

Р. В. Брунилин

Б. С. Орлинсон

С. С. Радченко

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА



Волгоград 2008

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ
ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ**

Р. В. Брунилин, Б. С. Орлинсон, С. С. Радченко

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Учебное пособие



Волгоград 2008

УДК 543.42 (075)

Рецензенты:

кафедра химии Волгоградского государственного медицинского университета, зав. кафедрой д-р хим. наук, профессор *А. К. Брель*;

доцент кафедры общей и прикладной химии Волгоградского государственного архитектурно-строительного университета, канд. хим. наук, *О. А. Кузнечиков*

Печатается по решению редакционно-издательского совета
Волгоградского государственного технического университета

Брунилин Р. В.

Хроматографические методы анализа. Учебное пособие / сост.: Р. В. Брунилин, Б. С. Орлинсон, С. С. Радченко / ВолгГТУ. – Волгоград, 2008. – 48 с.

ISBN

Учебное пособие предназначено для изучения хроматографических методов в курсе физико-химических методов анализа. Изложены основные положения хроматографического метода разделения смесей органических и неорганических веществ, рассмотрены экспериментальные основы ионообменной, тонкослойной и бумажной хроматографии.

Предназначены для студентов, обучающихся по направлениям 550800, 552400 и специальностям 320700, 250100.

Ил. 4. Табл. 1. Библиогр. 10 назв.

ISBN

© Волгоградский государственный
технический университет, 2008

ВВЕДЕНИЕ

В природных условиях вещества находятся, как правило, в смесях, а продукты синтеза и любых химических реакций, обычно не получают сразу в чистом виде. Сами исходные вещества могут быть довольно сложными по составу. Поэтому разделение смесей на отдельные компоненты и количественная характеристика их состава является весьма распространенной операцией в технике и, прежде всего, в химической технологии. Этим целям и служит хроматографический метод анализа.

Создателем хроматографического метода анализа является русский ученый М.С. Цвет, который в 1903 г. разработал хроматографический метод разделения компонентов красящего вещества зеленых листьев растений – хлорофилла. Изучая пигменты зеленого листа (хлоропласты), он разделял их на колонке, заполненной карбонатом кальция. При промывании колонки петролейным эфиром, наблюдалось разделение исходной смеси на окрашенные зоны в соответствии с различной адсорбцией пигментов на адсорбенте. Цвет назвал этот метод хроматографией, хотя таким способом можно разделять и бесцветные соединения.

К настоящему времени разработано большое количество различных хроматографических методов, отличающихся друг от друга принципом разделения, природой контактирующих фаз, аппаратным оформлением и т.д.

В данном пособии рассмотрены основные положения хроматографического метода разделения смесей органических и неорганических веществ, рассмотрены экспериментальные основы ионообменной, тонкослойной и бумажной хроматографии.

1. Теоретические основы метода

Хроматография – это физико-химический метод разделения веществ, основанный на разделении компонентов между двумя фазами – *подвижной* и *неподвижной*. Неподвижной (стационарной) фазой обычно служит твердое вещество (его часто называют *сорбентом*) или пленка жидкости, нанесенная на твердое вещество. Подвижная фаза (*элюент*) представляет собой жидкость или газ, протекающий через неподвижную фазу.

Хроматографический процесс легко представить на качественной основе. Рассмотрим колонку, заполненную гранулированным твердым веществом, через которую протекает поток жидкости. Вещество, растворенное в жидкости, перемещается вместе с нею, но в то же время имеет тенденцию удерживаться на поверхности твердого вещества за счет адсорбции или по другому механизму. Каждая молекула растворенного вещества часть времени находится в подвижной фазе и движется вместе с нею, а часть времени удерживается на поверхности неподвижной фазы. Возможность разделения двух и более таких растворенных веществ обусловлена различием их относительного сродства к обеим фазам, т.е. одно из них больше времени находится в подвижной фазе и поэтому скорее достигает конца колонки, и наоборот.

Хроматографический метод позволяет решать следующие задачи.

1. Разделение сложных смесей органических и неорганических веществ на отдельные компоненты; разделение и выделение растительных и животных пигментов; обогащение изотопов, редкоземельных и других веществ.
2. Очистка веществ от примесей.
3. Концентрирование вещества из сильно разбавленных растворов.
4. Определение молекулярной структуры некоторых соединений путем установления связи между сорбируемостью и строением данного вещества.
5. Определение качественного и количественного состава смесей веществ.

Хроматографический метод настолько надежен, что вещество можно считать однородным, если не удастся разделить его этим методом.

1.1. Классификация методов хроматографического анализа

Классификация хроматографических методов довольно обширна и разнообразна в зависимости от признака положенного в ее основу. Следует, однако, иметь в виду, что на практике часто встречаются методы, которые нельзя отнести к одной какой-либо группе. Поэтому рассматриваемая классификация в известной степени условна.

Классификацию хроматографических методов проводят по механизму (принципу) разделения, по способу разделения, по агрегатному состоянию фаз, между которыми происходит процесс разделения, и некоторым другим признакам.

Классификация по механизму разделения

В основу этой классификации положена природа основного процесса разделения.

Адсорбционная хроматография основана на явлении *адсорбции*. Адсорбция – это поглощение частиц какого-либо вещества поверхностью другого вещества, приводящее к повышению концентрации поглощаемого вещества на поверхности раздела фаз, по сравнению с концентрацией этого же вещества внутри объема данной фазы. В случае смеси веществ, степень концентрирования компонентов пропорциональна их коэффициентам адсорбции. Различие в коэффициентах определяет различие в концентрациях компонентов на границе раздела фаз. Если одна фаза перемещается относительно другой, то происходит хроматографическое разделение. Наиболее часто используется адсорбция на границе жидкой и твердой фаз. В этом случае в стеклянной трубке или на поверхности плоской подложки находятся частицы твердого адсорбента, которые омываются соответст-

вующим растворителем, имеющим в растворенном виде анализируемую смесь компонентов. Разделение смеси происходит на поверхности адсорбента.

Аналогичное разделение может происходить также между газовой и твердой фазой. В этом случае растворитель заменен на газ-носитель, который переносит по колонке анализируемую смесь.

Распределительная хроматография основана на распределении смеси компонентов между двумя несмешивающимися или ограничено смешивающимися фазами. Распределение происходит в зависимости от растворимости компонента в этих фазах. Количественно процесс распределения характеризуется константой распределения K_R . В случае перемещения фаз относительно друг друга также происходит хроматографическое разделение. Эффективность разделения компонентов определяется различием в их константах распределения. Часто, в распределительной хроматографии одна фаза является органическим растворителем, а другая водой. Последняя, обычно, закрепляется на твердых гидрофильных носителях. Органический растворитель в таком случае выполняет роль подвижной фазы. В некоторых случаях носитель, пропитанный гидрофобным веществом, насыщают органической фазой, а водную фазу используют как подвижную. Такой способ разделения называется обращенной хроматографией.

Распределительная хроматография может проводиться с использованием подвижной газовой и нелетучей жидкой фазы, которая закреплена на соответствующем твердом носителе. В этом случае более летучие или менее растворимые компоненты быстрее переносятся газом-носителем, благодаря чему и происходит их разделение.

Ионообменная хроматография основана на обратимом стехиометрическом обмене ионов, содержащихся в растворе, на ионы, входящие в состав ионообменника. Если разделяемые компоненты образуют в растворе ионы, то эти ионы могут электростатически взаимодействовать с ионогенными (то есть несущими заряд) функциональными группами ионообмен-

ника. Такое взаимодействие сопровождается ионным обменом. Если компоненты различаются по зарядам их ионов, константам диссоциации ионогенных групп или по размерам ионов, то они будут обладать различным сродством к частицам ионообменника. Все эти факторы влияют на степень распределения компонентов между фазой ионообменника и фазой раствора. Если одна из этих фаз перемещается относительно другой, то вследствие неодинаковой способности к обмену различных ионов, компоненты смеси разделяются. Ионообменную хроматографию проводят в колонках, заполненных ионообменником, подвижной фазой часто служит вода.

Эксклюзионная хроматография представляет собой метод разделения молекул, основанный на различии их размеров. В качестве неподвижной фазы в этом виде хроматографии используют частицы, имеющие определенные размеры пор. Подвижной фазой служат водные или органические элюенты. Наиболее простое объяснение механизма распределения в эксклюзионной хроматографии состоит в том, что молекулы анализируемых веществ распределены между неподвижным растворителем в порах сорбента и растворителем, протекающим через слой неподвижной фазы. Молекулы, которые имеют размеры, позволяющие им проникать в поры сорбента при движении вдоль колонки, часть времени теряют на пребывание в порах. Молекулы, имеющие размеры, превышающие размер пор, не проникают в сорбент и вымываются из колонки со скоростью движения элюента. Молекулы, которые проникают в поры всех размеров, движутся наиболее медленно. В качестве твердой пористой фазы используют обычно гели, которые перед использованием набухают в соответствующем растворителе. Набухшим гелем заполняют хроматографическую колонку, в которой он выполняет роль неподвижной фазы. При медленной фильтрации раствора через колонку происходит распределение компонентов между подвижной и неподвижной фазами и постоянное распределение смеси на компоненты с разными размерами молекул. Вначале элюируются самые большие, затем средние и потом небольшие молекулы.

Поэтому эксклюзионную хроматографию называют также молекулярно-ситовой. Эксклюзионная хроматография подразделяется на гель-проникающую и гель-фильтрационную. В гель-проникающей хроматографии разделение осуществляется на полимерах, набухающих в органических растворителях; если же полимеры набухают в воде, то обычно говорят о гель-фильтрационном варианте.

Аффинная хроматография является наиболее новым методом разделения веществ, основанном на специфических взаимодействиях, характерных для некоторых биологических и биохимических процессов. Существуют пары веществ, реагирующих в растворах с высокой избирательностью, например антитело и антиген, фермент и его субстрат или ингибитор, гормон и соответствующий рецептор. Одно из соединений пары фиксируется на твердом, часто полимерном носителе, который помещается в хроматографическую колонку (обычно это соединение называют *лигандом*). При пропускании раствора компонентов через колонку, нужный компонент (второе вещество пары) за счет специфического взаимодействия связывается с аффинным лигандом и удерживается в колонке. После промывки ее десорбирующей жидкостью можно избирательно элюировать этот компонент.

Другие методы хроматографии. Существует ряд методов разделения веществ, которые основаны на других принципах, отличных от описанных выше, но их также называют хроматографическими. Так, *хроматография высаливания* основана на зависимости растворимости отдельных компонентов от ионной силы раствора. *Осадочная хроматография* основывается на химической реакции, происходящей в процессе разделения и приводящей к продуктам с различной растворимостью. Для решения некоторых специальных задач разработаны также методы *окислительно-восстановительной хроматографии*, *электронного обмена* и *ионного замещения*, *лигандной хроматографии* и др. Следует помнить, что классификация по механизму весьма условна: ее используют в том случае, если

известен доминирующий механизм; часто процесс разделения протекает сразу по нескольким механизмам.

Классификация по способу разделения

Подвижную фазу, вводимую в слой неподвижной фазы, называют *элюентом*, а подвижную фазу, выходящую из колонки и содержащую разделенные компоненты, – *элюатом*. В элюате тем или иным способом определяют содержание компонентов. Распределение разделяемых веществ в виде отдельных полос (зон) вдоль колонки представляет собой внутреннюю хроматограмму (рис.1). Графическое изображение (часто получаемое с помощью самописца) распределения веществ в элюате называют внешней хроматограммой, или просто хроматограммой.

По способу получения хроматограмм (или иначе по способу разделения) различают фронтальную, вытеснительную и элюентную хроматографии.

Фронтальная хроматография. При фронтальном анализе в колонку непрерывно вводят раствор разделяемых веществ и следят за появлением фракций отдельных компонентов в растворе. Например, если измерять показатель преломления элюата, то он будет резко возрастать в момент выхода нового компонента. Пусть сорбируемость разделяемых веществ увеличивается в ряду $A < B < C$, тогда из колонки сначала будет вытекать чистый растворитель, затем, когда сорбент насытится наименее сорбируемым веществом А, оно появится в элюате. После насыщения сорбента веществом В, элюат будет содержать оба эти вещества и т.д. (рис. 1, а). Когда же сорбент будет полностью насыщен всеми компонентами смеси, состав элюата совпадет с составом раствора, вводимого в колонку. При фронтальном способе разделения в чистом виде можно выделить лишь одно вещество, да и то не полностью. Однако внешняя хроматограмма дает представление о числе компонентов в анализируемом растворе.

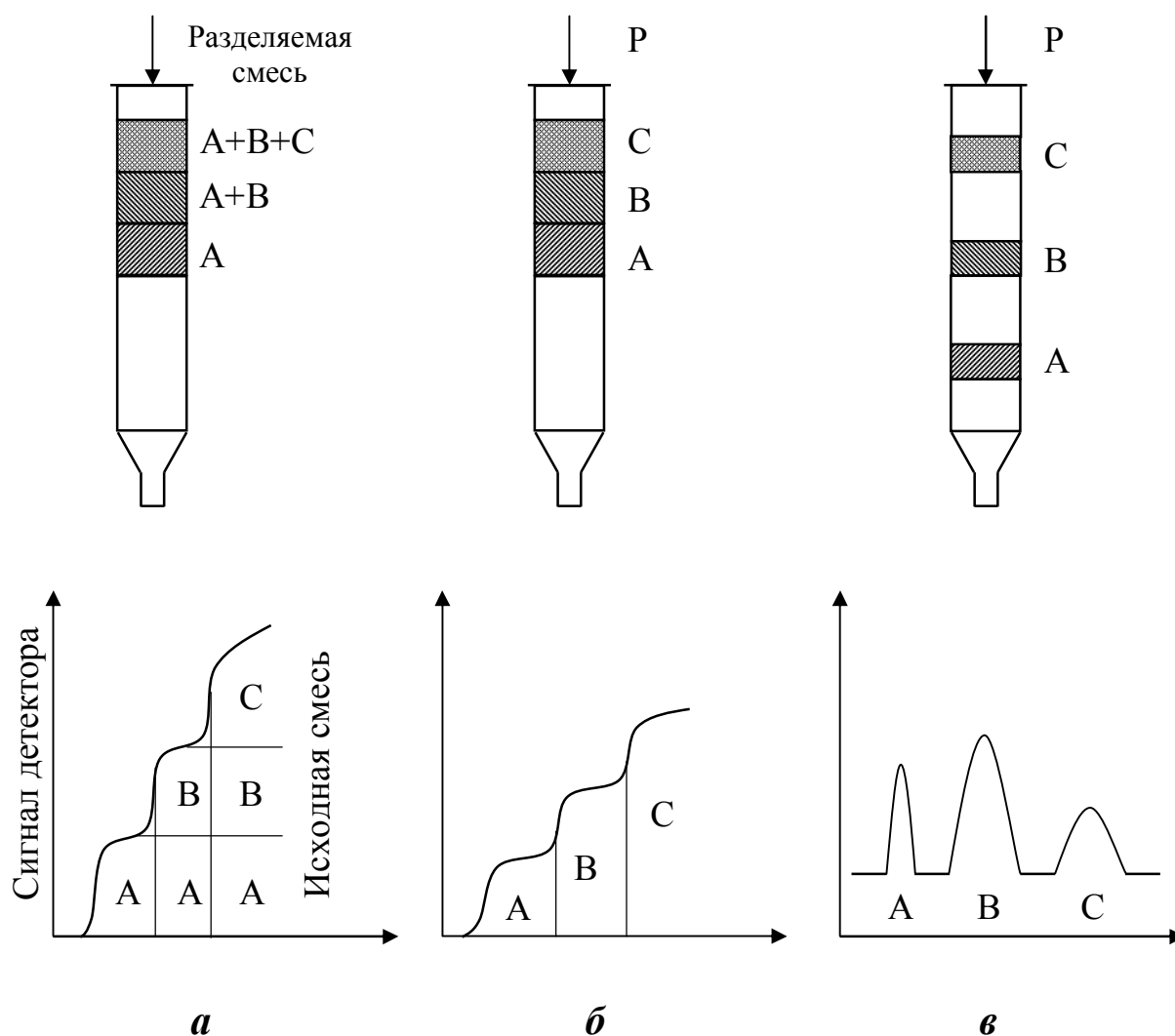


Рис. 1. Внутренние и внешние хроматограммы, полученные методом фронтальной (а), вытеснительной (б), элюентной (в) хроматографии (сорбируемость веществ увеличивается в ряду $A < B < C$).

Вытеснительная хроматография. Сначала в колонку вводят небольшое количество раствора разделяемых веществ. Затем через колонку непрерывно пропускают раствор вещества Р (вытеснитель), обладающего большей сорбируемостью, чем любое из разделяемых веществ (рис. 1, б). По мере продвижения по колонке элюент вытесняет вещество С, которое в свою очередь вытесняет вещество В, и т.д. В результате анализируемая смесь перемещается впереди фронта вытеснителя и скорость движения веществ равна скорости движения вытеснителя. Разделяемые вещества и на колонке, и в элюате располагаются последовательно друг за другом.

Каждый из компонентов выделяется в чистом виде, но добиться количественного выделения не удастся. Так как зоны компонентов не разделены промежутками чистого сорбента, то компоненты частично смешиваются и в действительности элюируются в следующей последовательности: А, А+В, В, В+С, С, С+Р, Р. То есть наряду с чистыми компонентами из колонки выходят и их смеси, которые надо еще раз хроматографировать. Вытеснительную хроматографию редко используют для аналитических целей и в основном применяют как препаративный метод.

Элюентная (проявительная) хроматография. В этом методе, введенная в хроматографическую колонку, разделяемая смесь компонентов элюируется растворителем Р, обладающим меньшей сорбируемостью (т. е. меньшим сродством к неподвижной фазе), чем любое из разделяемых веществ. Продвижение компонентов по колонке происходит очень медленно и требует большого количества элюента (растворителя). Компоненты элюируются в порядке изменения их сродства, а их движение определяется тройным взаимодействием в системе компонент – растворитель – неподвижная фаза. Поэтому зоны отдельных компонентов разделены при их движении в колонке зонами чистого растворителя. В результате компоненты выходят из колонки в виде полностью разделенных зон, которые называются *пиками* (рис. 1, в). Так как компоненты выходят из колонки отдельно и не загрязняют друг друга, элюентную хроматографию часто используют в аналитических целях, а также в препаративных, когда необходимо четкое разделение.

Существует несколько вариантов этого метода. Если элюирование проводят одним растворителем, то такой вариант называется *простым (изократическим) элюированием*. Его используют при разделении соединений с близким сродством к неподвижной фазе, когда промежутки между зонами компонентов не очень велики. В противном случае потребуется много растворителя для полного элюирования всех компонентов. Чтобы этого избежать используют *ступенчатое элюирование* – последовательное

вымывание компонентов из колонки разными растворителями с возрастающей элюирующей способностью каждого последующего. Разновидностью данного метода является также *градиентное элюирование*, когда растворители заменяются не дискретно, а постепенно. Два или более растворителей постепенно смешиваются в смесителе, из которого они непрерывно подаются в колонку. При этом состав элюента в процессе разделения компонентов изменяется по заданному закону. Элюирующая сила подвижной фазы возрастает, в результате чего сокращается время удерживания сильно сорбируемых веществ и улучшается разделение смеси.

Классификация по агрегатному состоянию фаз, между которыми происходит разделение

По агрегатному состоянию фаз хроматографию разделяют на *газовую* и *жидкостную*. Газовая хроматография включает *газожидкостную* и *газо-твердофазную*, жидкостная – *жидкостно-жидкостную*, *жидкостно-твердофазную* и *жидкостно-гелевую*. Первое слово в названии метода характеризует агрегатное состояние подвижной фазы, второе – неподвижной. В случае если неподвижной фазой является жидкость, то она закрепляется на соответствующем твердом носителе.

Другие типы классификации

По технике выполнения выделяют *колоночную* хроматографию, когда разделение проводится в специальных колонках, и *плоскостную* хроматографию, когда разделение проводится на специальной бумаге (*бумажная* хроматография) или в тонком слое сорбента (*тонкослойная* хроматография).

По цели хроматографирования выделяют *аналитическую* хроматографию (качественный и количественный анализ); *препаративную* хроматографию (для получения веществ в чистом виде, для концентрирования и выделения микропримесей); *промышленную* (производственную) хромато-

графию для автоматического управления процессом (при этом целевой продукт из колонки поступает в датчик). Хроматографию широко используют для исследования растворов, каталитических процессов, кинетики химических процессов и т. п.

1.2. Контрольные вопросы

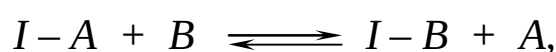
1. Общие характеристика хроматографических методов разделения. Применение хроматографии.
2. Виды классификации хроматографических методов анализа.
3. Классификация хроматографических методов по механизму разделения
4. Классификация хроматографических методов по способу разделения и по агрегатному состоянию фаз.

2. Ионообменная хроматография

Ионообменная хроматография основана на обратимом обмене ионов, содержащихся в растворе на ионы, входящие в состав ионообменника. Ионообменный материал в данном методе играет роль неподвижной фазы.

2.1. Неподвижные фазы. Ионообменники

Ионообменники (*иониты*) представляют собой нерастворимые соединения, способные к набуханию в водных растворах и к электролитической диссоциации. Ионы, освобождающиеся при диссоциации, могут замещаться на другие присутствующие в растворе ионы того же знака. Этот процесс называется ионным обменом и протекает по схеме:



где А и В – ионы с зарядами одного знака.

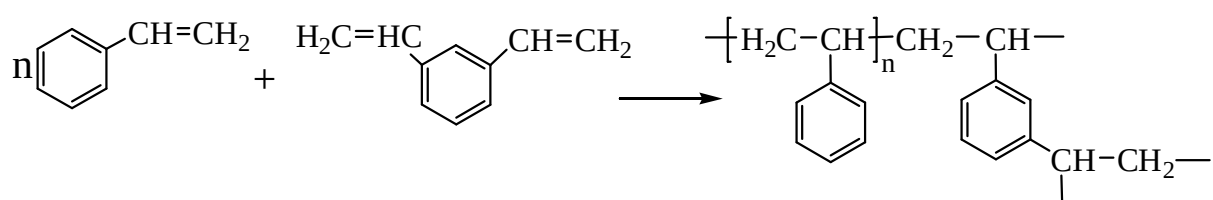
В отсутствие побочных реакций (гидролиз, полимеризация и т.п.) процесс ионного обмена строго стехиометричен. В этом основное отличие ионообменной хроматографии от адсорбционной и распределительной.

Вещества, применяемые в качестве ионообменных сорбентов, подразделяются на два основных класса: неорганические и органические сорбенты, которые могут быть естественного и искусственного происхождения.

Неорганические иониты. Природные минеральные иониты представляют собой чаще всего кристаллические силикаты, жесткая решетка которых несет избыточный заряд. Так структурная ячейка алюмосиликатов представляет собой тетраэдр $Me - O_4$, где Me – это атом Si или Al . Если это алюминий, то в решетке один отрицательный заряд остается ненасыщенным, в результате чего становится возможным связывание катионов. Тетраэдрические ячейки образуют трехмерные кристаллические структуры с порами одинакового размера, доступными для молекул воды и некоторых катионов. В качестве неорганических ионитов обычно используют *цеолиты*, например *анальцин* $Na[Si_2AlO_6] \cdot H_2O$, *шабазит* $CaNa_2[Si_2AlO_6] \cdot 6H_2O$, *гармотом* $K_2Ba[Al_2Si_5O_{14}] \cdot 5H_2O$, а также синтетические алюмосиликаты. В некоторых случаях можно использовать специально обработанные окись алюминия или магния, карбонат кальция и т.д. Неорганические иониты имеют серьезные недостатки. Малый размер пор (примерно 0,3–2 нм) ограничивает доступ в поры ионита даже сравнительно небольших катионов и резко ограничивает скорость диффузии. Практически все неорганические иониты разлагаются кислотами, щелочами и поэтому могут применяться только в нейтральных растворах. Поэтому на практике обычно используют органические иониты.

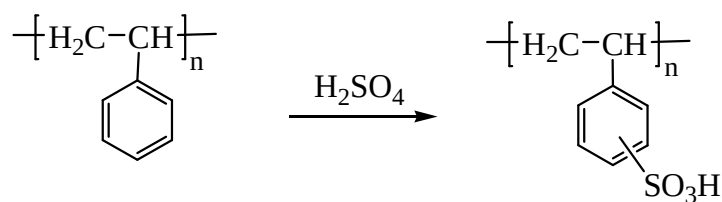
Органические иониты. Они могут быть природными – целлюлоза, крахмал, полидекстраны, но чаще это синтетические смолы, то есть органические полимеры. В сравнении с неорганическими ионитами они имеют большую механическую прочность, химическую стойкость, обладают высокой емкостью и производительностью. Синтетические органические иониты представляют собой высокомолекулярные соединения с поперечно-

связанной матрицей, в которой закреплены функциональные группы, содержащие высвобождающиеся и обмениваемые ионы (так называемые *ионогенные функциональные группы*). Сама матрица не участвует в ионном обмене, ее получают поликонденсацией или полимеризацией соответствующих мономеров. Образование ионита происходит в три стадии: 1) образование линейных макромолекул; 2) образование сетчатой пространственной структуры с помощью мостикообразователей; 3) введение функциональных групп, содержащих подвижные ионы. Первые ионообменные смолы получали поликонденсацией фенолов и ароматических аминов с формальдегидом. В настоящее время синтетические полимерные иониты получают в основном полимеризацией стирола и дивинилбензола. Дивинилбензол служит мостикообразователем, и первые две стадии протекают по схеме:

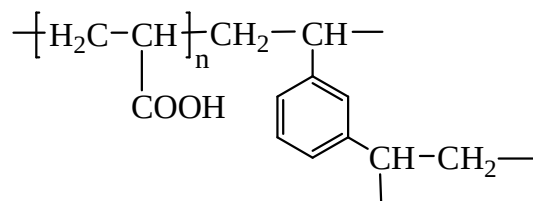


Степень сшивки смолы определяет размер пор структуру и прочность ионита, способность к набуханию и зависит от количества дивинилбензола. Степень сшивания выражается массовым содержанием дивинилбензола. Наиболее распространены иониты со степенью сшивки 6 – 10 %. Иониты со степенью сшивки менее 4 % являются непрочными и легко разрушаются при использовании. Применение ионитов со степенью сшивки выше 12 % затруднительно вследствие медленной массопередачи внутри узких пор таких материалов, поэтому такие смолы используют только в специальных методах.

Для введения функциональных групп сшитый сополимер обрабатывают соответствующими реагентами, например серной кислотой:



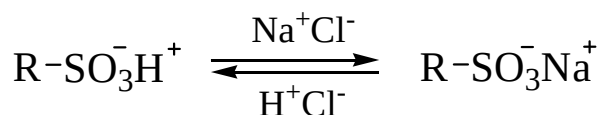
Другим типом синтетических ионитов являются акриловые иониты, получаемые сополимеризацией акриловых эфиров с дивинилбензолом. При щелочном гидролизе сополимера получается ионит с карбоксильными группами и следующим структурным звеном:



Чаще всего иониты получают в виде зерен неправильной формы диаметром $10 - 10^{-2}$ мм, в некоторых случаях в виде сферических частиц. Ионообменную фазу можно также получать в виде тонкой пленки и наносить на поверхность инертных сферических частиц, например частиц силикагеля. Этот прием используют для уменьшения сопротивления массопереносу и повышения механической прочности ионообменника в случае проведения хроматографии при повышенных давлениях. Кроме того, в настоящее время выпускаются иониты с зернами цилиндрической формы, в форме волокон, капиллярных трубок и мембран, которые используются для решения различных технологических задач.

Функциональные свойства ионообменника определяются природой ионогенных групп. В зависимости от вида обмениваемых ионов все ионообменники можно разделить на несколько классов.

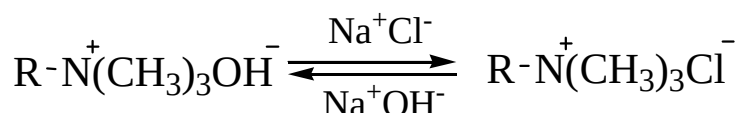
Если ионообменник высвобождает катионы, то его называют *катионообменником* или *катионитом*. Практически такие иониты представляют собой нерастворимые полимерные многоосновные кислоты. В зависимости от функциональных групп, участвующих в ионном обмене, катиониты подразделяют на сильнокислотные, содержащие группы — SO_3H , среднекислотные с группой фосфорной кислоты — PO_3H_2 слабокислотные с группами слабых карбоновых кислот — COOH . Катионообменные реакции записывают как обычные химические гетерогенные реакции. Например, для сульфокислотного катионита:



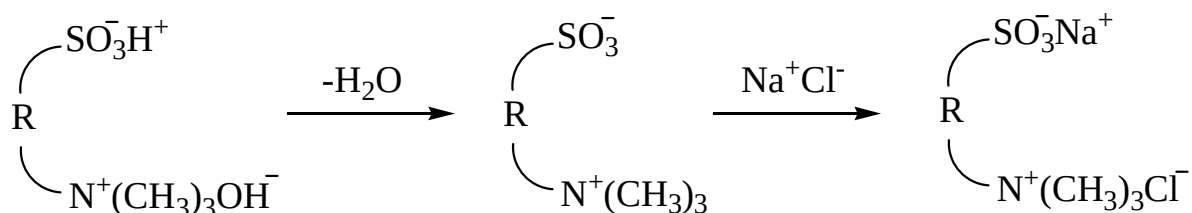
где R – органическая полимерная матрица.

Ионы водорода и натрия, связанные с ионогенными группами и способные к взаимному обмену, называются *противоионами*.

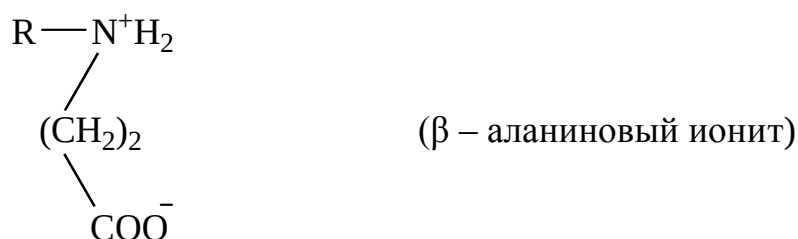
Анионообменники или *аниониты* обменивают анионы, то есть они представляют собой практически нерастворимые многоатомные основания. Сильноосновные аниониты содержат четвертичную аммониевую группу $\text{—N(CH}_3)_3^+$, средне- и слабоосновные содержат вторичные или третичные протонированные аминогруппы: $\text{—NH(CH}_3)_2^+$, $\text{—NH}_2(\text{CH}_3)^+$. В составе анионита эти группы существуют в виде оснований $\text{—N}^+(\text{CH}_3)_3\text{OH}^-$. Анионообменную реакцию можно записать следующим образом:



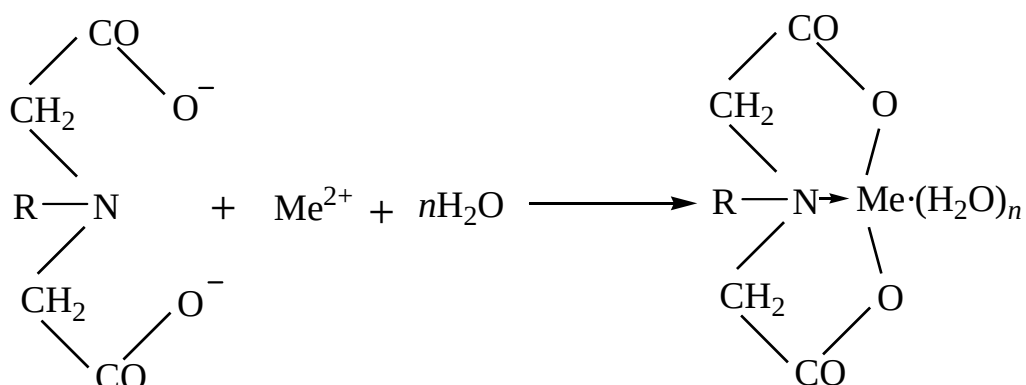
Существуют иониты, которые содержат в своей матрице одновременно катионные и анионные функциональные группы. Такие иониты называются *амфотерными* или *амфолитами*. Они способны связывать и катионы и анионы:



Разновидностью амфотерных ионитов являются *биполярные иониты*, в которых с матрицей связаны аминокислоты, образующие диполи в водных растворах:



Наконец, существуют *хелатообразующие иониты*, которые содержат функциональные группы, способные к образованию комплексных солей с ионами металлов:



Ионообменники, содержащие однотипные (например, $-\text{SO}_3\text{H}$) кислотные (основные) группы называют монофункциональными. Ионообменники, содержащие разнотипные (например, $-\text{SO}_3\text{H}$ и $-\text{OH}$) кислотные (основные) группы, — полифункциональными.

Важнейшей количественной характеристикой ионитов является их *обменная емкость*. Она выражается числом миллиграмм-эквивалентов поглощенных ионов приходящихся на 1 г сухого ионита (весовая обменная емкость) или на 1см^3 набухшего ионита (объемная обменная емкость). В зависимости от условий определения различают следующие виды обменной емкости:

- 1) *Полная обменная емкость* (ПОЕ) — число ионогенных групп ионита, выраженное в мг-экв на 1 г сухого ионита (или 1см^3 набухшего);
- 2) *Статическая обменная емкость* (СОЕ) — количество мг-экв иона, поглощенного одним граммом ионита в статических условиях;
- 3) *Динамическая обменная емкость* (ДОЕ) — количество мг-экв иона, поглощенного одним граммом ионита до «проскока» в раствор на выходе из колонки;
- 4) *Полная динамическая обменная емкость* (ПДОЕ) — число мг-экв иона, поглощенное одним граммом ионита до полного прекращения ионного обмена из раствора.

Величина того или иного вида обменной емкости зависит от условий эксперимента (рН раствора, зернения ионита, скорости пропускания раствора через колонку и др.) поэтому для сравнения обменной способности различных ионитов необходимо строго соблюдать постоянство испытаний.

Ионообменники нерастворимы в воде, но если сухой ионообменник поместить в воду, он будет ее поглощать, происходит его набухание. Причиной набухания является наличие в структуре ионообменников гидрофильных ионообменных групп. Чем их больше, тем выше емкость ионита и тем более он склонен к набуханию. Набухание зависит не только от числа ионогенных групп, но и от их природы, степени ионизации, заряда противоиона, от концентрации внешнего раствора (чем она меньше, тем больше набухание). При набухании частиц ионита валентные связи между атомами углерода в полимерных цепях и поперечные связи растягиваются. За счет их упругости возникает давление, противодействующее поглощению воды, поэтому набухаемость ионита зависит и от степени сшивки смолы. Очевидно, что с увеличением числа поперечных связей и уменьшением размера иона набухаемость ионита уменьшается и наоборот. *Набухаемость* выражается количеством воды в граммах, поглощенной 1 г сухой смолы. В аналитической практике набухание может играть и отрицательную роль – нарушается упаковка колонки (слой «дышит»). Поэтому в высокоэффективной ионообменной хроматографии применяют ионообменники малой емкости со сравнительно прочной структурой матрицы (практически ненабухающие).

2.2. Подвижные фазы

Хроматографические разделения с использованием ионообменников чаще всего проводят в водных растворах, так как вода обладает прекрасными растворяющими и ионизирующими свойствами. Под действием воды молекулы вещества мгновенно диссоциируют на ионы, ионогенные группы ионо-

обменников гидратируются и также переходят в полностью или частично диссоциированную форму. Это обеспечивает быстрый обмен противоионов. На элюирующую силу подвижной фазы основное влияние оказывают рН, ионная сила, природа буферного раствора и др. Изменяя эти параметры, можно изменять селективность системы. Так слабые кислоты и основания находятся в ионизированном состоянии при определенных значениях рН среды. Поэтому от концентрации ионов водорода в элюенте зависит, будут участвовать эти соединения в ионном обмене или пройдут через колонку в виде недиссоциированных молекул. Значение рН элюента оказывает влияние и на обменную емкость слабых ионитов, увеличивая либо уменьшая число ионных центров, способных к обмену. Влияние ионной силы элюента на емкость ионита объясняется тем, что присутствие посторонних ионов сдвигает равновесие ионного обмена с участием определяемого иона, в результате чего удерживание этого иона ионообменником уменьшается.

2.3. Выбор и подготовка ионитов, их регенерирование и хранение

Для выбора ионита можно воспользоваться таблицами, в которых приведены характеристики ионитов различного типа. В них указывается торговая марка, тип полимерной матрицы, вид функциональных групп, степень сшивки, форма и размер частиц, обменная емкость и устойчивость в различных средах. При выборе ионита можно пользоваться следующими общими рекомендациями. Для разделения неорганических соединений пригодны как ионообменные смолы, так и неорганические иониты. Для хроматографирования органических соединений используют ионообменные смолы, а для биополимеров пригоднее ионообменники на основе целлюлозы.

Большую роль играет размер частиц ионита. Чем они меньше и однороднее, тем быстрее устанавливается равновесие между подвижной и неподвижной фазами. Однако при этом растет гидродинамическое сопротив-

ление колонки. То есть, необходим оптимальный вариант. Важным фактором является степень сшивки. Она должна быть достаточно большой, но обеспечивать проникновение молекул анализируемого соединения в ионит. Если поры слишком велики, то ухудшается эффективность разделения.

Ионит можно использовать только после предварительной подготовки, поскольку он содержит различные примеси. Кроме того, товарные иониты могут быть в разных формах. Катиониты выпускаются либо в H^+ -форме, либо в солевой (противоионы Na^+ , K^+). Аниониты либо в OH^- -форме (ионообменником является гидроксид-ион), либо Cl^- -форме (солевая форма). Предварительная обработка ионита предусматривает перевод его из одной формы в другую. В процессе такой обработки меняется структура ионита. Функциональные группы становятся более доступными, одновременно ионит освобождается от неорганических примесей. Чтобы перевести катионит из Na^+ -формы в H^+ -форму перед первым использованием его промывают последовательно 1–2 М раствором $NaOH$, дистиллированной водой до полного удаления щелочи, 1–2 М раствором соляной кислоты и дистиллированной водой до нейтральной реакции. (В дальнейшем при повторном использовании обычно достаточно промывать только кислотой и затем водой до нейтральной реакции.) Анионит промывают несколько раз 1–2 М раствором соляной кислоты, далее водой до полного удаления кислоты, затем 1–2 М раствором $NaOH$ и, наконец, дистиллированной водой до полного удаления щелочи. При этом анионит переходит из Cl^- -формы в OH^- -форму. Чтобы избежать адсорбции CO_2 из воздуха, на последних 2-х стадиях ионит надо закрыть от доступа воздуха. Иониты не следует держать в колонках длительное время и если колонка не используется, то ионит надо извлечь из нее и регенерировать для удаления следов анализируемых соединений. Для этого его тщательно промывают 2 М раствором хлорида натрия, переводя, таким образом, в Na^+ - или Cl^- -форму. Высушивают ионит под вакуумом или в тонком слое на воздухе.

2.4. Оборудование и техника работы в ионообменной хроматографии

Ионообменная хроматография является разновидностью жидкостной хроматографии и в аппаратном оформлении, а также методике проведения работ мало отличается от других видов жидкостной колоночной хроматографии.

Для ионообменной хроматографии пригодны разнообразные колонки: от самых простых, изготовленных из стеклянных бюреток, до прецизионных с тепловыми рубашками. *Размер колонки* выбирают из следующих практических правил: для большинства хроматографических разделений используют колонки с отношением диаметра колонки к ее длине от 1:20 до 1:50, для специальных разделений до 1:200 и более. *Емкость колонки* определяют, умножая полный объем слоя ионита в колонке в миллилитрах на величину емкости данного ионита, взятую из справочных таблиц. Полученная емкость используется полностью только в чисто ионообменных процессах. В хроматографических целях используется лишь часть этой емкости в зависимости от типа хроматографии. В вытеснительной хроматографии – не более $\frac{1}{2}$ полной емкости, в проявительной хроматографии – 5 – 10 %, а высокоэффективной аналитической – около 1 % полной емкости.

Важными факторами, влияющими на результаты хроматографирования, являются правильное заполнение колонки, ввод пробы и выбор оптимальной скорости элюирования. Подробно ознакомиться с особенностями практического выполнения различных видов хроматографии можно в специальных практикумах или в справочной литературе.

2.5. Ионообменное разделение ванадия и титана

Разделение ванадия и титана основано на образовании этими металлами комплексных ионов противоположного заряда. Титан при взаимодей-

ствии с перекисью водорода в кислой среде образует комплексный катион состава $[TiO(H_2O_2)]^{2+}$, окрашенный в желтый цвет. Ванадий же в этих условиях образует комплексный анион $[VO_2 \cdot O_3^{2-}]^{3-}$ оранжевого цвета. Титановый положительно заряженный комплекс участвует в обмене с катионитом, ванадиевый же отрицательно заряженный комплекс проходит через катионит не задерживаясь.

2.5.1. Порядок выполнения работы

Подготовка катионита к работе состоит в переводе его в H^+ -форму. С этой целью через колонку с катионитом дважды пропускают по 20 мл 3М раствора хлористоводородной кислоты и 40 мл дистиллированной воды, после чего катионит отмывают от кислоты дистиллированной водой до нейтральной реакции. Необходимо следить, чтобы уровень раствора в колонке постоянно был выше уровня катионита на 3–4 см. Скорость пропускания растворов 5 мл/мин (2–3 капли в секунду). Перед разделением катионов приготавливают 100 мл *«промывного раствора»*, для чего цилиндром в химический стакан сливают 10 мл 5%-ного раствора H_2O_2 , 10 мл 3 н раствора HCl и 80 мл дистиллированной воды.

Разделение ванадия и титана проводят следующим образом. К полученному кислому раствору задачи приливают 5 мл 5%-ного раствора H_2O_2 и весь объем пропускают через колонку с катионитом, собирая раствор ванадиевого комплекса в мерную колбу на 100 мл. Стаканчик из-под «задачи» споласкивают 2–3 раза 5–7 мл промывного раствора, каждый раз выливая в колонку. Оставшимся промывным раствором промывают колонку, собирая все в мерную колбу до тех пор, пока объем раствора в колбе не будет доведен до метки. Содержимое колбы тщательно перемешивают и в дальнейшем используют для определения ванадия. Колонку окончательно промывают еще 50 мл воды, отбрасывая промывные воды. Затем проводят элюирование титана из катионита. Для этого через колонку пропускают 5%-

ный раствор HCl (около 100 мл). Элюат, содержащий титан, собирают в мерную колбу на 100 мл, доводя ее содержимое до метки. После тщательного перемешивания раствор используют для определения титана.

Построение калибровочного графика проводится отдельно для титана и ванадия. В первом случае в 6 мерных колб емкостью 25 мл из бюретки вводят 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3 мл стандартного раствора соли Ti. Затем в каждую колбу добавляют 2,5 мл 5%-ного раствора HCl, 7,5 мл 6 н раствора H₂SO₄ и 1 мл 5%-ного раствора H₂O₂. Объем доводят дистиллированной водой до метки, тщательно перемешивают и определяют оптическую плотность каждого раствора методом фотоколориметрии, используя синий светофильтр и кювету с толщиной слоя 1 см.

Аналогично приготавливаются калибровочные растворы соли ванадия добавлением в каждую колбу с 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3 мл стандартного раствора ванадия по 2,5 мл 5%-ного раствора HCl, 7,5 мл 6 н раствора H₂SO₄ и 1 мл 5%-ного раствора H₂O₂ и воды до метки. После измерения оптической плотности строят калибровочный график в координатах оптическая плотность – концентрация (рис. 2.), основываясь на выполнении в данном случае закона Бугера-Ламберта-Бера:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l,$$

где A – оптическая плотность;
 ε – молярный коэффициент поглощения;
 c – концентрация компонента в растворе, мг/мл;
 l – толщина слоя фотометрируемого раствора, см.

Измерение оптической плотности растворов V и Ti проводят на фотоэлектроколориметре. Для этого из мерной колбы (100 мл), содержащей ионы ванадия после разделения, отбирают, предварительно ополоснутой этим же раствором пипеткой 10 мл раствора (аликвота), переносят его в мерную колбу на 25 мл. Туда же приливают 7,5 мл 6 н серной кислоты, 1 мл пероксида водорода (5%-ный раствор), доводят объем водой до метки и

тщательно перемешивают. Оптическую плотность раствора измеряют при тех же условиях, при которых строился калибровочный график. Используя калибровочный график и учитывая соотношение объема мерной колбы (100 мл) и аликвоты (10 мл), определяют количество ванадия в задаче.

Аналогично приготавливают аликвоту для определения оптической плотности раствора, содержащего ионы титана и вычисляют содержание титана в пробе. Сверив полученные результаты с истинными значениями, рассчитывают абсолютные и относительные ошибки определения для каждого элемента.

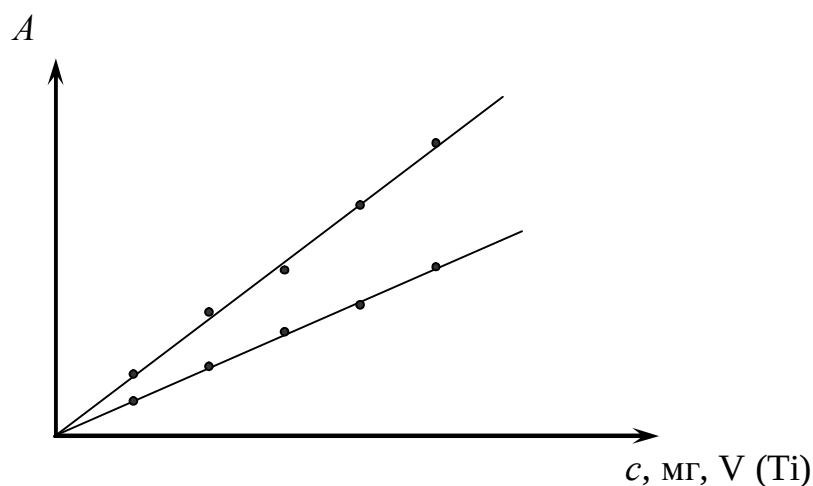


Рис. 2. Калибровочные графики для определения содержания ванадия и титана

2.5.2. Необходимое оборудование и реактивы

- 1) Колонка, заполненная катионитом КУ–2.
- 2) Фотоколориметр.
- 3) Мерные колбы емкостью 100 мл – 2 шт.
- 4) Мерные колбы емкостью 25 мл – 14 шт.
- 5) Химический стакан емкостью 150 мл – 1 шт.
- 6) Бюретки на 25–50 мл – 2 шт.
- 7) Пипетки на 10 мл – 2 шт.

- 8) Цилиндры мерные на 5, 10, 25 мл.
- 9) Универсальный индикатор.
- 10) Хлористоводородная кислота, 3 н раствор.
- 11) Хлористоводородная кислота, 5%-ный раствор.
- 12) Серная кислота, 6 н раствор.
- 13) Пероксид водорода, 5%-ный раствор.

2.6. Ионообменное разделение железа (III) и меди (II)

Разделение ионов железа (3+) и меди (2+) основано на образовании ими комплексных ионов с противоположными зарядами. Достигается это действием лимонной кислоты, связывающей железо (3+) в цитратный анионный комплекс $[\text{Fe}[(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{OH})(\text{COO})_3]_2]^{3-}$, окрашенный в лимонно-желтый цвет и карбоната аммония, связывающего медь в катионный комплекс $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ синего цвета. При пропускании смеси образующихся комплексов через катионит будет происходить их разделение: на катионите адсорбируется комплекс меди, а цитратный комплекс выходит из колонки не задерживаясь. Количественно собрав цитратный комплекс железа, его в дальнейшем используют для количественного определения железа (III). Ионы меди количественно элюируют из катионита раствором хлористоводородной кислоты, а затем определяют йодометрическим титрованием.

2.6.1. Порядок выполнения работы

Подготовка катионита к работе. Для перевода катионита в H^+ -форму через колонку с катионитом пропускают (2-3 раза) последовательно по 20 мл хлористоводородной кислоты (1:4) и 40 мл горячей воды (до отрицательной реакции на железо (III) с роданит-ионом). Затем катионит отмывают горячей дистиллированной водой от избытка соляной кислоты до нейтральной реакции.

Построение калибровочного графика на железо (III). Фотоколориметрическое определение железа (III) основано на образовании им в щелочной среде (рН 8 – 11) устойчивого трисульфосалицилатного комплекса $[\text{Fe}[\text{C}_6\text{H}_3\text{O}(\text{COO})(\text{SO}_3)]_3]^{6-}$, окрашенного в желтый цвет.

Для построения калибровочного графика в 6 мерных колб емкостью 100 мл, из бюретки вводят 2, 4, 6, 8, 10, 12 мл стандартного раствора соли железа (III). Затем в каждую колбу добавляют 5 мл 10%-ного раствора сульфосалициловой кислоты, 5 мл 2%-ного раствора карбоната аммония. Содержимое колб доводят до метки водой, хорошо перемешивают и определяют оптическую плотность каждого раствора фотоколориметрическим методом, используя синий светофильтр и кюветы с толщиной слоя 1 см. По полученным данным строится график зависимости оптической плотности от концентрации.

Проведение ионного обмена. К раствору контрольной задачи, содержащей ионы железа (III) и меди (II) приливают 5 мл 20%-ного раствора лимонной кислоты и 10 мл 2%-ного раствора карбоната аммония. Полученную смесь пропускают через подготовленную колонку с катионитом в H^+ -форме. Как уже отмечалось, на катионите будет адсорбироваться катионный комплекс меди, а цитратный комплекс железа выходит не задерживаясь. Его собирают в мерную колбу на 200 мл. Колонку промывают, (добавляя порциями по 2-3 мл), 2%-ным раствором карбоната аммония (общий расход его составляет 30-40 мл), затем водой (50-60 мл), собирая все растворы в ту же мерную колбу. Доведя объем раствора водой до метки, содержимое колбы тщательно перемешивают и в дальнейшем используют для количественного определения железа (III).

Медь (II) извлекают из катионита раствором HCl (1:4), собирая элюат в мерную колбу на 100 мл. Когда элюат станет бесцветным, колонку начинают промывать небольшими порциями воды, доводя общий объем до метки. Содержимое тщательно перемешивают и используют для количественного определения меди.

Количественное определение железа (III). Определение железа основано на разрушении цитратного комплекса, полученного в результате разделения и переводе железа (III) в более устойчивое трисульфосалицилатное комплексное соединение. Для этого из мерной колбы на 200 мл, содержащей лимоннокислое железо, пипеткой предварительно сполоснутой этим раствором отбирают 5 мл и переносят в мерную колбу на 100 мл. В эту же колбу добавляют 5 мл 10%-ного раствора сульфосалициловой кислоты и 5 мл 2%-ного раствора карбоната аммония. Содержимое колбы доводится до метки водой и хорошо перемешивается. Затем на фотоколориметре, используя синий светофильтр и кюветы с толщиной слоя 1 см, измеряется оптическая плотность этого раствора. По калибровочному графику, учитывая разбавление (объем аликвоты 5 мл; объем раствора содержащего железо (III) – 200 мл), определяют количество железа (III) в задаче.

Количественное определение меди (II). Из мерной колбы, содержащей ионы меди, после тщательного перемешивания отбирают пипеткой 10 мл раствора и вносят в колбу для титрования. Туда же добавляют 3 – 5 мл H_2SO_4 (1:4), а затем вводят 10 мл смеси Брунса. Выделившийся иод титруют раствором тиосульфата натрия. Когда окраска раствора перейдет в светло-желтую, приливают 1 – 2 мл крахмала и продолжают титрование до прекращения изменения окраски раствора от прибавления одной капли тиосульфата (конечная окраска реакционной смеси с взмученным осадком – розовая.).

Титрование проводят 2 – 3 раза. Содержание меди рассчитывают по формуле:

$$g_{Cu} = \frac{V_{Na_2S_2O_3} \cdot N_{Na_2S_2O_3} \cdot \mathcal{E}_{Cu} \cdot V_{колбы}}{1000 \cdot V_{аликв.}}$$

Сверив полученные результаты с истинными значениями, рассчитывают абсолютные и относительные ошибки определения для каждого вещества.

2.6.2. Необходимое оборудование и реактивы

- 1) Хроматографическая колонка, заполненная катионитом КУ–1.
- 2) Фотоколориметр.
- 3) Мерные колбы емкостью 100 мл – 7 шт.
- 4) Мерная колба емкостью 200 мл – 1 шт.
- 5) Бюретки вместимостью 25-50 мл – 3шт.
- 6) Пипетки на 5 мл – 1 шт.
- 7) Пипетка на 10 мл – 2 шт.
- 8) Цилиндры мерные на 5, 10 мл.
- 9) Стандартный раствор железа (III), 0,05 мг/мл.
- 10) Сульфосалициловая кислота, 10%-ный раствор.
- 11) Карбонат аммония, 2%-ный раствор.
- 12) Лимонная кислота, 20%-ный раствор.
- 13) Хлористоводородная кислота 1:4.
- 14) Роданид аммония, кристаллический.
- 15) Серная кислота 1:4.
- 16) Смесь Брунса (15 г/л KI + 150 г/л $KCNS$).
- 17) Тиосульфат натрия, 0,1 н раствор.
- 18) Крахмал, 0,5%-ный раствор.

2.7. Контрольные вопросы

1. Ионообменная хроматография. Виды ионообменников и методы их получения.
2. Классификация ионообменников по типу обмениваемых ионов. Ионообменные реакции, характерные для ионитов различных классов.
3. Набухаемость и емкость ионитов.
4. Подвижные фазы, используемые в ионообменной хроматографии. Факторы, влияющие на элюирующую способность подвижной фазы.

5. Выбор и подготовка ионитов к работе. Регенерация и хранение ионитов.
6. Подбор и емкость ионообменных колонок.

3. Плоскостная хроматография

К плоскостным видам хроматографии относят бумажную и тонкослойную. Эти два вида жидкостной хроматографии просты по технике выполнения, экспрессны, не требуют дорогостоящего оборудования. Разделение этими методами может быть выполнено с использованием различных хроматографических систем, поэтому выделяют адсорбционную, распределительную, обращено-фазовую и ионообменную бумажную и тонкослойную хроматографии.

3.1. Бумажная хроматография

Отличительной особенностью бумажной хроматографии является то, что в качестве носителя используется специальная хроматографическая бумага.

Хроматографическая бумага обладает способностью поглощать воду и задерживать ее между волокнами целлюлозы. Эту воду можно рассматривать как неподвижную фазу. Хроматографическая бумага после поглощения ею воды превращается в комплекс целлюлоза – вода. Этот комплекс напоминает концентрированные растворы полисахаридов. Такие растворы не смешиваются с большинством органических растворителей, в том числе и с теми, которые смешиваются с водой. Поэтому смешивающийся с водой растворитель (например, ацетон или бутанол) не будет смешиваться с комплексом целлюлоза – вода и образует двухфазную систему. Материалом для изготовления нормальной хроматографической бумаги служит, возможно более чистая целлюлоза. Обычно для этой цели используют коротковолокнистую целлюлозу. Специально для хроматографии выпускают несколько

сортов отечественной бумаги (№ 1, 2, 3, 4), отличающихся друг от друга по плотности. Плотность бумаги определяет скорость продвижения по ней растворителя. Бумага № 1 и 2 – менее плотная и называется «быстрой», а № 3 и 4 – более плотная, «медленная».

Когда по бумаге под действием капиллярных сил движется неводный растворитель (подвижная фаза), молекулы вещества, нанесенного на бумагу, распределяются между двумя фазами в соответствии с их коэффициентом распределения. Чем выше растворимость вещества в подвижной фазе, тем дальше оно продвинется по бумаге вместе с растворителем, и наоборот.

Для некоторых специальных целей используют модифицированные бумаги, например, ацетилированные, или применяют пропитку жидкими ионообменниками, адсорбентами и пр.

3.2. Тонкослойная хроматография

Тонкослойная хроматография занимает значительное место в анализе органических и биоорганических соединений. В зависимости от природы сорбента допускается использование одного или сразу нескольких механизмов хроматографического разделения. Этот метод позволяет быстро осуществить довольно эффективное разделение и в то же время имеет широкую область применения – от качественного до препаративного разделения.

В тонкослойной хроматографии неподвижной фазой служит слой (0,25 – 0,5 мм) сорбента, равномерно нанесенного на поверхность стеклянной или пластмассовой пластинки. Существуют различные способы приготовления пластинок для ТСХ: с незакреплённым и закреплённым слоем сорбента. По первому из них на предварительно вымытую и обезжиренную пластинку равномерно насыпают слой сорбента, а затем выравнивают его валиком или стеклянной палочкой, на концы которой надеты кольца из резиновой трубки. По второму способу сорбент в смеси со связующим веществом (5 % от массы адсорбента) и водой наносят на стеклянную пла-

стину. Равномерно распределяют суспензию по всей пластине, а затем высушивают при 110 – 120 °С.

В качестве сорбентов используют силикагель, оксиды алюминия, магния и кальция, карбонат магния, а также целлюлозу, полиамиды и др. Размер гранул 5 – 50 мкм. В качестве связующих веществ могут служить сульфат кальция (гипс) и очищенный крахмал.

Оксид алюминия – это сорбент с выраженными адсорбционными свойствами. В основном он выпускается в щелочной форме с pH = 8 – 10. Некоторые марки оксида алюминия выпускают с добавкой 9 – 10 % гипса, в некоторых случаях вводят флуоресцентный индикатор.

На окиси алюминия имеется несколько типов активных адсорбционных центров, что позволяет использовать окись алюминия для разделения широкого спектра веществ, как в полярных, так и в неполярных растворителях.

Активность окиси алюминия существенно зависит от содержания в ней адсорбированной воды. Наибольшая активность без нарушения структуры поверхности достигается полным удалением адсорбированной воды при 300 – 400 °С.

При работе с окисью алюминия следует помнить о её каталитических свойствах. Так, например, в процессе хроматографирования могут происходить гидролиз ангидридов, хлорангидридов, сложных эфиров; реакции конденсации альдегидов, кетонов; отщепление галогеноводородов и другие химические превращения неустойчивых соединений.

Силикагель ($\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$)_n благодаря своей высокой пористости обладает значительно большей сорбционной ёмкостью, чем окись алюминия. На силикагеле не происходят химические превращения, отмеченные выше.

Силикагель химически инертен к большинству активных органических соединений, однако благодаря кислым свойствам своей поверхности (pH 3 – 5) достаточно прочно сорбирует основания с $pK_a > 9$. Поэтому на силикагеле такие основания, как правило, не хроматографируют. Кроме

того, силикагель в силу своей гидрофильности не пригоден для сорбции из водных растворов.

Активность силикагеля, так же как и окиси алюминия, уменьшается при увлажнении. Активирование слоя силикагеля следует проводить при температуре не выше 120 °С. В более жёстких условиях происходят необратимые структурные изменения поверхности, приводящие к хроматографической инертности сорбента.

В некоторые марки силикагеля вводится флуоресцентный индикатор (сульфид кадмия или силикат цинка), который вызывает флуоресценцию при облучении УФ-светом. Некоторые хроматографируемые соединения при этом обнаруживаются в виде тёмных пятен. Чаще всего силикагель для ТСХ выпускается с добавкой ($\approx 5\%$) гипса или крахмала в качестве связующего.

Наиболее распространёнными органическими сорбентами являются полиамиды и целлюлоза.

Полиамидные сорбенты изготавливают на основе найлона-6 (поликапромида) и найлона-66 (полигексаметиленадипамида). Хроматографические свойства различных марок полиамидных сорбентов сильно отличаются и зависят от исходного сырья и степени полимеризации. В некоторые марки добавляются связующие (крахмал) и флуоресцентные индикаторы. Слои полиамидных сорбентов отличаются значительной ёмкостью и их можно регенерировать несколько раз.

Целлюлоза наиболее часто применяется при распределительной ТСХ. При этом используют два вида целлюлозы – природную волокнистую с длиной волокон от 2 до 25 мкм и микрокристаллическую с размерами частиц от 20 до 40 мкм. Благодаря применению в ТСХ очень коротких волокон целлюлозы в форме порошка не происходит такого быстрого растекания хроматографируемых веществ вдоль волокон, которое имеет место при использовании хроматографической (длинноволокнистой) бумаги. Поэтому при одинаковых концентрациях разделяемых веществ тонкослойная

хроматография даёт более чёткие пятна и позволяет получить лучшее разделение, чем бумажная. Из-за присутствия гидроксильных групп, адгезионные свойства целлюлозы намного выше, чем у неорганических сорбентов, поэтому связующие при формировании слоёв целлюлозы не добавляют.

3.3. Элюенты для плоскостной хроматографии

Выбор элюента (растворителя) является не простой задачей. При выборе растворителя необходимо учитывать природу сорбента, механизм разделения и свойства веществ в разделяемой смеси. Растворители должны хорошо растворять все компоненты хроматографируемой смеси, но не сорбироваться на выбранном сорбенте и не вступать в химическое взаимодействие ни с сорбентом, ни с анализируемыми веществами. Помимо этого, одним из важнейших требований предъявляемых к растворителям является чистота и постоянство их характеристик.

Растворители обычно классифицируют по элюотропным рядам, в которых растворители располагают в порядке возрастания их элюирующей способности. Например, для полярных сорбентов элюенты можно расположить в следующий ряд: фторзамещённые алканы < *n*-пентан < *n*-октан < циклогексан < четырёххлористый углерод < бензол < хлороформ < хлористый метилен < диэтиловый эфир < тетрагидрофуран < ацетон < диоксан < этилацетат < нитрометан < пропанол < этанол < метанол < уксусная кислота < вода. Для неполярных сорбентов (активированный уголь, графитовая сажа), которые адсорбируют преимущественно неполярные молекулы, элюотропный ряд имеет обратный порядок: вода < метанол < этанол < ацетон < диэтиловый эфир < этилацетат < *n*-гексан < бензол.

Практически при подборе растворителя пользуются двумя подходами:

1) поиск по литературным источникам таких систем, в которых данное вещество уже хроматографировалось, или подбор по справочным значениям R_f ;

2) если данное вещество вообще не хроматографировалось, то находят такие системы, в которых хроматографировались подобные вещества и затем опытным путём подбирают условия хроматографирования.

Элюенты выбирают таким образом, чтобы значение R_f исследуемых веществ находилось в пределах 0,2 – 0,85. При этом учитывается не только свойства элюента и свойства сорбента, но также и природу исследуемых соединений. Так, например, если вещество обладает слабым сродством к сорбенту (алканы, галогенпроизводные, простые эфиры), то используют слой с возможно большей активностью и применяют растворители с минимальной элюирующей способностью. При хроматографировании аминов, спиртов, фенолов, карбоновых кислот применяют слабоактивные сорбенты и высокоактивные элюенты. Полярность растворяющей системы можно подогнать, добавляя какой-либо другой сильнополярный или неполярный растворитель. Обычно добавляют небольшие количества сильнополярных растворителей к неполярным.

3.4. Оборудование и техника работы в плоскостной хроматографии

Аппаратура для плоскостной хроматографии включает в основном хроматографические камеры, пипетки для нанесения проб, сушильные камеры, пульверизаторы, лампы для облучения, приспособления для измерения R_f , денситометры для количественных определений и т.д.

Хроматографические камеры различаются по форме и размерам, в зависимости от характера процесса хроматографирования (восходящее, нисходящее, круговое, двухмерное). При восходящей или нисходящей хроматографии в большинстве случаев можно использовать любой цилин-

дрический сосуд подходящего диаметра (например, высокий, плотно закрывающийся химический стакан). При горизонтальном хроматографировании применяют узкие длинные камеры со специальной рамкой для опоры бумажных полосок или пластинок. Для круговой хроматографии используют специальные камеры, основой которых может служить эксикатор. Элюирующий растворитель в этом случае по каплям добавляется из воронки в центр круглого бумажного фильтра или пластинки.

Для сушки хроматограммы проще всего подвесить в вытяжном шкафу. Если растворитель недостаточно летуч, то можно использовать сушильный шкаф, нагретый до необходимой температуры и лучше с циркулированием теплого воздуха. Используют также инфракрасные или обычные лампы накаливания.

Пипетки для нанесения проб. Используют различные микропипетки ёмкостью от 1 до 50 мкл. Наиболее простыми являются самозаполняющиеся капиллярные пипетки. Объём пробы обычно 5 – 10 мкл. Пипетки такого объёма можно изготовить, вытягивая на горелке стеклянные трубки в капилляры диаметром 1 мм с суженным кончиком, который затем отрезают.

Аппаратура для обнаружения (проявления) пятен. Для опрыскивания элюированных хроматограмм применяют различные пульверизаторы. Иногда хроматограмму погружают в раствор реагента, который налит в специальные неглубокие чашки. При этом достигается более равномерное смачивание хроматограммы и, следовательно, более равномерное окрашивание пятен.

Для обнаружения пятен в ультрафиолетовом свете применяют ртутные лампы с фильтрами, пропускающими излучение с длиной волны 365 нм или 254 нм.

Приготовление и нанесение пробы. При подготовке пробы необходимо учитывать концентрацию анализируемого вещества. Если концентрация вещества в пробе будет слишком низкой, то она может оказаться ниже предела обнаружения. Если же концентрация будет слишком боль-

шой, то это может исказить характер перемещения фронта растворителя и изменить величину R_f . Для нанесения пробы в нижней части хроматограммы отмечают стартовую линию (в случае бумажной хроматографии или тонкослойной хроматографии с закреплённым слоем сорбента стартовую линию можно провести простым карандашом). На эту линию микропипеткой или капилляром наносят небольшое количество исследуемого вещества. Если раствор исследуемого вещества сильно разбавлен, то пробу наносят несколькими маленькими порциями, просушивая хроматограмму после каждого нанесения. При нанесении пробы необходимо следить, чтобы пятна от нанесённых образцов не были не слишком большими, ни слишком маленькими. Если пятна слишком велики, поверхностная концентрация ($\text{мкг} / \text{см}^2$) некоторых компонентов может быть ниже предела обнаружения, и в результате такие компоненты не удастся обнаружить. Если диаметр пятна слишком мал, концентрация компонента может оказаться слишком высокой, так что количество растворителя, приходящееся на площадь пятна, будет недостаточным для полного растворения пробы, и это может вызвать удлинение пятна и появление так называемых «хвостов».

Элюирование хроматограммы. После нанесения пробы и высушивания нанесённого пятна хроматограмму помещают в хроматографическую камеру и начинают элюирование. В случае бумажной хроматографии неподвижной фазой служит вода, поэтому при использовании гидрофильных элюентов (например, смеси изопропиловый спирт – вода), содержащих достаточное количество воды для насыщения бумаги, хроматографирование можно начинать сразу после нанесения пробы. Если же содержание воды в подвижной фазе ниже 10 %, то до начала элюирования необходимо ввести в бумагу нужное количество воды. Для этого бумагу выдерживают над водой в камере с влажной атмосферой, обрабатывают её водяным паром, опрыскивают мелкодисперсным аэрозолем с водой или пропитывают влажным эфиром.

На практике применяют различные виды элюирования: восходящее, нисходящее, горизонтальное, круговое. Во всех случаях во время работы нельзя касаться хроматограммы пальцами, особенно при хроматографировании аминокислот. Конец хроматограммы погружают в растворитель в камере так, чтобы он не касался места нанесения пробы. Камера должна плотно закрываться крышкой. Если вещества трудно разделяются, то применяют многократное элюирование одной и той же хроматограммы, иногда в другой растворяющей системе.

Обнаружение (проявление) хроматограмм. Если проводят разделение окрашенных веществ, то они видны на хроматограмме в виде чётко разделимых пятен. В остальных случаях перед проведением качественного и количественного анализа, хроматограммы необходимо предварительно проявить. Методы проявления можно разделить на несколько групп. *Физические методы* основаны на облучении хроматограмм УФ-светом, определённой длины волны. При этом можно обнаружить вещества, которые флуоресцируют в УФ-свете либо наоборот, подавляют флуоресценцию. Во втором случае используют специальные сорбенты, содержащие флуоресцирующие добавки. К этой группе относятся также радиографические методы обнаружения радиоактивных элементов. *Химические методы* распространены больше и состоят в обработке хроматограммы веществами, дающими цветные реакции с разделяемыми компонентами. С этой целью хроматограмму опрыскивают из пульверизатора соответствующим реагентом или погружают хроматограмму в раствор, конечно, если анализируемые вещества не растворяются в нём. Например, при разделении аминокислот проявление осуществляют 0,2 %-ным раствором нингидрина в ацетоне, в случае фенолов – 0,1 %-ным раствором хлорида железа (III) и т.д. Для обнаружения веществ кислотного или основного характера пригодны кислотно-основные индикаторы в водном или спиртовом растворе. Для проявления часто используют пары йода, который, адсорбируясь на хроматограмме, окрашивает пятна в жёлтый или коричневый цвет. Применяют и другие реагенты раз-

личной окрашивающей природы. Известны *биологические методы обнаружения*, состоящие в росте зон микроорганизмов на обнаруживаемых пятнах или, наоборот, в ингибировании их роста.

3.5. Качественный и количественный анализ в плоскостной хроматографии

После элюирования и изъятия хроматограммы из хроматографической камеры, на ней сразу же отмечают положение фронта растворителя. После высушивания и проявления (по необходимости) хроматограмма

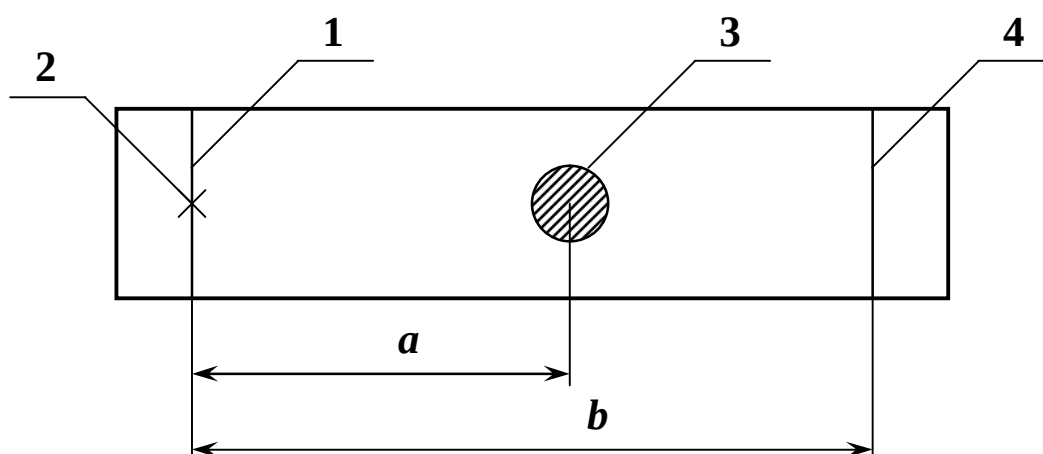


Рис. 3. Измерение величины R_f на хроматограмме

1 – стартовая линия, 2 – место нанесения пробы, 3 – пятно анализируемого вещества, 4 – фронт растворителя

имеет вид, показанный на рис. 3.

Пятно анализируемого соединения располагается между стартовой линией и линией фронта растворителя. Положение пятна характеризуется коэффициентом разделения R_f :

$$R_f = \frac{a}{b},$$

где a – расстояние от стартовой линии до центра пятна;
 b – расстояние от стартовой линии до фронта растворителя.

Значение R_f является индивидуальной характеристикой каждого вещества в данной системе и определяется тремя основными факторами: степенью сродства вещества к сорбенту, свойствами сорбента, природой элюента. Величины R_f могут изменяться в пределах от 0,00 до 1,00. Разделение двух веществ практически возможно, если $\Delta R_f \geq 0,1$.

Помимо перечисленных факторов значение R_f может зависеть от ряда трудно контролируемых факторов, таких как температура, степень насыщенности атмосферы камеры парами растворителя и т. д. Поэтому идентификацию анализируемых соединений часто проводят, так называемым способом свидетелей. Для этого на линию старта рядом с исследуемой смесью наносят контрольное вещество – «свидетель», а после хроматографирования сопоставляют цвета и положение пятен известных веществ в стандартной пробе с положением и цветом пятен в анализируемой смеси.

Для количественного определения веществ используют прямые и непрямые методы. В прямых методах количественный анализ осуществляют непосредственно на хроматограмме (на слое сорбента или бумаге). Для этого измеряют площадь пятна (полуколичественное определение), либо определяют интенсивность его окраски по спектрам поглощения (фотоденситометрия) или по спектрам отражения, а также флуориметрическим, рентгенофлуоресцентным и радиометрическим методами.

В непрямых методах анализируемое вещество (пятно) вымывают из слоя сорбента (с бумажной полоски) после вырезания зоны, и полученный раствор анализируют каким-либо методом: гравиметрическим, титриметрическим, фотометрическим и др.

3.6. Определение аминокислот методом бумажной хроматографии

3.6.1. Порядок выполнения работы

Для работы вырезают по шаблону шесть полосок хроматографической бумаги длиной 25 – 30 см, шириной 2 – 2,5 см. Внешний вид полосок бумаги представлен на рис. 4.

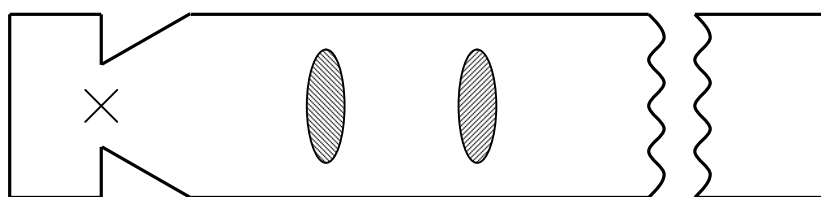
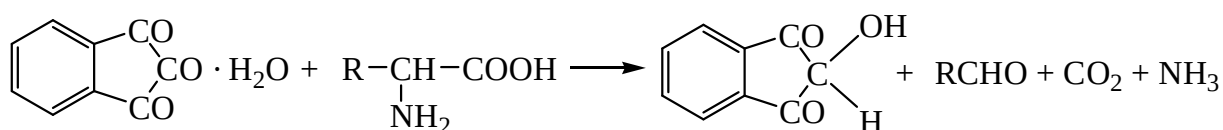


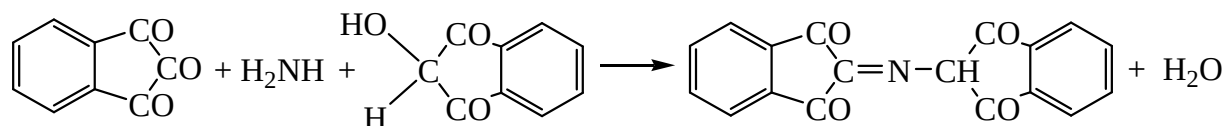
Рис. 4 Внешний вид бумажной хроматограммы

Клиновидная форма полоски обуславливает круговое хроматографирование в начальной стадии процесса, что приводит к сужению разделяемых зон. На нижнем (левом) конце каждой полоски на расстоянии 3 см от края проводят линию или ставят точку карандашом, на которую наносят анализируемый раствор. На первую полоску наносят раствор задачи, на вторую – раствор стандарта. На остальные четыре наносят отдельно взятые аминокислоты, входящие в состав стандартного раствора. Пробу наносят с помощью микропипетки или оттянутого капилляра. Объем пробы 0,01 мл. Пробу наносят порциями в несколько приёмов. После каждого прикосновения капилляра к бумаге пятно просушивают, во избежание его расплывания. В верхней части ленты простым карандашом отмечают какой раствор нанесён, а также пишут номер группы и фамилию студента выполняющего работу. Полоски надевают на стеклянные палочки и помещают в камеру для хроматографирования, на дне которой находится растворитель – смесь н-бутилового спирта, уксусной кислоты и воды. Конец

каждой ленты должен быть погружён в раствор так, чтобы раствор не касался места нанесения пробы. Камеру плотно закрывают крышкой на 6 – 8 часов, в течение которых происходит полное разделение аминокислот. После этого бумажные полоски вынимают из камеры, отмечают простым карандашом фронт продвижения растворителя и высушивают в вытяжном шкафу при комнатной температуре. Просушенные хроматограммы проявляют свежеприготовленным раствором нингидрина, который образует с аминокислотами окрашенный комплекс. Реакция протекает по схеме:



Выделяющийся аммиак конденсируется со второй молекулой нингидрина и с его восстановленным продуктом



Образовавшееся соединение переходит в енольную форму и образует аммонийную соль, имеющую интенсивный сине-фиолетовый цвет. Проявление можно провести двумя способами. По одному из них просушенную хроматограмму подвешивают перед листом белой бумаги и опрыскивают раствором нингидрина из пульверизатора. Важно равномерно и непрерывно наносить реагент на всю хроматограмму. По второму способу хроматограмму погружают в раствор реагента или протягивают через раствор, налитый в плоскую чашку. После просушивания проявленной хроматограммы проводят её анализ.

Качественный анализ. Визуально сопоставляют цвета и положения пятен известных веществ в стандартной пробе и пробах отдельных аминокислот с положением и цветом пятен в анализируемой смеси. Хроматограммы кладут на чистую бумагу, измеряют и записывают расстояние от места нанесения пятна испытуемого раствора до середины пятен и верхне-

го фронта растворителя. На основе этих данных рассчитывают значения R_f . Сравнивая R_f аминокислот в стандарте и задаче, делают соответствующие выводы о наличии тех или иных аминокислот в анализируемой смеси.

Количественный анализ. Вырезают участки хроматограмм с пятнами соответствующих аминокислот из «стандарта» и «задачи». Вырезают контрольный участок такого же размера в месте прохождения фронта растворителя. Вырезанные участки измельчают ножницами и помещают в пронумерованные пробирки:

- 1) аминокислота в стандарте;
- 2) та же аминокислота в задаче;
- 3) контрольный участок.

В каждую пробирку добавляют 5 мл 0,005 %-ного раствора CuSO_4 в 75 %-ном этиловом спирте. Лиловая окраска аминокислот переходит в розовую вследствие образования соединения аминокислоты с медью, которое растворяется в этиловом спирте. Пробирки оставляют в тёмном месте на 30 – 40 минут при комнатной температуре. Для ускорения перехода Cu -производного в раствор, содержимое пробирок периодически встряхивают. После этого измеряют оптические плотности растворов на фотоколориметре с зелёным светофильтром в кюветах объёмом 5 мл. В качестве раствора сравнения используют раствор из пробы контрольного участка. Зная концентрацию соответствующей аминокислоты в «стандарте» (табл. 1), и определив оптические плотности «стандарта» и «задачи», производят расчёт:

$$C_x = \frac{C_{cm} \cdot D_x}{D_{cm}},$$

где C_x – концентрация исследуемой аминокислоты в «задаче»;
 C_{cm} – концентрация той же аминокислоты в «стандарте»;
 D_x и D_{cm} – оптические плотности растворов аминокислоты в «задаче» и «стандарте».

Таблица 1**Концентрация аминокислот в стандарте**

Название аминокислоты	Концентрация, мг/мл
Аланин	0,9
Валин	1,1
Глицин	0,7
Лейцин	1,3
Метионин	1,5
Пролин	1,9
Треонин	1,2
Триптофан	2,0
Фенилаланин	1,5

3.6.2. Необходимое оборудование и реактивы

- 1) Растворитель – смесь н-бутилового спирта, уксусной кислоты и воды в соотношении 3 : 1 : 2.
- 2) Раствор нингидрина в ацетоне (0,2 %-ный).
- 3) Раствор сульфата меди в этаноле (0,005 %-ный).
- 4) Бумага хроматграфическая.
- 5) Микропипетки.
- 6) Хроматографическая камера.
- 7) Набор пробирок.
- 8) Фотоэлектроколориметр, кюветы объёмом 5 мл.

3.7. Разделение красителей методом ТСХ**3.7.1. Порядок выполнения работы**

Работа состоит из трёх частей: нанесения слоя сорбента на пластинку, разделения красителя на компоненты и обработки полученной хроматограммы. Поскольку компоненты красителя являются окрашенными веществами, то обнаруживаются они визуально.

Перед нанесением сорбента стеклянную пластинку надо тщательно обезжирить (хромовой смесью с ацетоном), промыть дистиллированной водой и просушить. С помощью специального приспособления нанести равномерный слой оксида алюминия толщиной около 0,5 мм.

Отступив от нижнего и боковых краёв пластинки 3 – 4 см, микропипеткой нанести по две параллельные пробы стандартного раствора красителя и задачи объемом 0,02 – 0,04 мл, стараясь, чтобы они находились на одной стартовой линии. Надо учитывать, что чем чётче и меньше очертания капель, тем лучше разделение. В колбе приготовить смесь растворителей: для красителя дисперсного чёрного – состав толуол : ацетон (100 мл : 100 мл); для красителя дисперсного алого – толуол : ацетон (120 мл : 40 мл). На дно камеры положить фильтровальную бумагу для лучшей насыщенности камеры парами растворителя и вылить в камеру приготовленную смесь растворителей. Через 10 минут в камеру опустить пластинку с нанесёнными пробами красителей. При этом пластинку одним краем поместить на подставку, чтобы угол наклона пластинки был $\sim 9^\circ$, а другой край был погружён в растворитель ниже стартовой линии. Разделение красителей на компоненты происходит в течение 20 – 25 мин. По окончании хроматографирования (после прекращения продвижения зон, но, не допуская ухода фронта растворителя за верхний край пластинки) вынуть из камеры пластинку и отметить на ней фронтальную линию.

Пластинку поместить в вытяжной шкаф для испарения растворителя и после высушивания скальпелем отметить нижние и верхние границы всех цветных зон. Рассчитать R_f всех компонентов. Для проведения количественного определения одного из компонентов красителя (по указанию преподавателя) скальпелем собрать анализируемые зоны с хроматограммы стандарта и задачи, перенести их в мерные колбы и довести объём до метки ацетоном. Содержимое колб перемешать, отфильтровать часть раствора в сухие кюветы на 20 мл. Измерить оптическую плотность стандарта и за-

дачи на фотоэлектроколориметре, используя в качестве раствора сравнения ацетон. Содержание компонента в задаче определяют по формуле:

$$C_x = \frac{C_{cm} \cdot D_x}{D_{cm}},$$

где C_x – концентрация определяемого компонента;
 C_{cm} – концентрация стандарта;
 D_x и D_{cm} – оптические плотности раствора красителя в задаче и стандарте.

3.7.2. Необходимое оборудование и реактивы

- 1) Фотоэлектроколориметр, кюветы на 20 мл.
- 2) Камера для хроматографирования.
- 3) Стеклянная пластинка размером 18×24 см.
- 4) Колба с притёртой пробкой на 300 мл.
- 5) Мерные цилиндры на 100 мл – 2 шт.
- 6) Микропипетки на 0,1 мл – 2 шт.
- 7) Мерные колбы емкостью 25 мл – 2 шт.
- 8) Воронки конические – 2 шт.
- 9) Фильтры бумажные – 2 шт.
- 10) Оксид алюминия, активированный.
- 11) Стандартный раствор красителя с концентрацией 0,01 г / мл.
- 12) Растворители: толуол и ацетон.
- 13) Линейка.
- 14) Скальпель.

3.8. Контрольные вопросы

1. Виды плоскостной хроматографии.
2. Носители и неподвижные фазы в бумажной хроматографии.
3. Сорбенты для ТСХ, их основные характеристики.

4. Элюенты для плоскостной хроматографии. Факторы, учитываемые при их выборе.
5. Техника работы в плоскостной хроматографии (нанесение проб, элюирование, проявление хроматограмм).
6. Качественный и количественный анализ в плоскостной хроматографии.

4. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кибардин С. А., Макаров К. А., Тонкослойная хроматография в органической химии. – М: Химия, 1978. – 128 с.
2. Кокотов Ю.А. Иониты и ионный обмен. – Л.: Химия, 1980. – 152 с.
3. Дж. Фритц, Д. Гьерде, К. Поланд Ионная хроматография / Пер. с англ. Ю. Н. Новикова. Под ред. В. Г. Березкина. – М.: Мир, 1984. – 216 с.
4. Физико-химические методы анализа. Практическое руководство / Под ред. В.Б. Алесковского – Л.: Химия, 1988. –376 с.
5. Пилипенко А. Т., Пятницкий И. В. Аналитическая химия. В 2 кн. Кн. 2. – М.: Химия, 1990. 481 – 846 с.
6. Основы аналитической химии. В 2 кн. Кн. 1. Общие вопросы. Методы разделения: Учеб. для вузов / Под ред. Ю.А. Золотова. – М.: Высш. шк., 1999. –351 с.
7. Основы аналитической химии. Практическое руководство: учеб. пособие для вузов / Под ред. Ю.А. Золотова. – М.: Высш. шк., 2001. –463 с.
8. Васильев В. П. Аналитическая химия. В 2 кн. Кн. 2. Физико-химические методы анализа: Учеб. для студ. вузов. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Дрофа, 2002. – 384 с.
9. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии / О. Б. Рудаков, И. А. Востров, С. В. Федоров и др. – Воронеж: Водолей, 2004. – 528 с.
10. М. Отто. Современные методы аналитической химии. –2-е изд., испр. – М.: Техносфера, 2006. – 416 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. Теоретические основы метода.....	4
1.1. Классификация методов хроматографического анализа.....	5
1.2. Контрольные вопросы.....	13
2. Ионообменная хроматография.....	13
2.1. Неподвижные фазы. Ионообменники.....	13
2.2. Подвижные фазы.....	19
2.3. Выбор и подготовка ионитов, их регенерирование и хранение.....	20
2.4. Оборудование и техника работы в ионообменной хроматографии.....	22
2.5. Ионообменное разделение ванадия и титана.....	22
2.5.1. Порядок выполнения работы.....	23
2.5.2. Необходимое оборудование и реактивы.....	25
2.6. Ионообменное разделение железа (III) и меди (II).....	26
2.6.1. Порядок выполнения работы.....	26
2.6.2. Необходимое оборудование и реактивы.....	29
2.7. Контрольные вопросы.....	29
3. Плоскостная хроматография.....	30
3.1. Бумажная хроматография.....	30
3.2. Тонкослойная хроматография.....	31
3.3. Элюенты для плоскостной хроматографии.....	34
3.4. Оборудование и техника работы в плоскостной хроматографии.....	35
3.5. Качественный и количественный анализ в плоскостной хроматографии....	39
3.6. Определение аминокислот методом бумажной хроматографии.....	41
3.6.1. Порядок выполнения работы.....	41
3.6.2. Необходимое оборудование и реактивы.....	44
3.7. Разделение красителей методом ТСХ.....	44
3.7.1. Порядок выполнения работы.....	44
3.7.2. Необходимое оборудование и реактивы.....	46
3.8. Контрольные вопросы.....	46
4. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	47

Учебное издание

Роман Владимирович **Брунилин**
Борис Семенович **Орлинсон**
Станислав Сергеевич **Радченко**

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Учебное пособие

Редактор Е. А. Пичугина

Темплан 2008 г. Поз. № ____

Лицензия ИД № 04790 от 18.05.2001 г.

Подписано в печать ____ 20__ г. Формат 60х84 1/16. Бумага газетная.

Гарнитура Times. Печать офсетная. Усл. печ. л. _____. Уч.-изд.л. _____.

Тираж ____ экз. Заказ _____.

Волгоградский государственный технический университет.
400131 Волгоград, пр. им. В. И. Ленина, 28.

РПК «Политехник»
Волгоградского государственного технического университета.
400131 Волгоград, ул. Советская, 35.