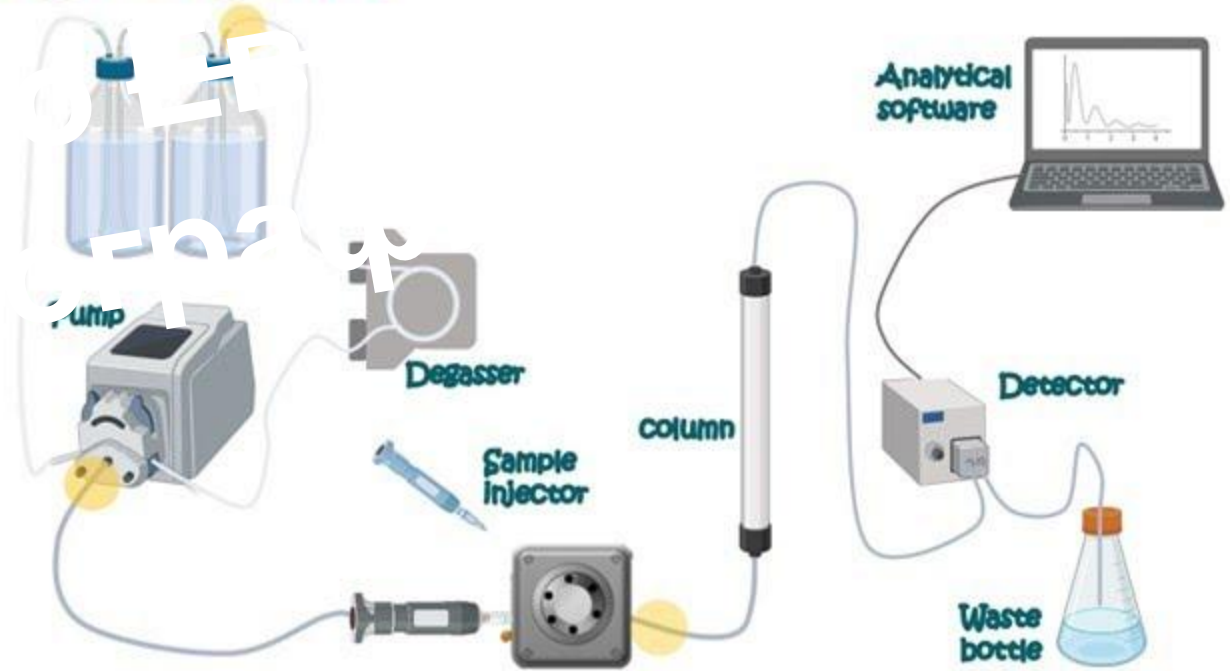
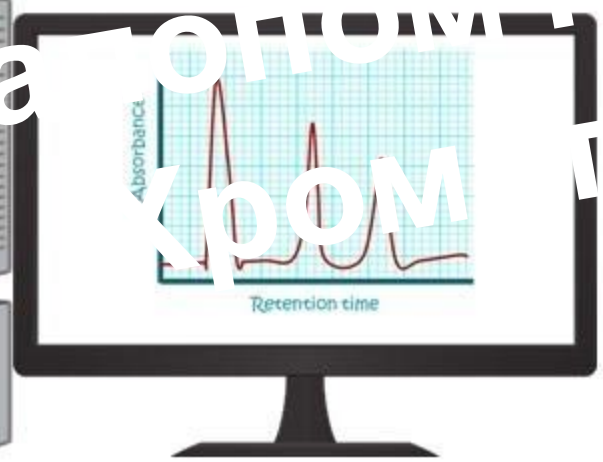


High Performance Liquid Chromatography

High resolution power

Mobile Phase is liquid

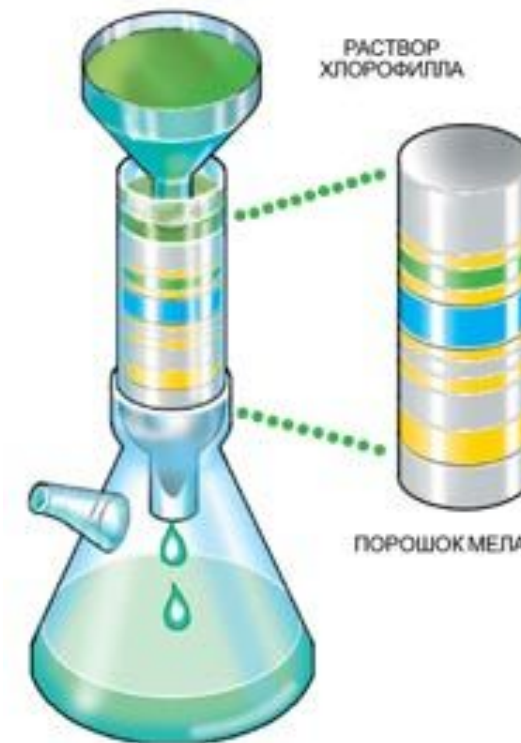


Γαλλο-Ρωσική
ΧΡΟΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Слайд о том **КТО ВОООБЩЕ ЭТО ПРИДУМАЛ** ???

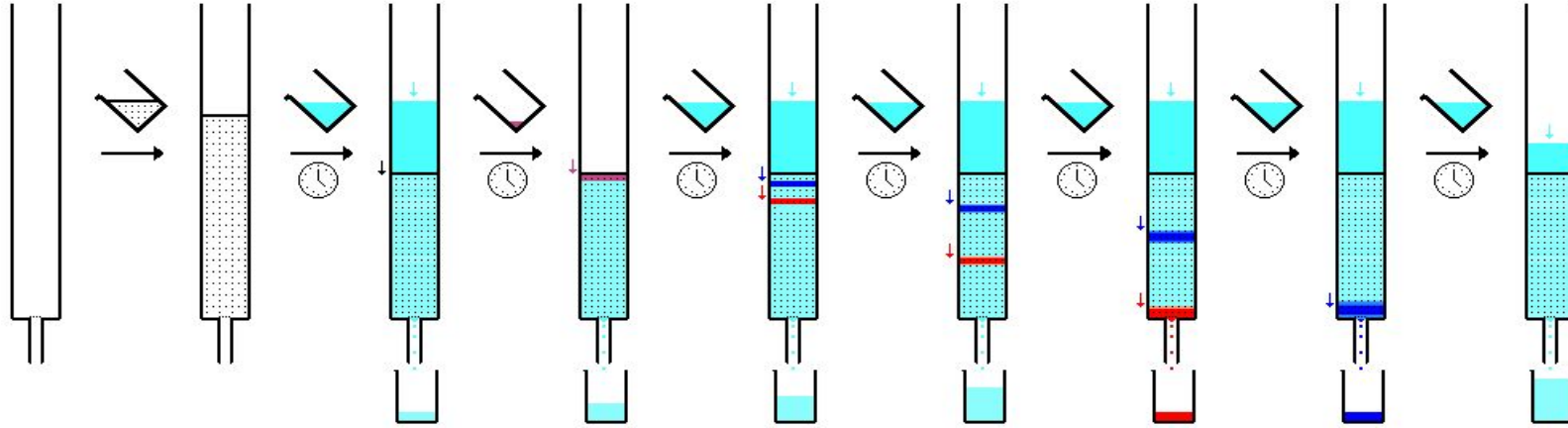


- Метод хроматографии был впервые применён русским учёным-ботаником Михаилом Семеновичем Цветом в 1900 году.



Широкое развитие хроматографических методов последовало лишь в середине прошлого века

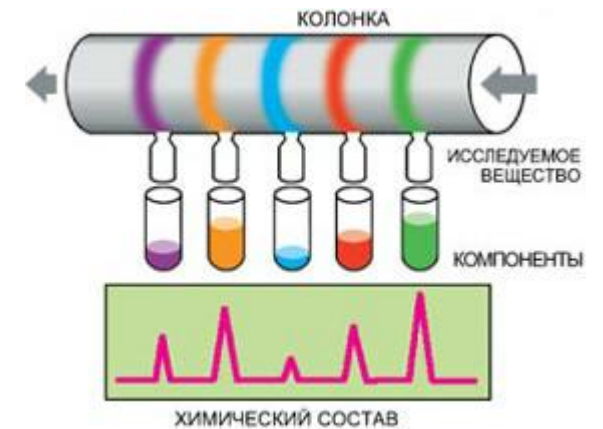
Хроматография: Хрома – цвет, Графо – пишу



Графическим представлением результата разделения является *хроматограмма* — зависимость сигнала детектора от времени элюирования (удерживания в колонке).

Каждое вещество, регистрируемое детектором, отображается на хроматограмме в виде пика — зависимости концентрации этого вещества в элюате (исследуемая жидкость) от времени элюирования.

Площадь пика пропорциональна концентрации вещества в пробе;

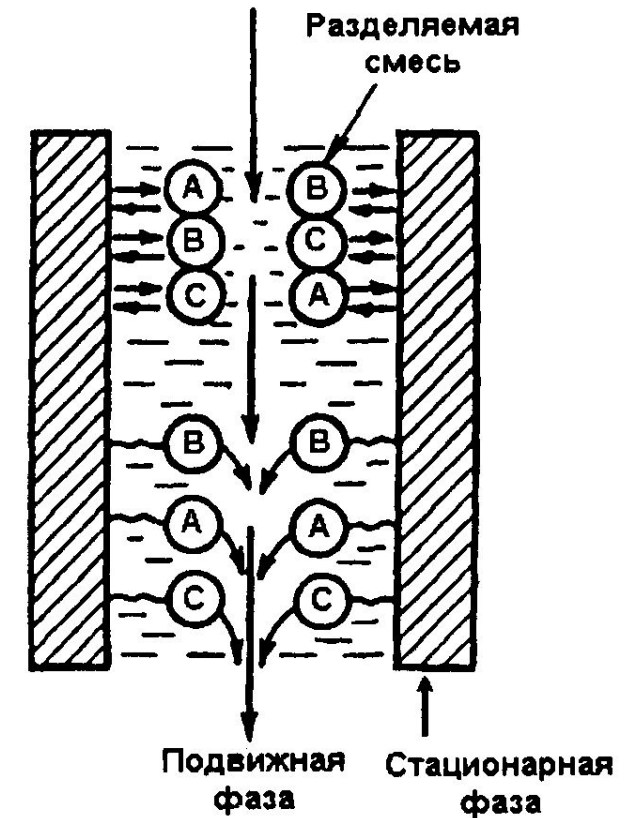


Так что же такое жидкостная хроматография ?

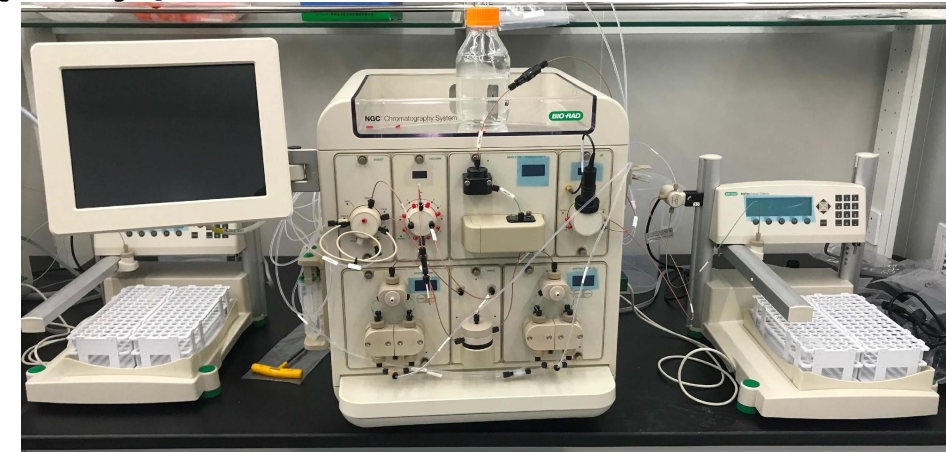
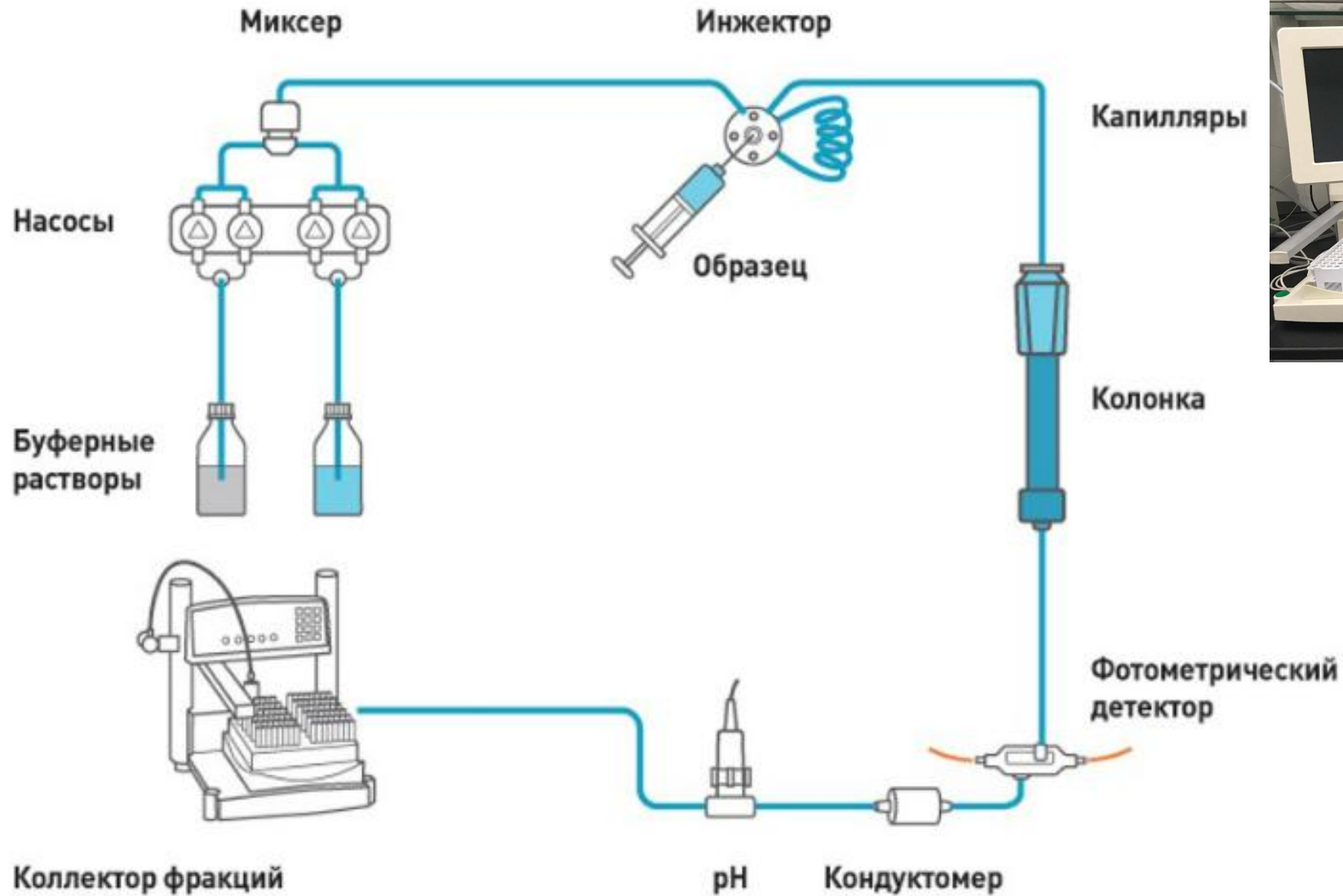
Жидкостная хроматография - метод разделения и анализа сложных смесей веществ, в котором подвижной фазой является жидкость.

Для чего нужна подвижная фаза :

1. Обеспечение переноса десорбированных молекул по колонке
 2. Регулирование константы равновесия, т.е. **времени удерживание** в результате взаимодействия неподвижной фазой (сорбируясь на поверхности колонки) и с молекулами разделяемых веществ.
- В ЖХ природа подвижной фазы имеет существенно большее значение. В результате комбинации ограниченного числа сорбентов и неограниченного числа, различных по составу, подвижных фаз возможно решение чрезвычайно большого числа встречающихся на практике задач.



Принципиальная блок схема LPLC (Low Pressure Liquid Chromatography)



Как правильно разделить ?

Селективностью хроматографической системы является суммарная характеристика физико-химических взаимодействий в хроматографической системы:

- вещества с адсорбентом, вещества с элюентом и элюента с адсорбентом,

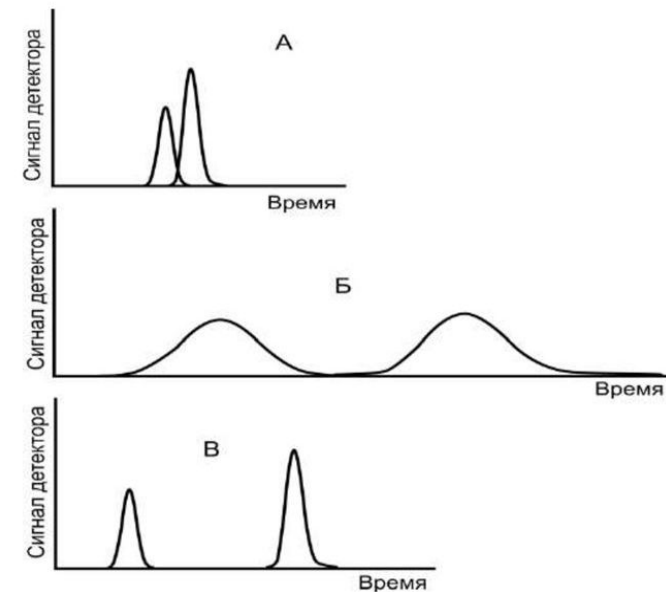
Для изменения селективности надо либо заменить применяемый адсорбент, либо поменять состав элюента.

Помимо других факторов, разрешение пиков зависит от того, насколько сильно размываются хроматографические зоны веществ при продвижении вдоль колонки.

Чем сильнее их размывание, тем шире оказываются пики, и тем хуже они разделяются.

Величина размытия характеризуется величиной эффективности

Выше эффективность – уже пики!!!



А – низкая селективность, высокая эффективность

Б – высокая селективность, низкая эффективность

В – высокие селективность и эффективность разделения

Теоретические тарелки и эффективность

- Высота эквивалентной теоретической тарелки (ТТ) – H

$$H=L/N,$$

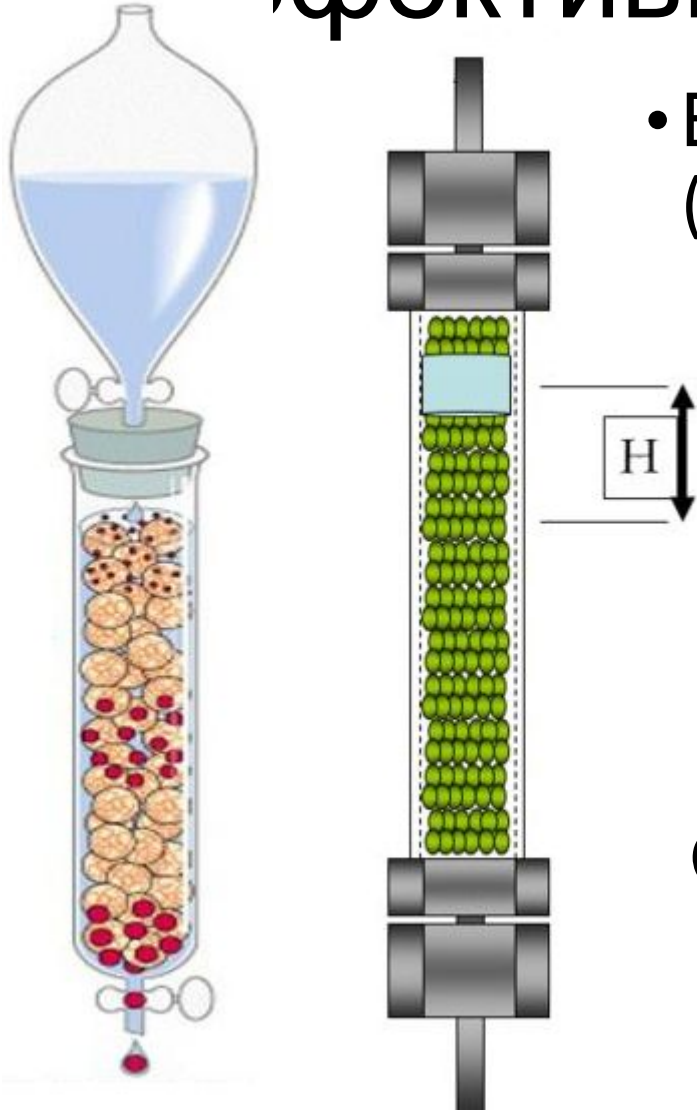
L -длина колонки, N - число ТТ

Эффективность \propto Длина колонки.

Современные колонки имеют 80 000 – 230 000 ТТ

Чем больше ТТ, тем лучше разделение и тем

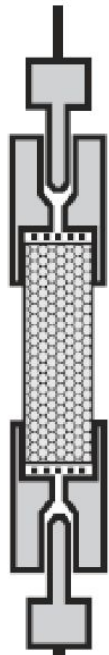
больше требуется давление в хроматографе



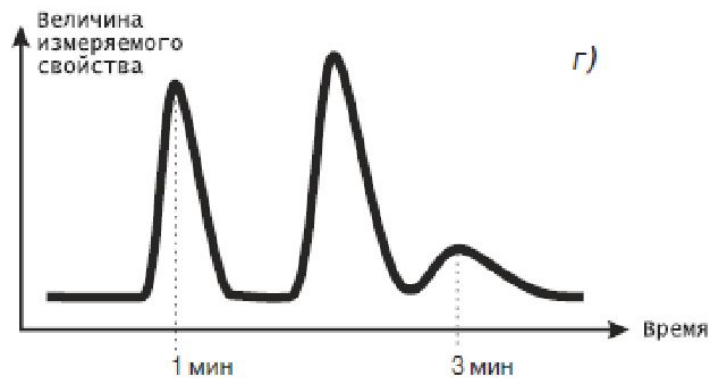
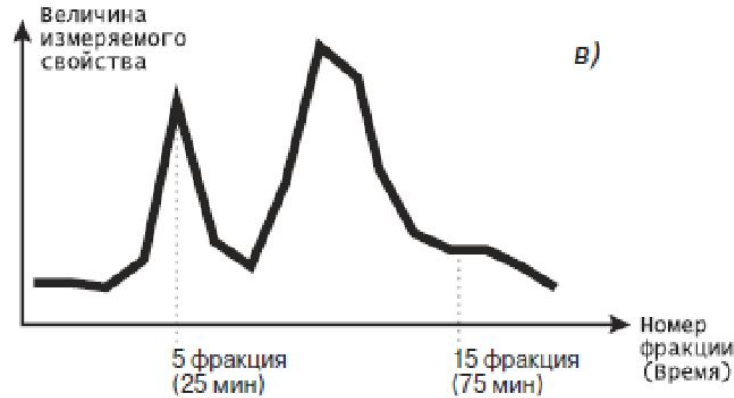
Колонки колонки колонки ...



а)



б)



Длина колонки – величина постоянная, обусловленная расходом реактивов и линейностью потока

Чем больше ТТ, тем больше эффективность

При постоянной длине колонки увеличение ТТ происходит за счёт уменьшения размера сорбента

Чем больше ТТ маленького размера, тем требуется больше давления в хроматографе

Принципиальная блок схема HPLC/ВЭЖХ (High Pressure Liquid Chromatography)

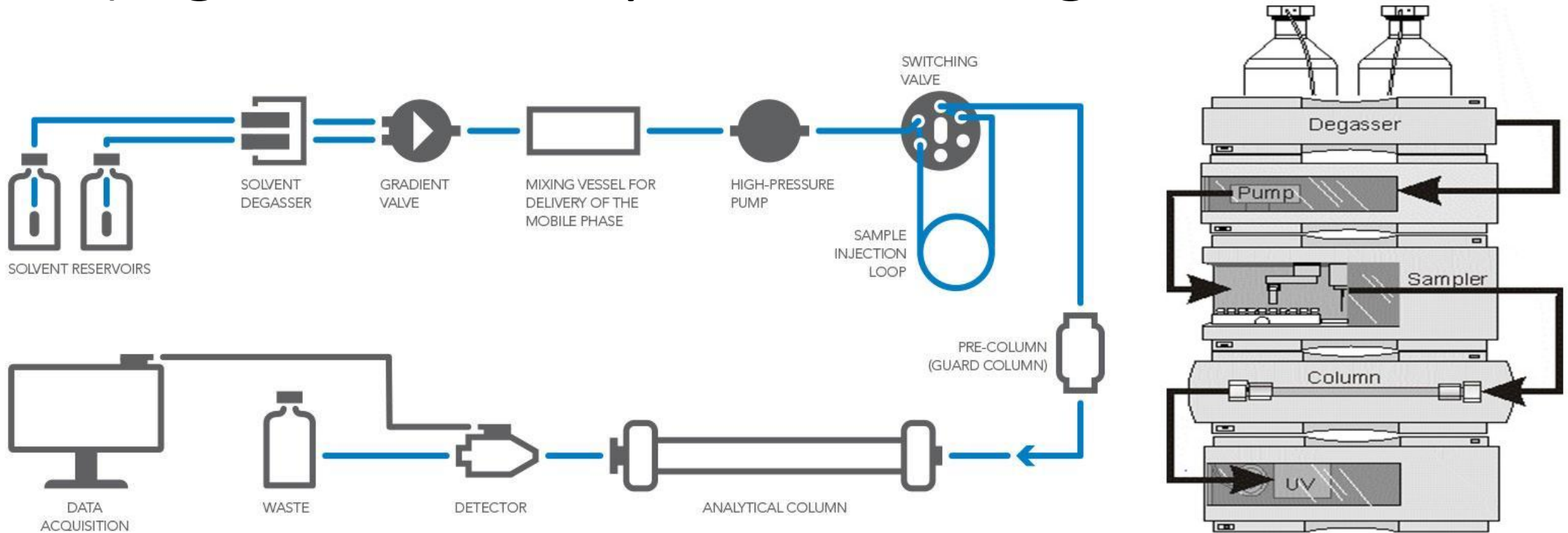
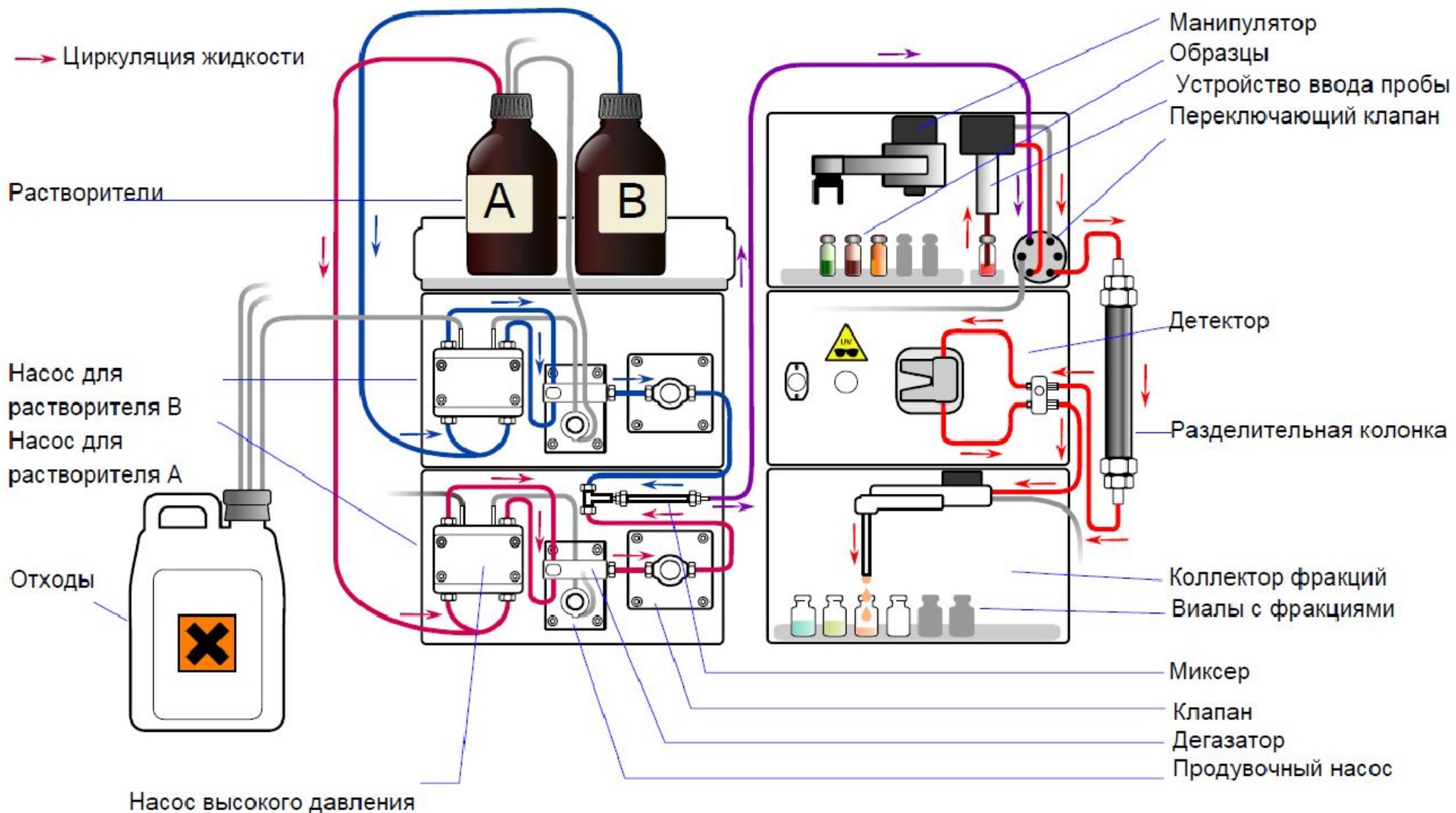
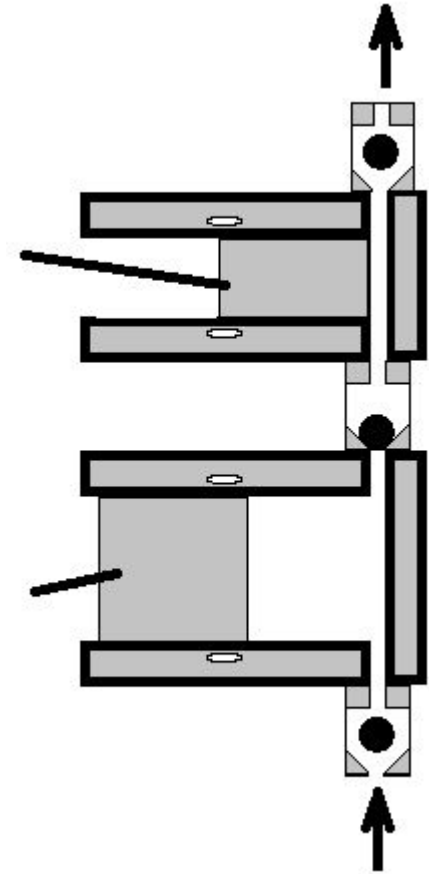
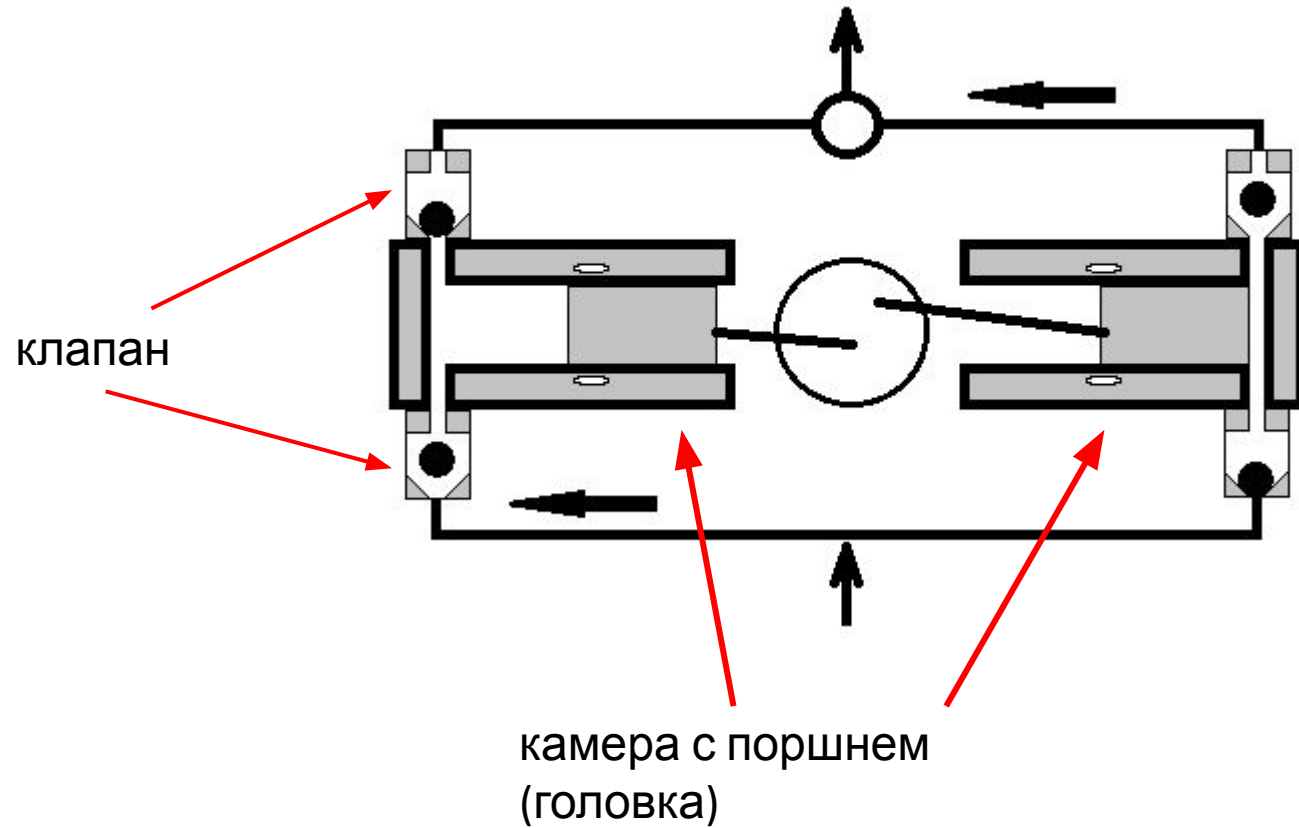


Схема HPLC



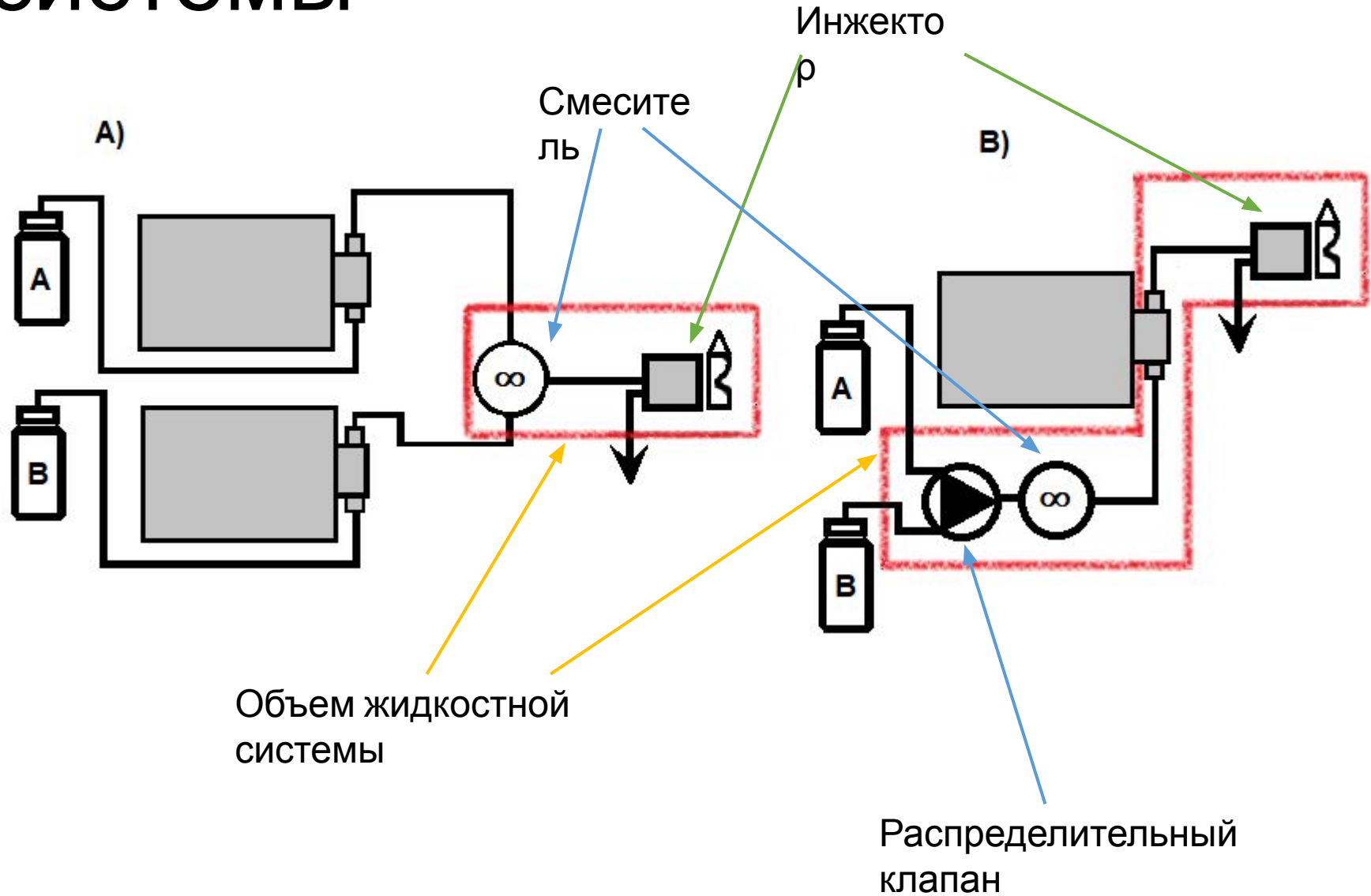
Типы насосов, используемых в ВЭЖХ.



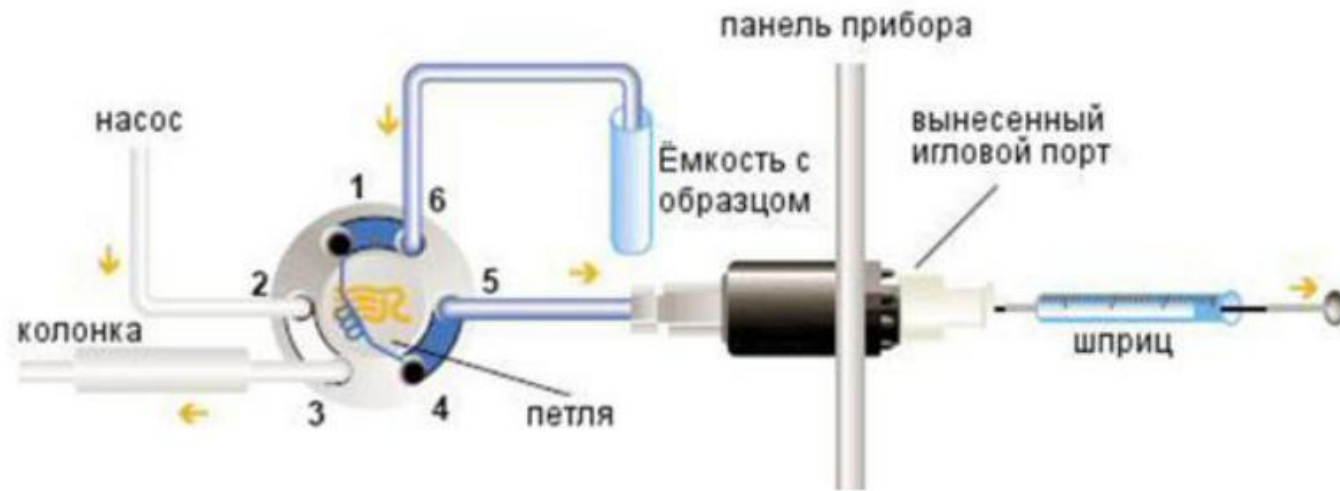
Насосные системы

А. Смешивание в области высокого давления

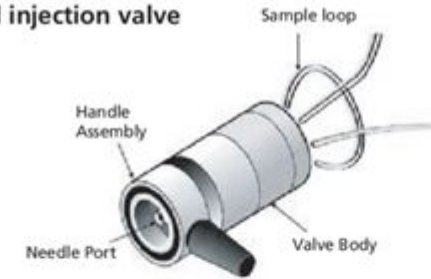
В. Смешивание в области низкого давления



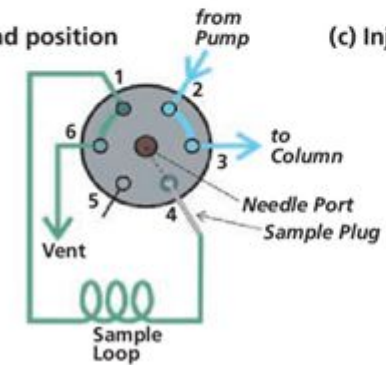
Ручной инжектор.



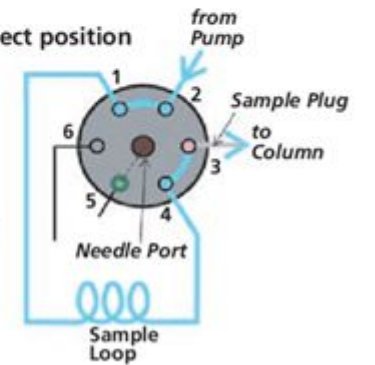
(a) Manual injection valve



(b) Load position



(c) Inject position



Основные виды детекторов

Вид детектора	Измеряемый параметр	Минимально определяемое количество, г	Селективность
Спектрофотометрический	Оптическая плотность	10^{-10}	Высокая
Флуориметрический	Интенсивность флуоресценции	10^{-11}	Очень высокая
Кондуктометрический	Электропроводность	10^{-9}	Низкая
Рефрактометрический	Показатель преломления	10^{-6}	Низкая
Амперометрический	Величину тока	$10^{-11} - 10^{-9}$	Очень высокая
Масс-спектрометрический	Величину ионного тока	$10^{-12} - 10^{-10}$	Очень высокая

Схема строения фотометрических детекторов

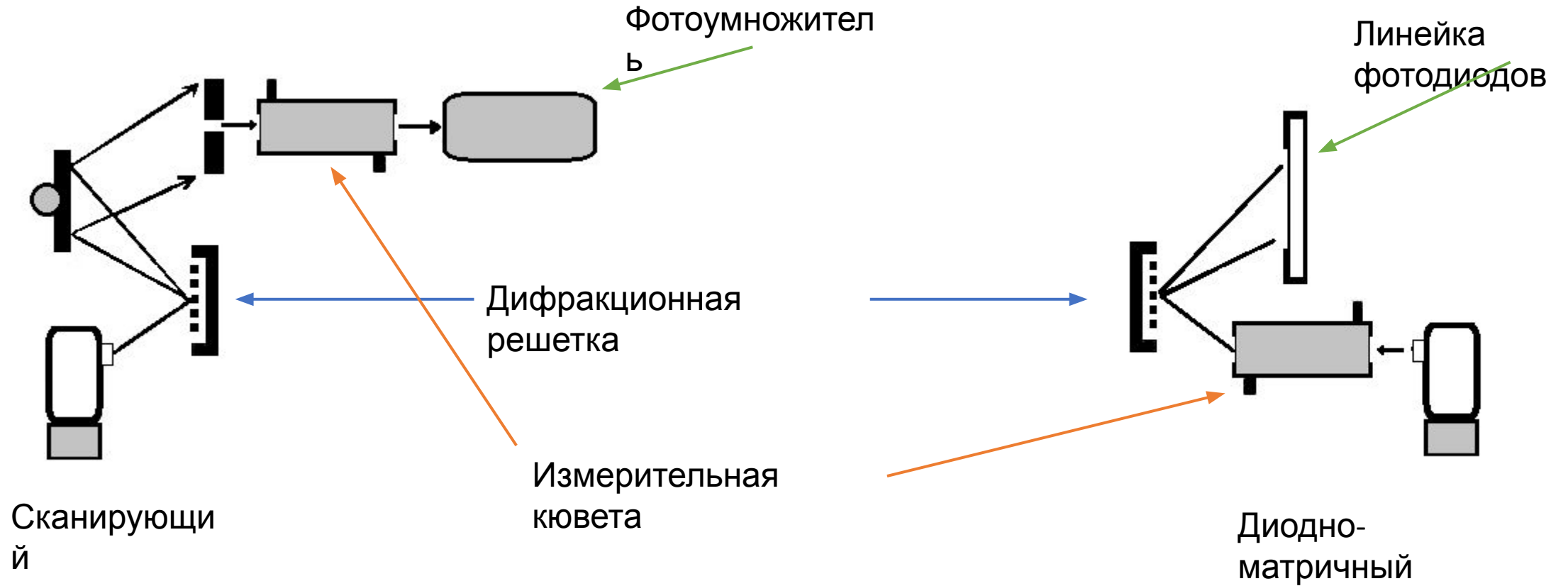


Схема устройства флуориметрического детектора

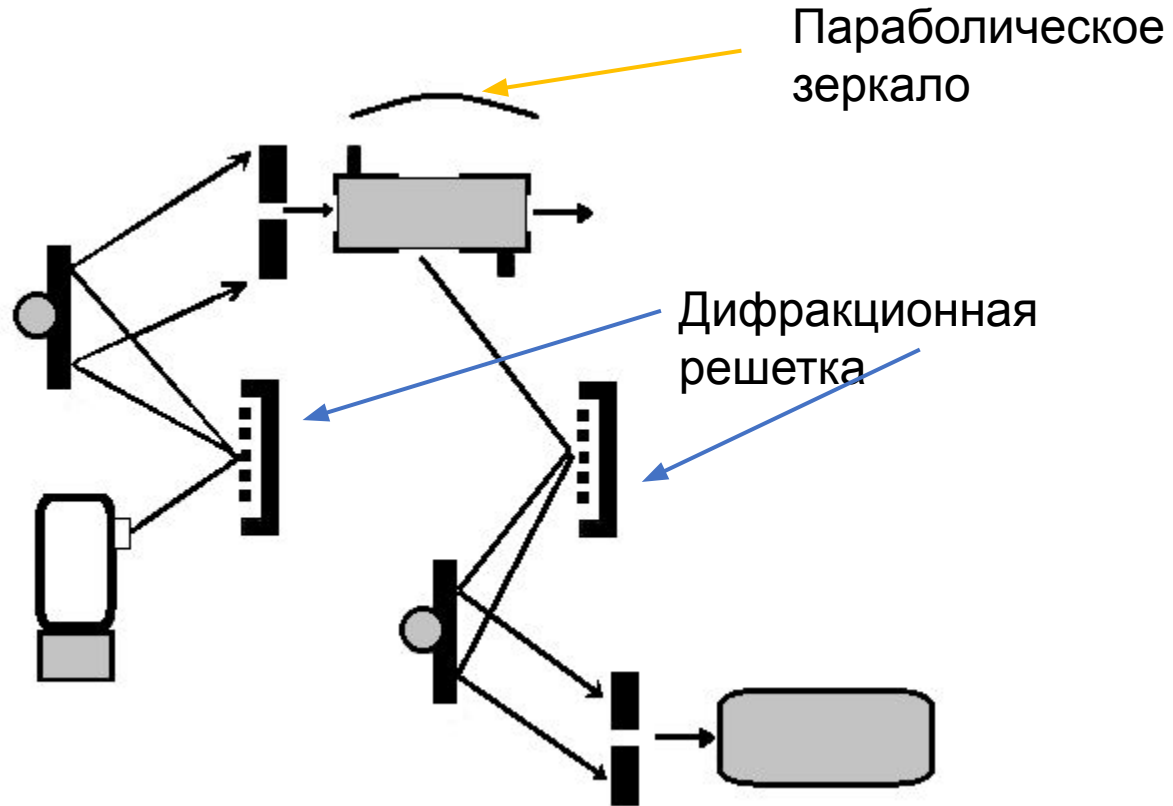


Схема с двумя монохроматорами

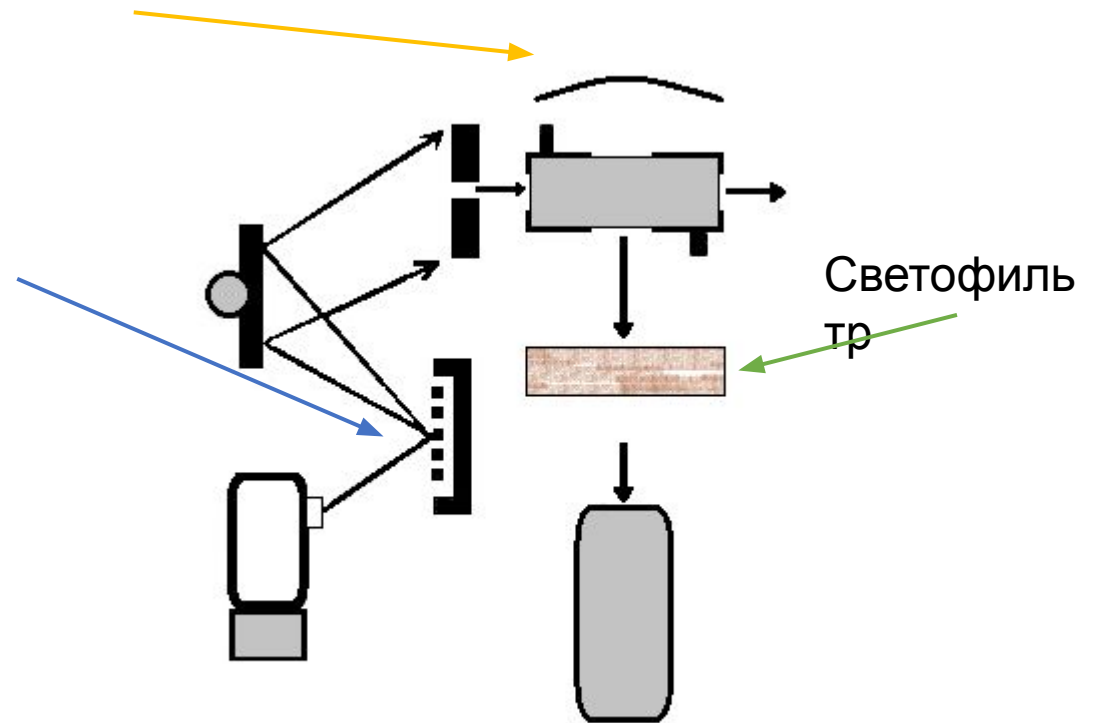
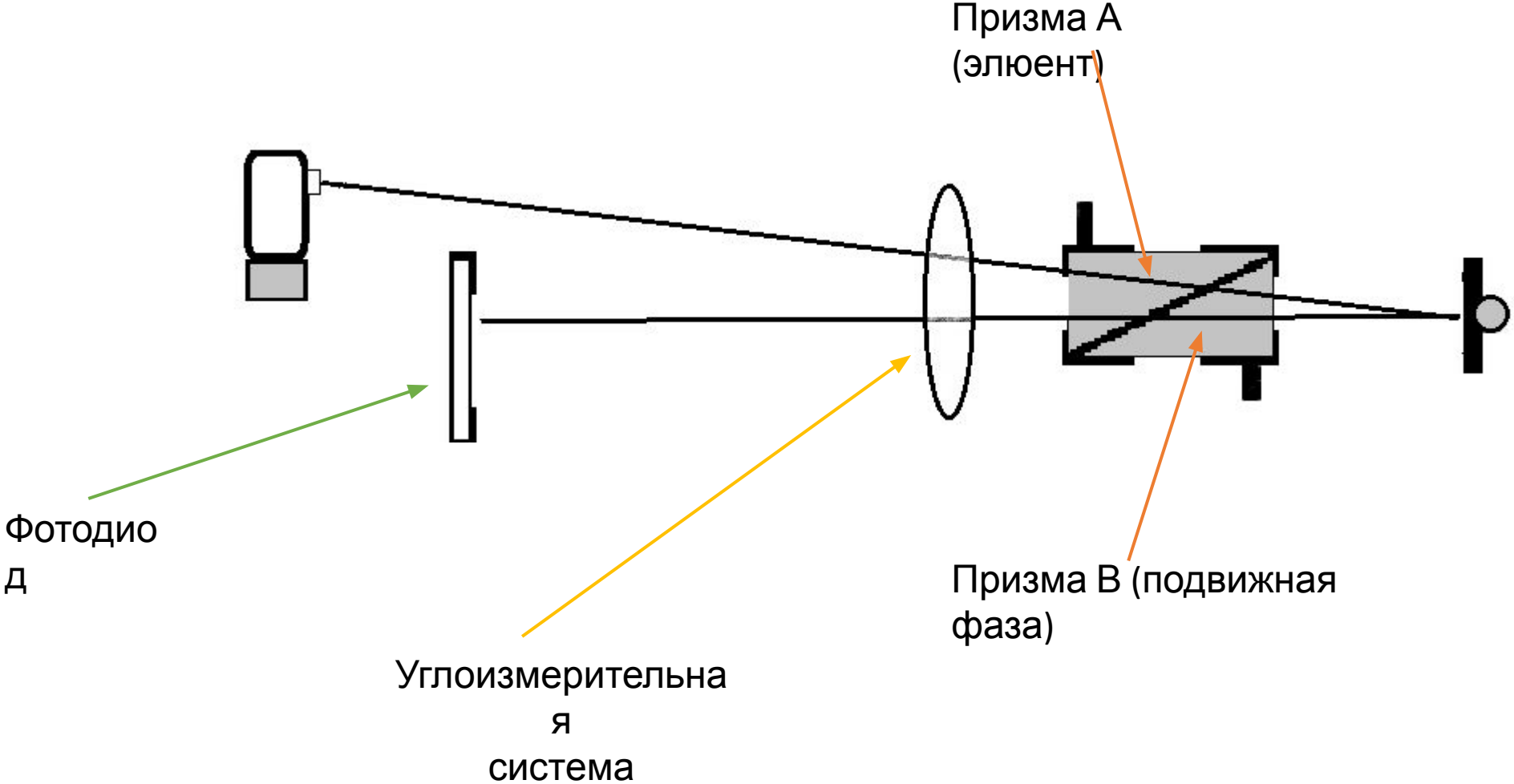


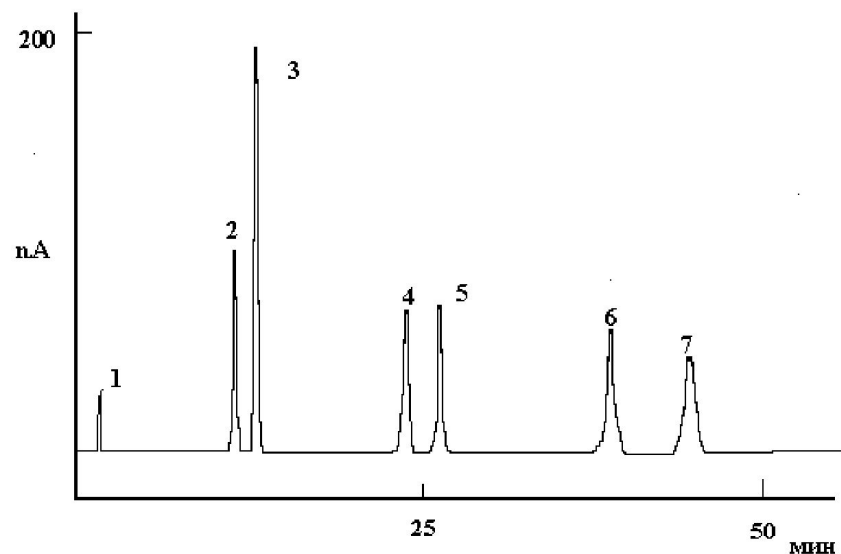
Схема с одним монохроматором

Схема устройства рефрактометрического детектора



Определение загрязнений воды и ПОВЧВЫ.

- Высокоэффективная жидкостная хроматография активно используется для определения различных экотоксикантов в водах и почвах. Наиболее значимые задачи, решаемые ВЭЖХ в анализе вод и почв – определение фенольных соединений, ПАУ и пестицидов. Так как ПДК этих экотоксикантов в водах и почвах очень низки, их определение обычно проводят после предварительного концентрирования или выделения.

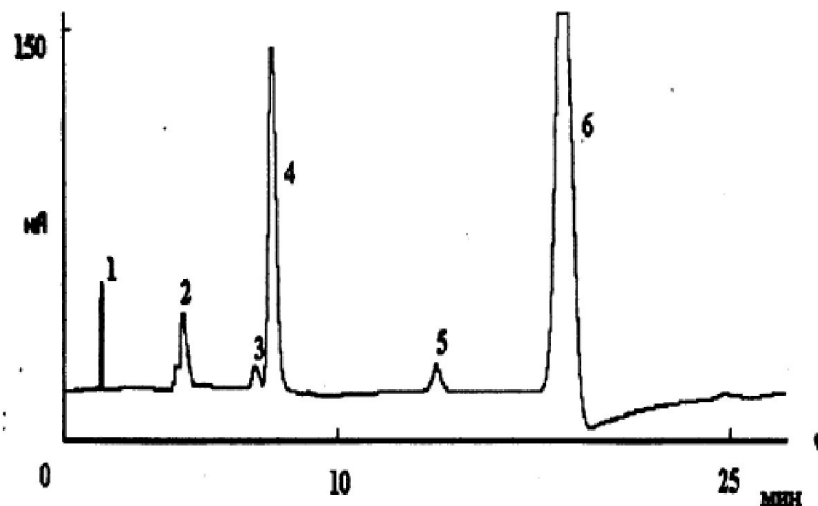


Подвижная фаза: ацетонитрил : вода : фосфорная кислота
20,0 : 79,9 : 0,1 (%об)

- 1 – системный пик
- 2 – фенол;
- 3 – гваякол;
- 4 – *p*-крезол;
- 5 – *o*-крезол;
- 6 – хлоркрезол;
- 7 – *p*-хлорфенол;

Определение фенолов в сточных и природных водах.

- Весьма распространенными экотоксикантами являются фенол и его хлорпроизводные и нитропроизводные, гваякол, крезолы. Эти соединения образуются в процессе производственной деятельности человека, в частности, в целлюлозно-бумажном производстве. Возникает необходимость их определения в различных типах вод: природных, водопроводной, производственных и сточных



Подвижная фаза: ацетонитрил : вода : фосфорная кислота
70,0 : 29,9 : 0,1 (%об.)

1 – системный пик;

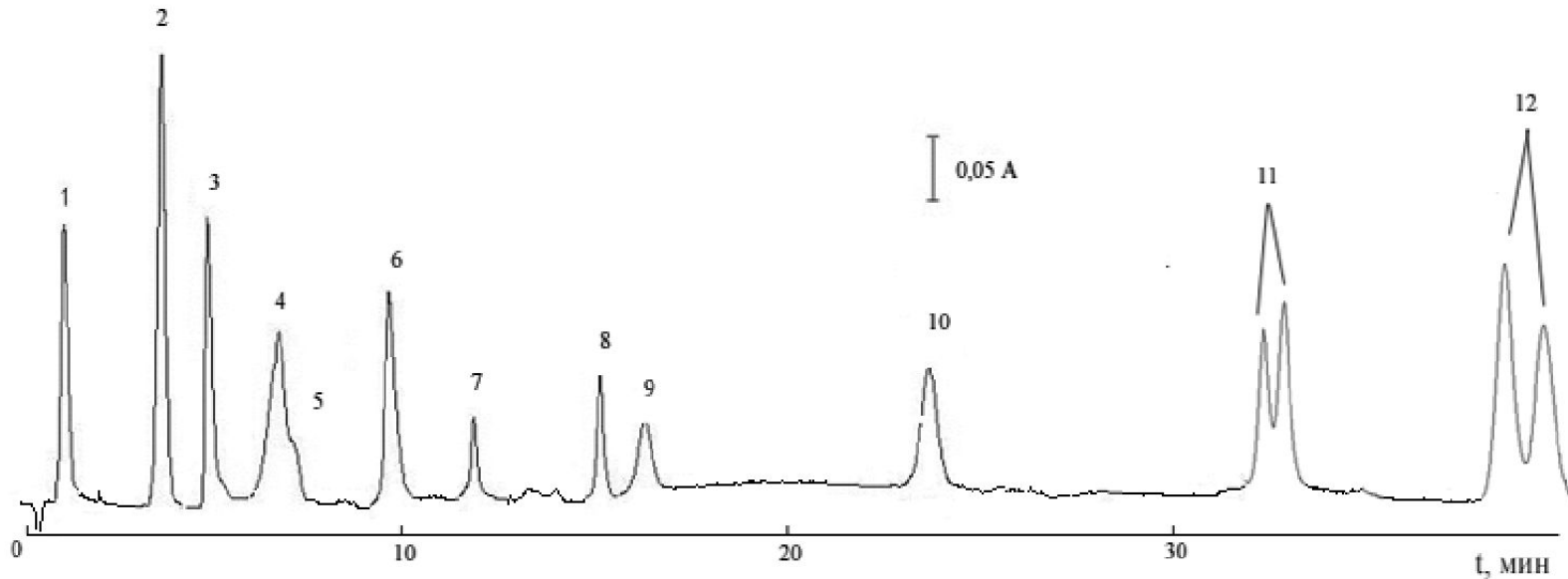
2 – 2,4,6-трихлорфенол;

5 – пентахлорфенол;

3,4,6 – неидентифицированные пики.

Определение пестицидов.

- В современном сельском хозяйстве широко применяются химические соединения, используемые для борьбы с вредными организмами, грибами, сорняками, так называемые пестициды. Наряду с несомненной пользой крупномасштабное производство и бесконтрольное применение пестицидов привело к существенному обострению экологической обстановки.



Условия хроматографического определения:

Колонка Diaspher C16 (150x4,6)мм со средним размером частиц 5мкм;

Подвижная фаза ацетонитрил : 0,01 М фосфатный буферный раствор (рН 4,2)
(40:60)

- 1 – метаболит беномила (2 мкг/мл);
- 2 – ацетамиприд (4 мкг/мл);
- 3 – ленацил (10 мкг/мл);
- 4 – дикамба (4мкг/мл);
- 5 – хлорсульфурон (5 мкг/мл);
- 6 – тирам(5 мкг/мл);
- 7 – хлорсульфоксим (8 мкг/мл);
- 8 – пенконазол (5 мкг/мл);
- 9 – линурон (5мкг/мл);
- 10 – флудиоксонил (5 мкг/мл);
- 11-пропиконазол (5 мкг/мл);
- 12 –дифеноконазол (5 мкг/мл).

- ***Определение загрязнений воздуха.***
- ***Определение полициклических ароматических углеводородов***
- Одно из важнейших направлений использования ионной хроматографии – анализ вод (определение Ионов)