Концентрация)» (рис.1), либо аналитически:

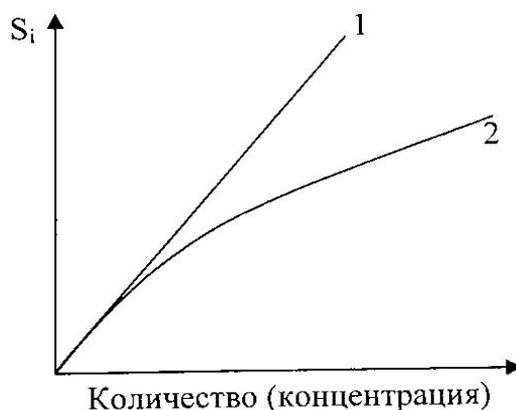
$$C_i = \frac{K_i \cdot S_i \cdot 100}{m}, \text{ масс. \%}, \quad (4)$$

где  $m$  – масса введенной пробы

или

$$C_i = \frac{K_i \cdot S_i \cdot 100}{V_n}, \text{ об. \%}, \quad (5)$$

где  $V_n$  - объем введенной пробы.



**Рис. 1. Зависимость параметра пика от количества (концентрации). 1 – прямолинейная зависимость, 2 – криволинейная зависимость.**

Градуировку можно проводить, вводя в хроматограф либо одинаковые по объему пробы с различной концентрацией компонентов, либо различные объемы постоянной концентрации. Первый способ обычно используют при анализе жидких проб, а второй при анализе газов. Диапазон относительных концентраций компонентов, составляющих смеси, необходимо подбирать с расчетом перекрытия ожидаемых концентраций интересующих соединений в анализируемых образцах. При построении градуировочного графика каждую искусственную смесь рекомендуется хроматографировать не менее 3 раз с целью исключения случайных промахов и усреднения данных. В некоторых случаях, при полной уверенности в линейной области показаний детектора или при затруднении в приготовлении большого числа смесей, допускается градуировка по одной смеси.

Метод абсолютной градуировки используется при работе как с линейными, так и с нелинейными детекторами (рис.1), а также при искажении параметра пика вследствие перегрузки колонки. Данный метод удобно использовать, когда нет необходимости определять все компоненты анализируемой смеси, а нужно определить только некоторые из них. Метод абсолютной градуировки является основополагающим при анализе микропримесей. При его использовании требуется разделение только интересующих компонентов, поэтому он может применяться и при обратной продувке колонки, и при отсутствии отклика детектора к некоторым соединениям.

При выполнении анализа методом абсолютной градуировки необходимо строго придерживаться следующих требований:

- анализируемая проба должна вводиться в хроматограф с высокой воспроизводимостью;
- необходимо строгое соблюдение полной идентичности условий хроматографического процесса при градуировке и выполнении анализов изучаемой смеси (идентичность температур узла ввода пробы, термостата колонок и детекторов, скорости потока подвижной фазы и др.).

При несоблюдении этих требований погрешность анализа может достигать значительных величин. Воспроизжимость и точность ввода пробы обеспечивается в достаточной мере при анализе газовых смесей с использованием крана-дозатора. Точный ввод жидких образцов микрошприцем требует определенного навыка оператора.

### **Метод внутренней нормализации**

Этот метод широко используется при анализе многокомпонентных смесей, когда интересуют концентрации каждого из компонентов.

Метод состоит из нескольких вариантов. В методе простой нормализации (простой нормировки) сумма площадей всех пиков

принимается за 100%, и концентрация любого компонента пробы рассчитывается как относительная площадь пика:

$$C_i = \frac{S_i \cdot 100}{\sum_{i=1}^n S_i} , \% \quad (6)$$

Необходимым условием применения метода простой нормализации является регистрация всех компонентов пробы и одинаковая чувствительность детектора к разным веществам. Для большинства детекторов это, в общем, справедливо, если анализируется смесь компонентов, имеющих сходное химическое строение (например, углеводородные фракции), или все компоненты пробы имеют большие молекулярные массы. Этот вариант метода имеет ограниченное применение. В большинстве случаев для получения точных результатов при анализе смесей веществ различного строения (например, спиртов, ароматических углеводородов, сложных эфиров) необходимо учитывать разный отклик детектора к разным веществам пробы с помощью поправочных (градуировочных) коэффициентов, зависящих от свойств вещества, способа детектирования, а также от конструкции детектора.

В основном варианте метода внутренней нормализации расчет проводится с учетом градуировочных коэффициентов:

$$C_i = \frac{K_i \cdot S_i \cdot 100}{\sum_{i=1}^n K_i \cdot S_i} , \% \quad (7)$$

Для применения этого варианта необходимо выполнение следующих условий:

- регистрация детектором всех компонентов пробы;
- полное отделение всех входящих в смесь соединений друг от друга;
- идентификация всех пиков на хроматограмме.

Расчеты поведятся с использованием не абсолютных, а относительных градуировочных коэффициентов ( $K_{mi}$ ), которые малочувствительны к небольшим изменениям в условиях проведения хроматографического

эксперимента. Кроме того, намного легче проводить относительные измерения, чем абсолютные, так как для последних необходимо точное воспроизведение количества вводимой пробы.

Численные значения этих коэффициентов надежнее всего находить экспериментально. В высокоэффективной жидкостной хроматографии этот путь является единственно возможным.

Для экспериментального определения относительных градуировочных коэффициентов нужно приготовить искусственную смесь необходимых компонентов, записать несколько хроматограмм этой смеси и, приняв за стандарт один из компонентов, рассчитать  $K_{mi}$  по формуле:

$$K_{mi} = \frac{K_i}{K_{st}} = \frac{C_i \cdot S_{st}}{C_{st} \cdot S_i} \quad (8)$$

Относительные градуировочные коэффициенты показывают, во сколько раз площадь пика стандартного соединения отличается от площади пика определяемого компонента, когда введенные количества (концентрации) обоих компонентов одинаковы, т.е.  $K_{mi}$  учитывают различную чувствительность детектора к разным компонентам.

В газовой хроматографии относительные коэффициенты можно взять из литературных данных, иногда их получают расчетным путем на основе законов детектирования (например, по эффективному углеродному числу для пламенно-ионизационного детектора). В принципе, относительный градуировочный коэффициент зависит только от природы определяемых веществ и выбранного стандарта, а также от используемого детектора. Однако имеется ряд хроматографических параметров, которые могут влиять на значение относительного коэффициента чувствительности детектора. Поэтому использование коэффициентов, взятых из литературы, всегда рискованно, так как они могут зависеть от значения некоторых неустановленных параметров (например, конструкция и температура детектора).

Следует отметить, что во многих случаях, когда не требуется высокая точность анализа, или когда проба состоит из веществ, сходных по строению, метод внутренней нормализации без определения поправочных коэффициентов детектора (простая нормализация) весьма удобен и экспрессен.

Достоинства обоих вариантов метода внутренней нормализации заключаются в том, что они не требуют воспроизводимого ввода пробы по величине и соблюдения тождественности условий анализа. Результаты анализов этим методом имеют лучшую сходимость по сравнению с методом абсолютной градуировки.

Недостатки метода заключаются в трудности разделения всех компонентов сложных смесей, необходимости их идентификации и трудоемкости определения градуировочных коэффициентов, хотя некоторые компоненты могут и не представлять аналитического интереса. Недостатком метода является и то, что ошибка в определении параметра пика или градуировочного коэффициента какого-либо одного компонента пробы приводит к искажению результатов всех остальных.

### **Метод внутреннего стандарта**

Метод внутреннего стандарта заключается в хроматографировании исследуемого образца с добавкой известного количества, не содержащегося в смеси специально подобранного вещества – «внутреннего стандарта», дающего на хроматограмме хорошо разделенный пик.

Концентрация определяемого компонента в анализируемой пробе рассчитывается по формуле:

$$C_i = \frac{K_i \cdot S_i \cdot W_{st} \cdot 100}{K_{st} \cdot S_{st} \cdot W_n} \text{ , масс. \%} \quad (9)$$

где  $W_n$  - количество анализируемой смеси;

$W_{st}$  - количество стандарта, добавленного к смеси.

К веществу, используемому в качестве внутреннего стандарта, предъявляется ряд требований. Внутренний стандарт должен:

- 1) иметь хорошо разделенный пик;
- 2) выходить на хроматограмме рядом с пиками анализируемых компонентов;
- 3) иметь летучесть, близкую определяемым компонентам;
- 4) отсутствовать в анализируемой смеси;
- 5) хорошо растворяться в анализируемой пробе и не реагировать химически с другими компонентами анализируемой смеси, а также с неподвижной фазой и с материалом узлов хроматографа;
- 6) внутренний стандарт добавляется в количестве, соизмеримом с анализируемыми компонентами.

Выполнение первого условия дает возможность точного измерения параметра пика; второго – уменьшает влияние изменения чувствительности детектора из-за колебаний рабочих условий (расход газа-носителя, температура колонки и т.д.); третьего – уменьшает ошибки, вызванные фракционированием пробы при вводе; четвертого и пятого – обеспечивает точное значение массы внутреннего стандарта; шестого – уменьшает влияние нелинейности детектора к различным количествам компонентов.

При выборе внутреннего стандарта также желательно, чтобы это вещество имело высокую чистоту (более 99.0 %) Важно, чтобы стандарт не содержал примесей, пики которых накладываются на пики определяемых компонентов.

Относительный коэффициент, входящий в расчетную формулу (9) определяют путем градуировки хроматографа по искусственным смесям, содержащим известные количества анализируемого компонента и внутреннего стандарта:

$$K_{mi} = \frac{K_i}{K_{st}} = \frac{C_i \cdot S_{st}}{C_{st} \cdot S_i} \quad (10)$$

$K_{mi}$  можно приравнять к единице, при условии, что чувствительности детектора к определяемому компоненту и внутреннему стандарту достаточно

близки между собой, и подобное упрощение не вызывает существенной погрешности.

Достоинства метода внутреннего стандарта состоят в том, что он не требует воспроизводимого ввода пробы по величине, и результаты измерений мало зависят от изменений температуры колонки, расхода газ-носителя и режима работы детектора, так как эти факторы в равной мере сказываются на площади пиков и анализируемого компонента, и внутреннего стандарта. К достоинствам относится и то, что в этом методе требуется полное разделение только анализируемых компонентов и стандарта. Ошибка в измерении параметра или градуировочного коэффициента (исключая стандарт) сказывается только на определении содержания того компонента, для которого была допущена ошибка.

К недостаткам метода следует отнести трудоемкость выбора в ряде случаев соединения, удовлетворяющего перечисленным требованиям к внутреннему стандарту.

Метод внутреннего стандарта применяется в основном при анализе жидкостей, поскольку при анализе газов трудно дозировать определенное количество внутреннего стандарта в газовую смесь.

### **Метод стандартной добавки**

В ряде случаев при анализе сложных смесей выбор внутреннего стандарта вызывает затруднения. Тогда можно воспользоваться методом стандартной добавки. Для определения концентрации этим методом необходимо записать две хроматограммы: 1) анализируемой смеси и 2) обогащенной анализируемым компонентом исходной смеси (анализируемая смесь+добавка определяемого компонента). Один из соседних с анализируемым пиков принимается за пик сравнения. Концентрация определяемого компонента в исходной смеси выражается формулой:

$$C_i = \frac{\Delta W_i}{W_n} \frac{100}{\left( \frac{S_i' \cdot S_{cp}}{S_i \cdot S'_{cp}} - 1 \right)}, \text{ масс. \%}, \quad (11)$$

где  $S_i$  и  $S_{cp}$  - площади пиков определяемого компонента и компонента сравнения на первой хроматограмме, соответственно;

$S_i'$  и  $S'_{cp}$  - площади пиков определяемого компонента и компонента сравнения на второй хроматограмме, соответственно;

$W_n$  - навеска анализируемой смеси;

$\Delta W_i$  - добавка определяемого компонента.

Достоинством метода стандартной добавки является то, что здесь не требуется знания градуировочных коэффициентов.

Недостаток – возрастающая продолжительность времени анализа.

## Выполнение работы

### Анализ контрольной смеси методом внутренней нормализации

После выхода газового хроматографа на заданный режим работы (устойчивая нулевая линия) приступают к определению относительных градуировочных коэффициентов для изопропилового спирта, изобутилового спирта и изоамилового спирта относительно н-бутилового спирта. Коэффициенты рассчитывают по формуле (10).

Записывают 2-3 воспроизводимых хроматограммы контрольной смеси, качественный состав которой известен: изопропиловый, изобутиловый и изоамиловый спирты. Расчет результатов анализа проводят по формуле (7). Найденные значения концентраций сопоставляют с заданными ( $C_{ист}$ ), получив их у преподавателя. Рассчитывают относительную ошибку анализа по выражению:

$$\Delta_c = 100[C_{ист} - C_{изм}]/C_{ист} \quad (12)$$

## **Анализ контрольной смеси методом внутреннего стандарта**

Качественный состав контрольной смеси сообщается слушателю. Рекомендуются и внутренний стандарт. Задача заключается в количественной расшифровке хроматограмм.

Для экспериментального определения необходимых относительных градуировочных коэффициентов получают у преподавателя готовые искусственные смеси, содержащие известные количества определяемых соединений и внутренний стандарт. Расчет коэффициентов проводится по формуле (10).

Для определения состава контрольной смеси берутся навески этой смеси и внутреннего стандарта и смешиваются. Записывается хроматограмма полученной смеси. Сравниваются площади пиков определяемых компонентов и внутреннего стандарта. Добиваются, чтобы размеры пиков определяемых компонентов и внутреннего стандарта были соизмеримы. На основании 2-3 параллельных определений рассчитывается концентрация определяемых компонентов по формуле (9) и относительная ошибка по формуле (12).

## **Анализ контрольной смеси методом стандартной добавки**

Получают 2-3 воспроизводимые хроматограммы контрольной смеси. Затем берут навески контрольной смеси и одного из определяемых компонентов, смешивают их. Записывают 2-3 воспроизводимые хроматограммы полученной смеси. Концентрацию определяемого компонента рассчитывают по формуле (11). Затем все повторяют для другого определяемого компонента. Найденные значения концентраций сопоставляют с заданными ( $C_{ист}$ ), получив их у преподавателя, и рассчитывают относительную ошибку анализа по формуле (12).

## Контрольные вопросы к лабораторной работе № 1

1. На каком принципе основаны хроматографические методы разделения?
2. Что такое хроматограмма?
3. Какие параметры хроматографического пика используют для количественного анализа?
4. Каковы расчетные методы количественного хроматографического анализа?
5. Какие требования необходимо выполнять при использовании метода абсолютной градуировки?
6. В чем заключается метод простой нормализации?
7. Какие требования предъявляются к веществу, которое выбирают в качестве внутреннего стандарта?

## Лабораторная работа № 2

### Использование обращенно-фазовой ВЭЖХ для определения массовой концентрации фенола в воде методом абсолютной градуировки

**Цель работы.** Получение навыков работы на жидкостном хроматографе «Хромос ЖХ-301» на примере определения массовой концентрации фенола в воде методом абсолютной градуировки. Построение градуировочной зависимости между содержанием фенола в воде (в искусственно приготовленных растворах) и количественными параметрами (площадями или высотами) хроматографических пиков, регистрируемых спектрофотометрическим детектором. Определение содержания фенола в воде (в контрольном растворе) методом абсолютной градуировки.

#### Введение

Вода является одним из самых ценных природных ресурсов нашей планеты, без нее невозможно существование человечества.

Важнейшей экологической задачей является определение токсикантов различной природы в объектах окружающей среды и сточных водах промышленных предприятий.

Растущая озабоченность относительно качества природных, питьевых вод, вод хозяйственного назначения, безопасности сточных вод привела различные международные организации и объединенные регулирующие органы к необходимости составления перечня приоритетных загрязнителей и выработки соответствующих правил для их контроля.

Одним из приоритетных загрязняющих веществ для водных объектов является фенол и его производные, представляющие собой вещества достаточно высокой степени токсичности. Поэтому определение фенола и его производных в различных объектах, а также их последующее удаление является серьезной задачей.

В проведении мониторинга вод различной природы и различного назначения можно выделить следующие этапы:

- отбор пробы;
- пробоподготовка;
- обнаружение и идентификация ожидаемых компонентов;
- измерение концентрации найденных компонентов.

Отбор пробы воды является важной частью ее анализа, необходимым условием получения правильных результатов

Подготовка пробы обычно является обязательной стадией в анализе воды. Лишь в редких случаях удастся избежать этого и использовать прямой ввод пробы (например, при определении в питьевой воде полиядерных ароматических углеводородов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектированием).

Слишком разбавленные или сложные по составу образцы приходится подвергать ряду специфических процедур, чтобы сделать возможным их исследование на имеющейся аналитической аппаратуре и достичь эффективного разделения и детектирования. Подготовка пробы может ограничиваться только концентрированием исходного образца, а может включать также и фракционирование содержащихся в пробе компонентов. Для концентрирования пробы и разделения ее на фракции могут применяться выпаривание, отгонка, дистилляция, вымораживание, осаждение и соосаждение, экстракция, сорбция и другие методы.

Загрязнители обычно присутствуют в воде на уровне следов в диапазоне от 1 мкг/л (1ppv) до 1 нг/л (1ppt). Пределы обнаружения большинства методов близки к значениям предельно допустимых концентраций, поэтому для определения примесей требуется самая высокая чувствительность аналитических приборов.

Наиболее распространенный метод определения следовых количеств фенолов в воде является метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для определения фенола и его

производных в воде, предназначенной для хозяйственно-питьевого пользования, на уровне ПДК (0.001 мг/л) методом ВЭЖХ обычно проводят предварительную стадию пробоподготовки – чаще всего твердофазную или жидкостно-жидкостную экстракцию, что позволяет повысить степень извлечения фенолов и снизить предел обнаружения.

## **Теоретическая часть**

**Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)** является хроматографией при высоких давлениях. ВЭЖХ является идеальным методом разделения и проведения качественного и количественного анализа нелетучих и термически неустойчивых соединений как с малой, так с большой молекулярной массой, которые не могут быть проанализированы с помощью газовой хроматографии.

Колонки для ВЭЖХ, которые чаще всего используют в анализах загрязнителей окружающей среды, имеют длину 15-25 см и внутренний диаметр 4,6 мм.

В ВЭЖХ в качестве подвижных фаз (элюентов) обычно используют чистые растворители или их смеси. Пропускание элюента через колонку под высоким давлением позволило резко увеличить скорость анализа и существенно повысить эффективность разделения за счет использования мелкодисперсного сорбента (5-10 мкм).

В зависимости от типа применяемого сорбента в ВЭЖХ используют 2 варианта хроматографирования:

1. Хроматографирование на полярном сорбенте с использованием неполярного элюента – нормально-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (НФХ).
2. Хроматографирование на неполярном сорбенте с использованием полярного элюента – обращено-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ОФХ).

ОФХ основана на распределении компонентов анализируемой смеси между полярным элюентом и неполярными группами (чаще всего длинными алкильными цепочками), привитыми к поверхности сорбента. Применение в ВЭЖХ химически связанных неподвижных фаз обеспечивает постоянство их состава и повышает воспроизводимость хроматографического анализа.

Наиболее популярный сорбент в обращенно-фазовой хроматографии – силикагель размером 5-10 мкм с привитыми алкильными цепочками, число атомов углерода в которых восемнадцать (октадецильные группы). На сорбентах C18 выполняются такие анализы, как определение полиядерных ароматических углеводородов (бенз-а-пирен, хризен, пирен, антрацен и т.д.), ароматики (бензол, толуол, ксилолы и т.д.), фенолов (фенол, хлорфенолы, нитрофенолы и другие производные фенола), микотоксинов (афлатоксины, охратоксин, зеараленон, патулин), триазиновых гербицидов, карбаматных пестицидов, антибиотиков, наркотических веществ и др..

Подвижная фаза (элюент) в ВЭЖХ выполняет двоякую функцию: с одной стороны, она обеспечивает перенос десорбированных молекул по колонке, с другой стороны, играет активную роль в удерживании. Молекулы подвижной фазы взаимодействуют с другими компонентами системы: с молекулами разделяемых веществ и с неподвижной фазой. Поэтому вторая и более важная функция подвижной фазы сводится к регулированию констант равновесия, к регулированию удерживания. Возможности регулирования удерживания с помощью подвижной фазы необычайно велики.

Подвижные фазы (ацетонитрил, метанол и их смеси с водой), используемые в ОФХ, позволяют проводить детектирование в широком УФ-диапазоне, относительно легко растворяют практически все важнейшие соединения, входящие в состав биологических объектов, лекарственных препаратов, гербицидов и т.д.

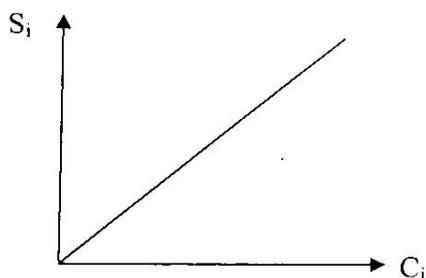
Удерживание соединений в режиме ОФХ увеличивается с уменьшением их полярности. Соединения с разветвленным углеродным

скелетом всегда элюируются раньше, чем с неразветвленной углеродной цепью.

В ВЭЖХ примерно 60-70% всех аналитических разделений осуществляется методом обращенно-фазовой хроматографии (ОФХ).

В излагаемой лабораторной работе иллюстрируется возможность количественного определения фенола в воде методом абсолютной градуировки с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Классический метод абсолютной градуировки заключается в построении линейных градуировочных зависимостей в координатах «Площадь (или высота) пика – Масса (или концентрация)» введенного в хроматограф вещества, т.е. строится зависимость  $S_i = f(C_i)$ . Градуировка проводится по специально приготовленным градуировочным растворам с известными концентрациями вещества (рис. 2).

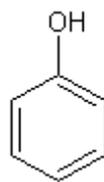


**Рис. 2.** Зависимость площади пика на хроматограмме от концентрации вещества в градуировочном растворе

Метод абсолютной градуировки требует соблюдения полной идентичности условий хроматографического процесса при градуировке хроматографа и анализе исследуемой пробы.

### **Практическая часть**

**Характеристики фенола:** фенол (гидроксибензол, карболовая кислота) -  $C_6H_5OH$



Фенол — один из промышленных загрязнителей. Фенол довольно токсичен для животных и человека. При вдыхании вызывает нарушение функций нервной системы. Пыль, пары и раствор фенола раздражают слизистые оболочки глаз, дыхательных путей, кожу, вызывая химические ожоги.

**Таблица 1**

**Физико-химические свойства и гигиенический норматив ПДК фенола в воде, предназначенной для хозяйственно-питьевого пользования**

Наименование вещества	Формула	Молекулярная масса	$T_{\text{кип.}}, ^\circ\text{C}$	Плотность, г/см, $41^\circ\text{C}$	$T_{\text{плавл.}}, ^\circ\text{C}$	ПДК, мг/л
Фенол	$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$	94	181,75	1.0576 (жидкость)	40.9	0.001

Из ГН 2.1.5.1315-03: ПДК фенола - 0,001 мг/л - указана для суммы летучих фенолов, придающих воде хлорфенольный запах при хлорировании (метод пробного хлорирования). Эта ПДК относится к водным объектам хозяйственно-питьевого водопользования при условии применения хлора для обеззараживания воды в процессе ее очистки на водопроводных сооружениях или при определении условий сброса сточных вод, подвергающихся обеззараживанию хлором. В иных случаях допускается содержание суммы летучих фенолов в воде водных объектов в концентрациях 0,1 мг/л.

**Внешний вид:** бесцветные игольчатые кристаллы, розовеющие на воздухе из-за окисления.

**Температурные константы смесей** (содержание в весовых процентах): 99,6 °C (температура кипения азеотропа, давление 1 атм) вода 90,8% фенол 9,2%

**Растворимость в воде** (в г/100 г воды в зависимости от температуры): 6,7 при 16°C, 8 при 20°C, 9,016 при 35°C, 10,71 при 50°C, 14,97 при 60°C,

смешивается при 66°C, при температуре больше 70°C растворяется в воде в любых отношениях.

**Аппаратура и условия хроматографирования.** Жидкостный хроматограф «Хромос ЖХ-301» со спектрофотометрическим детектором (СПФД), укомплектованный программно-аппаратным комплексом «Хромос». В программных обеспечениях подобных комплексов предусматривается возможность итоговой обработки полного массива накопленной информации по завершении выполнения всех намеченных анализов.

Стальная колонка, 150 x 4,6 мм, заполненная неподвижной фазой Хромасил-С 18 зернения 7 мкм.

Подвижная фаза — бинарная система ацетонитрил/вода (40 : 60 по объему).

Режим разделения: изократический.

Расход элюента: 1 мл/мин.

Длина волны СПФД: 275 нм.

Температура: 20 °С.

**Выполнение работы.** Работу начинают с подготовки подвижной фазы. Смешанные в указанном объемном соотношении ацетонитрил (40 мл) и дистиллированную воду (60 мл) помещают в толстостенную однотубусную круглодонную колбу на 250 мл, опускают в колбу остеклованный магнитик, устанавливают колбу на столик магнитной мешалки и соединяют тубус колбы с водоструйным насосом. Включают мотор магнитной мешалки и аккуратно создают вакуум (не менее 100 мм рт. ст.), наблюдая вначале активное, а затем затухающее, вплоть до полного прекращения, удаление микропузырьков растворенного в подвижной фазе воздуха. Процесс дегазации подвижной фазы обычно требует 20-30 мин, по его окончании аккуратно соединяют систему с атмосферой (снимают вакуум), закрывают водоструйный насос и загружают подвижную фазу в резервуар для элюента. Включают прибор, а также программно-аппаратный комплекс типа

«Хромос» и выводят их на рабочий режим. Убедившись в записи устойчивой (без дрейфа) нулевой линии приступают к градуировке.

**Абсолютная градуировка хроматографа.** Градуировку хроматографа выполняют по 4-5 искусственно приготовленным водным растворам с концентрациями фенола в диапазоне от 0,2 до 1,0 мг/л. Начинают с наиболее разбавленного из подготовленных градуировочных растворов. Его и все последующие растворы (в порядке увеличения концентрации фенола в каждом из них) хроматографируют несколько раз (не менее трех). В процессе градуировки хроматографа проводят построение градуировочной зависимости вида  $S_i = f(C_i)$ , где  $S_i$  — площади (или высоты) пиков фенола на хроматограммах;  $C_i$  — концентрации фенола в градуировочных растворах (см. рис.1).

**Определение количественного содержания фенола в пробе воды (анализ контрольного образца).** Получают у преподавателя контрольный водный раствор, хроматографируют его не менее трех раз. Результат измерений – массовая концентрация фенола в проанализированном контрольном образце ( $C_{изм}$ ) автоматически рассчитывается программной системой сбора и обработки хроматографической информации «Хромос», используя полученный градуировочный график. Получив у преподавателя сведения о концентрации фенола в растворе ( $C_{ист}$ ), рассчитывают относительную погрешность анализа по выражению:  $\Delta_c = 100[C_{изм} - C_{ист}]/C_{ист}$ .

## **Контрольные вопросы к лабораторной работе № 2**

1. В чем заключается принципиальное отличие жидкостной хроматографии от газовой?
2. Почему для анализа фенола и его производных выбирают не газовую хроматографию, а ВЭЖХ?
3. Какие сорбенты и элюенты используются в обращенно-фазовом и нормально-фазовом вариантах ВЭЖХ?

4. Какую роль выполняет подвижная фаза (элюент) в ВЭЖХ?
5. Какие элюенты чаще всего используют в обращенно-фазовой ВЭЖХ?
6. Что положено в основу метода абсолютной градуировки?

### **Лабораторная работа № 3**

#### **Анализ питьевой воды на содержание фторид-, хлорид- и нитрат-ионов методом ионной хроматографии с использованием кондуктометрического детектора с подавлением фоновой электропроводности элюента**

**Цель работы.** Ознакомиться с методом двухколоночной ионной хроматографии (ИХ) с кондуктометрическим детектором на примере анализа анионов. Получение навыков работы на ионном хроматографе.

Построение градуировочных зависимостей между содержанием фторид-, хлорид- и нитрат-ионов в искусственно приготовленных водных растворах и количественными параметрами (площадями или высотами) соответствующих хроматографических пиков, регистрируемых кондуктометрическим детектором. Определение массовой концентрации фторид-, хлорид-, и нитрат-ионов в контрольном образце питьевой воды методом абсолютной градуировки хроматографа по площадям или высотам пиков.

#### **Введение**

Все возрастающее загрязнение объектов окружающей среды диктует острую необходимость непрерывного совершенствования существующих и создания новых высокочувствительных и надежных методов аналитического контроля качества воздуха, воды и почвы.

Без воды невозможно существование человечества. Особенно важным является определение загрязняющих воду компонентов, присутствие которых в воде нежелательно или недопустимо. Так, нитраты и нитриты, присутствующие во многих водных источниках, представляют отдельную проблему, так как в теле человека нитраты могут преобразовываться в нитриты, и, в конечном счете, при реакциях с аминами образуются канцерогенные нитрозамины.

Необходимость контроля нормативных показателей качества питьевой воды обусловлена влиянием антропогенных факторов (техногенные загрязнения) и увеличением эксплуатационной нагрузки популярных водоисточников. Вода является важнейшим сырьем при производстве многих напитков и продуктов питания. Анализ используемой воды очень важен как для контроля качества и вкуса продуктов питания, так и для обеспечения безопасности здоровья. Природная вода различных источников имеет свои особенности, и компоненты могут существенно различаться по уровню концентраций - от долей мкг/л до единиц г/л.

Для определения содержания ионов в питьевой и природной водах, в том числе вод источников питьевого водоснабжения, используется метод ионной хроматографии.

**Ионная хроматография (ИХ)** – это вариант жидкостной хроматографии, включающий ионообменное разделение ионов и кондуктометрическое определение концентрации хроматографически разделенных ионов. Этот метод идеально подходит для анализа воды. Диапазоны концентраций неорганических анионов в водах могут быть исключительно широкими - от ничтожных содержаний в особо чистой воде до макрокonzентраций хлоридов в морской воде.

Ионная хроматография позволяет определять неорганические и органические анионы, катионы щелочных и щелочноземельных металлов, катионы переходных металлов, амины и другие органические соединения в ионной форме. Этот метод идеально подходит для анализа воды. Диапазоны концентраций неорганических анионов в водах могут быть исключительно широкими – от ничтожных содержаний в особо чистой воде до макрокonzентраций хлоридов в морской воде. Хотя для анализа воды используется множество различных методов – ионная хроматография во всем мире является приоритетным методом и обеспечивает многокомпонентное определение в любых водах. До появления ИХ не было эффективного метода определения ионов с такой чувствительностью, селективностью,

воспроизводимостью и скоростью анализа. При этом анализ методом ИХ в большинстве случаев не требует пробоподготовки: при необходимости проба фильтруется и разбавляется. Анализ таких неорганических анионов, как фторид-, хлорид-, нитрит-, нитрат-, сульфат- и фосфат-ионов в водах методом ИХ многие годы является самым распространенным и рутинным анализом во всем мире.

Уровни определяемых концентраций неорганических анионов:

хлорид-, сульфат-, нитрат-, нитрит-ионов - от 0,5 до 50 мг/дм<sup>3</sup>;

фосфат-ионов - от 0,5 до 20 мг/дм<sup>3</sup>;

фторид-ионов - от 0,3 до 20 мг/дм<sup>3</sup>.

### **Теоретическая часть**

ИХ является разновидностью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для многокомпонентного анализа веществ ионной природы, либо тех соединений, которые в определенных условиях способны к ионизации.

Широкое распространение ИХ обусловлено рядом ее достоинств:

- а) возможность определять очень большое число как неорганических, так и органических ионов, а также одновременно определять катионы и анионы;
- б) высокая чувствительность определения (до 1 нг/мл без предварительного концентрирования);
- в) высокая селективность и экспрессность (можно определить до 10 ионов за 10-15 минут, а при градиентном элюировании свыше 20 ионов за 25-30 мин);
- г) малый объем анализируемой пробы (обычно 10-50 мкл), требуется не более 2 мл образца;
- д) широкий диапазон определяемых концентраций (от 1 нг/мл до 1000 мг/л без разбавления);
- е) при анализе водных проб в большинстве случаев пробоподготовка проста или же ее вообще не требуется.

В классической ионообменной хроматографии разделение происходит за счет обратимого ионного обмена. ИХ - аналитический вариант классической ионообменной хроматографии, ее отличает оперативность, большая эффективность и более высокая чувствительность анализа.

В основу действия ионного хроматографа положено объединение ионообменной хроматографии с детектированием по электропроводности и с компенсацией электропроводящего фона элюента.

Детекторы электропроводности пригодны для обнаружения самых разнообразных ионов. Такие детекторы не реагируют на вещества, находящиеся в молекулярном состоянии (воду, этанол или недиссоциированные молекулы слабых кислот).

В ионной хроматографии в качестве сорбентов используются ионообменные смолы (ионообменники), содержащие в своей структуре ионогенные группы, способные к реакции ионного обмена. Основой современных ионообменников для ИХ являются силикагели и органические пористые полимеры. Последние в настоящее время доминируют, т.к. более стабильны в щелочных средах при  $\text{pH} > 8$ . Силикагели устойчивы в пределах  $\text{pH} = 2-8$ .

В настоящее время наиболее распространенной основой для ионообменников являются поперечно-сшитые сополимеры стирола с дивинилбензолом, содержащие различные функциональные группы, которые и определяют характерные свойства ионообменника. Органические ионообменники химически стойки, стабильны во всем диапазоне  $\text{pH}$  (0-14) и имеют высокую степень сшивки, что увеличивает механическую прочность сорбента, необходимую по условиям его эксплуатации (высокие давления).

Важной характеристикой ионообменника является его обменная емкость. Ионообменная емкость – это число ионообменных центров на грамм ионообменника, т.е. это количество подвижных ионов, которые смола способна высвободить для обмена. Емкость является мерой числа доступных для ионного обмена функциональных групп в смоле и выражается

в мэкв/г сорбента. В ИХ с кондуктометрическим детектором используют ионообменники с низкой емкостью (менее  $0,1 \text{ мэкв} \cdot \text{г}^{-1}$ ).

В зависимости от знака заряда функциональных ионогенных групп ионообменники делят на:

1) катионообменники (катиониты) – имеют на поверхности положительно заряженные ионы, способны их высвободить и сорбировать из подвижной фазы катионы. то есть способны к обмену катионами.

2) анионообменники (аниониты) – имеют на поверхности отрицательно заряженные группы и сорбируют из подвижной фазы анионы, то есть способны к обмену анионами.

Разделение анионов в основном проводят на анионообменниках полимерной основы с четвертичными аммонийными группами. Катионы разделяются на катионообменниках с сульфогруппами.

Ионообменная хроматография основана на обратимом процессе эквивалентного обмена между ионами анализируемого вещества, находящимися в элюенте, и ионами ионогенных групп (противоионы), входящих в состав ионообменника:



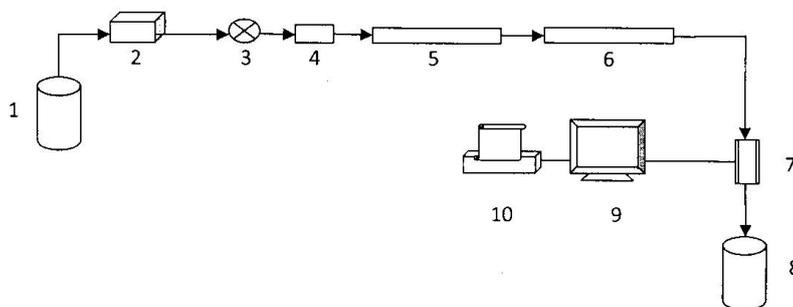
где  $A^{-}$  и  $B^{-}$  – ионы одного знака (в данном примере анионы).

подавляющее большинство анализов в ИХ выполняют при применении в качестве элюентов разбавленных водных растворов сильных электролитов - кислот, щелочей и солей. Вода обладает прекрасными растворяющими и ионизирующими свойствами, т.е. растворяет анализируемые образцы и переводит их из молекулярной формы в ионную, что и требуется для анализа ионов. Иногда в подвижную фазу добавляют небольшое количество смешивающихся с водой органических растворителей – метанола, этанола, ацетонитрила и др. Сила и селективность элюента зависят от типа и концентрации буферных ионов и других солей, от значения рН и от вида и концентрации добавленных органических растворителей. Элюенты, используемые в ИХ, обладают высокой электропроводностью, а

значит будут давать на кондуктометрическом детекторе (детектор по электропроводности) большой фоновый сигнал.

Для снижения фоновой электропроводности элюента после разделяющей (аналитической) колонки устанавливают вторую колонку – подавительную (компенсационную). Такой вариант получил название двухколоночной ионной хроматографии.

Основная особенность двухколоночной ИХ состоит в наличии подавительной колонки и кондуктометрического детектора, что позволяет реализовать наименьший предел детектирования за счет снижения фонового тока (рис. 3).



**Рис.3. Схема двухколоночной ИХ**

Элюент из емкости 1 насосом 2 с постоянной скоростью прокачивается через дозирующий кран 3, защитную колонку (предколонку) 4, разделяющую колонку 5, подавительную колонку 6, ячейку кондуктометрического детектора 7 и сливную емкость 8. Аналоговый сигнал от детектора преобразуется в цифровой и подается на ПК 9 для регистрации и обработки. Результаты разделения и анализа можно распечатать на принтере 10 в виде отчета, состоящего из хроматограммы с разделенными компонентами и таблицы с количественными результатами.

Первая (разделительная) колонка заполняется ионообменником малой емкости (0,01 – 0,1 мэкв/г) и обеспечивает высокоэффективное разделение ионов.

Вторую колонку называют подавительной, т.к. она снижает (подавляет) электропроводность элюента, переводя его в слабодиссоциирующее

вещество, обладающее низкой электропроводностью. Происходит реакция насыщения подавительной колонки ионами элюента. Подавительная колонка заполняется ионообменником большой емкости (3 – 5 мэкв/г) с тем, чтобы продлить срок ее службы. Определяемые ионы на этой колонке превращаются в соединения с высокой электропроводностью. Назначение подавительной колонки – получить максимальное различие сигналов элюента и определяемого иона.

Для стабильной работы разделительной колонки перед дозирующим краном устанавливают предварительную колонку (предколонку), улавливающую нежелательные примеси из элюента.

Элюенты, используемые в двухколоночной ионной хроматографии, должны отвечать двум основным требованиям. Во-первых, они должны быстро и селективно разделять определяемые ионы в разделительной колонке, то есть обладать определенной элюирующей силой. Во-вторых, после прохождения подавительной колонки элюент должен превращаться в соединение, электропроводность которого максимально отличается от электропроводности определяемого иона.

Важными достоинствами двухколоночной ионной хроматографии являются низкие пределы обнаружения ионов и линейность градуировочной зависимости в широком интервале их концентраций.

**Разделение анионов.** Анализ неорганических и органических ионов в растворах – сложная аналитическая задача. Внедрение ИХ для этих целей явилось большим достижением во многих актуальных областях. Если для анализа катионов существуют альтернативные экспрессные и чувствительные методы (например, атомно-абсорбционная спектрометрия), то для анализа анионов они отсутствуют. Такой чувствительный и оперативный метод, как ИХ, позволяет определять все типы анионов.

Наиболее распространенными элюентами в двухколоночной ИХ анионов являются разбавленные растворы солей слабых кислот.

Выбор оптимального элюента зависит от средства анализируемых ионов к ионообменнику в разделительной колонке и обусловлен в первую очередь тем, какие ионы нужно определить. Для анализа анионов наиболее часто в качестве элюентов используют  $\text{NaHCO}_3$  (гидрокарбонат, или бикарбонат натрия) и  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (карбонат натрия). Они дешевы, нетоксичны, устойчивы к окислению. Так как они отличаются по элюирующей силе, удобно использовать их смеси. Существует т.н. стандартный элюент:  $0,0024 \text{ M Na}_2\text{CO}_3 / 0,003 \text{ M NaHCO}_3$ .

Анионы карбоната и гидрокарбоната являются элюирующими ионами. Анионы пробы и элюента конкурируют за фиксированные активные центры смолы. Ионы с более высоким сродством к смоле будут удерживаться на колонке дольше. Традиционно считается, что для разделения наиболее подходят элюенты, элюирующие ионы которых имеют несколько большую сорбционную способность, чем наиболее прочно удерживаемый ион компонента анализируемой смеси. Элюирующая сила элюента обусловлена не только сорбционными характеристиками элюирующих ионов, но и зависит от их концентрации. Изменяя концентрацию элюента, можно регулировать его элюирующую силу. На этом принципе основано градиентное элюирование. Элюенты по элюирующей силе делят на слабые, средние и сильные. Следует отметить, что деление элюентов по их элюирующей силе весьма условно, поскольку некоторые элюенты являются эффективными при разделении как слабо-, так и средне- и сильноудерживаемых ионов.

Элюирующую силу элюента можно изменять также, изменяя pH раствора. Наглядным примером увеличения элюирующей силы элюента с ростом его pH может как раз служить использование растворов карбонатов для разделения анионов. Чаще всего в анионной ИХ применяются элюенты, которые представляют собой буферные растворы, приготовленные смешением карбоната и гидрокарбоната натрия. Селективность такого элюента можно легко изменять, меняя соотношение компонентов, тем самым

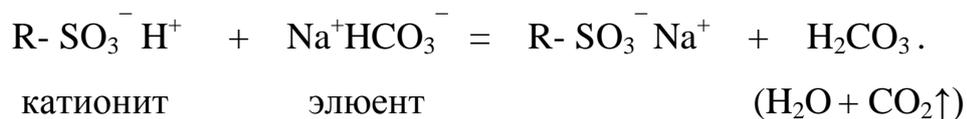
меня значение рН элюента. Раствор гидрокарбоната является слабым элюентом и служит для разделения слабоудерживаемых анионов (фторид, нитрит, хлорид, сульфид, анионы монокарбоновых кислот и др.). В смешанной гидрокарбонат-карбонатной форме повышается рН раствора за счет увеличения содержания в нем карбонат-ионов, обладающих высокой элюирующей силой, что позволяет использовать эти элюенты для разделения среднеудерживаемых ионов (нитрат, сульфат, сульфит, дигидрофосфат, анионы дикарбоновых кислот и др.). А карбонатная форма элюента, существующая при высоких значениях рН, элюирует сильноудерживаемые анионы (иодид, тиоцианат, сульфат, полифосфаты, анионы дикарбоновых и трикарбоновых кислот и др.). Благодаря своему заряду карбонат имеет очень хорошие элюирующие свойства, и его можно использовать в сравнительно низких концентрациях. Иногда для изменения рН раствора к гидрокарбонат-карбонатному элюенту добавляют гидрооксид натрия. Изменение элюирующей силы элюента в зависимости от величины рН тоже может служить основой градиентного элюирования.

Разделительная колонка для анализа анионов заполнена анионообменником низкой обменной емкости с четвертичными аммониевыми функциональными группами, подвижные противоионы которых способны обмениваться на анализируемые анионы. Так при элюировании  $\text{Cl}^-$  - ионов раствором  $\text{NaHCO}_3$  происходит следующая реакция ионного обмена:



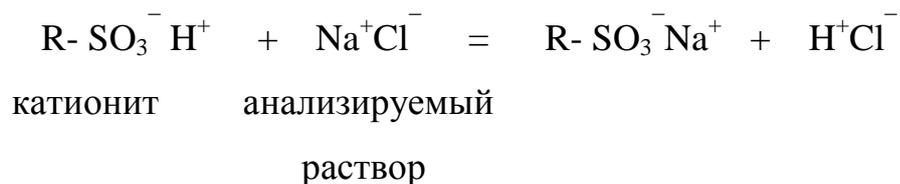
Подавительная колонка заполнена катионообменником (сульфокатионитом) большой емкости в  $\text{H}^+$ -форме. В подавительной колонке идет ряд реакций:

- 1)            Подавление фона элюента:



Катионы натрия обмениваются с противоионами смолы подавительной колонки, в результате чего элюент превращается в угольную кислоту, которая слабо диссоциирует на ионы и обладает низкой электропроводностью.

2) Перевод анализируемых ионов в единую высокоэлектропроводящую форму:



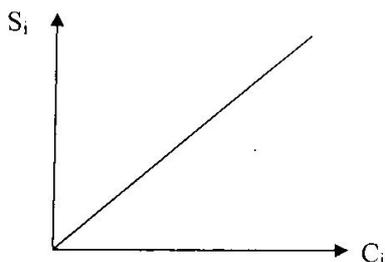
В результате этих процессов элюент переводят в малодиссоциированную кислоту, имеющую низкую электропроводность, а определяемые анионы – в сильную кислоту, имеющую высокую электропроводность, что увеличивает их детектируемость и исключает необходимость индивидуальных калибровочных графиков для каждой комбинации анион-катион в анализируемом растворе.

Использование подавительных колонок является наиболее дешевым методом, поэтому находит широкое применение в ионной хроматографии. Однако данному методу присущи недостатки, в частности малый срок службы подавительной колонки (8-20 час.), после чего ее необходимо регенерировать. Недостатки колоночной системы подавления можно устранить, используя мембранную систему подавления, которая выполняет те же задачи.

### **Практическая часть**

В излагаемой лабораторной работе требуется определить массовые концентрации анионов:  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$  и  $\text{NO}_3^-$  в питьевой воде методом двухколоночной ионной хроматографии с использованием кондуктометрического детектора.

Количественный расчет проводится методом абсолютной градуировки, который заключается в построении линейных градуировочных зависимостей в координатах площадь (высот) пика – концентрация аниона, т.е. строится зависимость  $S_i = f(C_i)$ . Градуировка проводится по специально приготовленным градуировочным растворам с известными концентрациями анализируемых анионов (рис. 4):



**Рис. 4. Зависимость площади пика на хроматограмме от концентрации вещества в градуировочном растворе**

Метод абсолютной градуировки требует соблюдения полной идентичности условий хроматографического процесса при градуировке хроматографа и анализе исследуемой пробы.

**Аппаратура и условия хроматографирования.** Ионный хроматограф «Хромос» в двухколоночном варианте с кондуктометрическим детектором, укомплектованный программно-аппаратным комплексом «Хромос» для итоговой обработки накопленной информации по завершении выполнения всех намеченных анализов.

Колонки для определения анионов с внутренним диаметром 4,6мм:

- а) разделительная колонка длиной 500мм (сорбент Канк-АСТ фракции 16-20мкм);
- б) подавительная колонка длиной 200мм (сорбент КРС-8П фракции 0,25-0,50мм);
- в) предколонка длиной 100мм (сорбент АРА-12П фракции 0,25-0,50мм).

Температура колонок - комнатная.

Элюент - водный раствор карбоната и бикарбоната натрия с концентрациями 2,4мМ/л  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  и 3,0мМ  $\text{NaHCO}_3$  (стандартный элюент).

Расход элюента - 1 мл/мин.

Объекты хроматографирования:

1. Три-четыре градуировочных раствора ионов  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$  и  $\text{NO}_3^-$  в воде с известным содержанием каждого из них.
2. Контрольный образец воды.

**Выполнение работы.** Работу начинают с подготовки подвижной фазы. Для обеспечения нормальной работы прибора непосредственно перед выполнением хроматографических анализов элюент обязательно фильтруют через фильтрующую воронку и дегазируют при помощи водоструйного насоса. Для дегазации элюент помещают в толстостенную однотубусную круглодонную колбу, опускают в нее остеклованный магнетик, устанавливая колбу на столик магнитной мешалки и соединяют тубус колбы с водоструйным насосом. Включают мотор магнитной мешалки и аккуратно создают вакуум (не менее 100 мм рт. ст.), наблюдая вначале активное, а затем затухающее, вплоть до полного прекращения, удаление микропузырьков растворенного в подвижной фазе воздуха. Процесс дегазации подвижной фазы обычно требует 15-20мин, по его окончании выключают мотор магнитной мешалки, аккуратно соединяют систему с атмосферой (снимают вакуум), закрывают водоструйный насос и переносят подвижную фазу в резервуар насоса.

Включают прибор, а также программно-аппаратный комплекс "Хромос" и выводят их на рабочий режим. Убедившись в записи устойчивой (без дрейфа) нулевой линии приступают к градуировке.

**Абсолютная градуировка хроматографа.** Получить у преподавателя приготовленные градуировочные водные растворы с концентрациями анионов в диапазоне: 2-5 мг/л для фторид-иона, 5-15 мг/л для хлорид-иона, 10-35 мг/л для нитрат-иона. Градуировку хроматографа выполняют по 3-4 растворам, начиная с наиболее разбавленного. Растворы (в порядке

увеличения концентраций анионов в каждом из них) хроматографируют несколько раз (не менее трех). В процессе градуировки хроматографа проводят построение градуировочной зависимости вида  $S_i = f(C_i)$ , где  $S_i$  — площади (или высоты) пиков анионов на хроматограммах;  $C_i$  — массовая концентрации анионов в градуировочных растворах (см. рис.1).

**Определение концентрации анионов в пробе воды.** Получают у преподавателя контрольный образец воды, хроматографируют его не менее трех раз. Результат измерений – массовые концентрации фторид-, хлорид-, и нитрат-ионов в проанализированном контрольном образце ( $C_{изм}$ ) автоматически рассчитывается программной системой сбора и обработки хроматографической информации «Хромос», используя полученный градуировочный график. Получив у преподавателя сведения о концентрациях указанных анионов в воде ( $C_{ист}$ ), рассчитывают относительную погрешность анализа по выражению:  $\Delta_c = 100[C_{изм} - C_{ист}]/C_{ист}$ .

### **Контрольные вопросы к лабораторной работе № 3**

1. Ионная хроматография – это вариант газовой или жидкостной хроматографии?
2. Что лежит в основе ионной хроматографии?
3. Что используется в качестве сорбентов в ИХ?
4. В чем отличие катионообменника от анионообменника?
5. Что положено в основу детектирования в ИХ?
6. В чем главная особенность двухколоночной ионной хроматографии?

## СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Я.И. Яшин, Е.Я.Яшин, А.Я.Яшин. Газовая хроматография. М.: ТрансЛит, 2009.
2. Сычев К.С., Курганов А.А. Практическое руководство по жидкостной хроматографии. М.: Техносфера, 2010. 270 с.2.
3. Шатц В.Д., Сахартова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Основы теории. Методология. Применение в лекарственной химии. Рига: Зинатне, 1988. 220 с.
4. Стыскин Е.Л., Ициксон Л.Б., Брауде Е.В. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. М.: Химия, 1986. 288 с.
5. Шпигун О.А., Золотов Ю.А. Ионная хроматография. М.: Изд. Моск. ун-та, 1990.
6. Фритц Дж., Гьерде Д., Поланд К. Ионная хроматография. М.: Мир, 1984.
7. Гиошон Ж., Гийемен К. Количественная газовая хроматография для лабораторных анализов и промышленного контроля (в 2-х книгах). Пер. с англ. – М.: Мир, 1991.
8. Столяров Б.В., Савинов И.М., Витенберг А.Г. и др. Практическая газовая и жидкостная хроматография. Спб.: Изд-во С-Пт. Университета, 1998.

Наталья Яковлевна Супрядкина  
Любовь Анатольевна Демина

## КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Учебно-методическое пособие

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский  
государственный университет им. Н.И. Лобачевского»  
Дзержинский филиал

606000 Нижегородская обл., г. Дзержинск, пер. Жуковского.2