

**Московский физико-технический институт  
(Государственный университет)  
Департамент молекулярной и биологической физики**

**Физические методы исследования**

## **Лекция 8**

# **Детекторы в хроматографии Жидкостная хроматография**

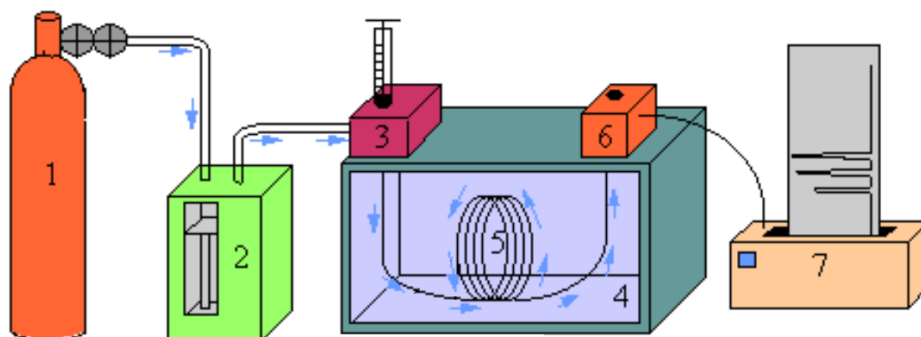
г. Долгопрудный, 23 октября 2015г.

1

## **Литература**

- Франкевич Е.А. Физические методы исследования. Учебное пособие /М.: МФТИ ч.1 (1986), ч.2 (1978), ч.3 (1980).
- Д.В. Сивухин. Общий курс физики, т.2
- Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии. Под. Ред. А. Хеншен, К.-П. Хупе, Ф. Лотшпайх, В. Вёльтер, М.: Мир, 1988
- Максимычев А.В. Адсорбционная газовая хроматография. Учебно-методическое пособие. М.: МФТИ, 2009г.
- В.А. Винарский. Хроматография. Курс лекций. Минск, 2003г.

# Устройство хроматографа

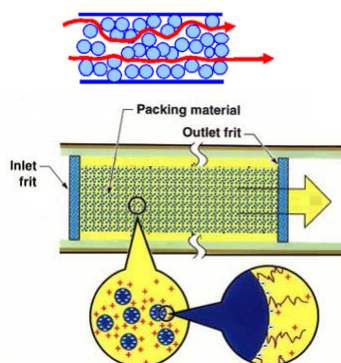


1. Резервуар с носителем
2. Система подачи носителя
3. Инжектор
4. Термостат
5. Хроматографическая колонка
6. Детектор
7. Система регистрации

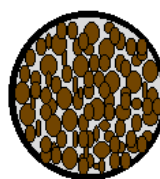
## Хроматографические колонки



## Насадочные колонки



Сечение колонки

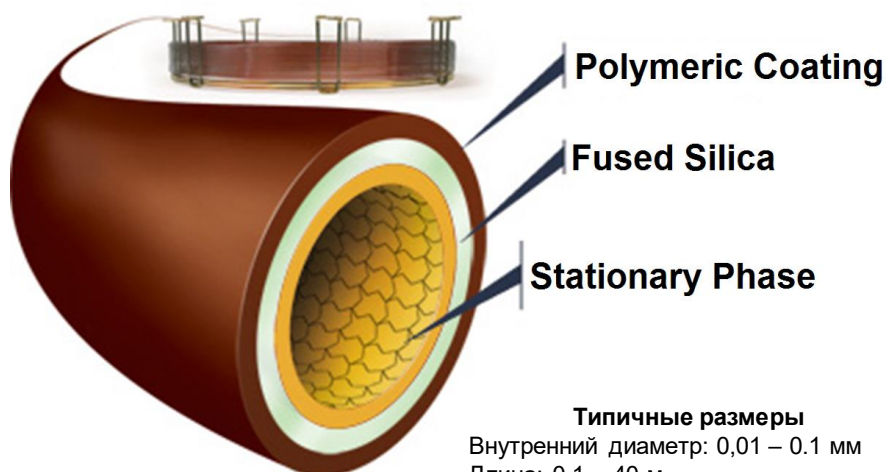


Типичные размеры

Внутренний диаметр: 2.0 – 4.6 мм  
Длина: 0,03 – 0,5 м  
размер гранул наполнителя: 3 – 10 мкм

## Капиллярные колонки

Cross section of a Fused Silica Capillary Column



Типичные размеры

Внутренний диаметр: 0,01 – 0.1 мм  
Длина: 0,1 – 40 м  
Толщина слоя сорбента: 0,1 – 5 мкм

## ДЕТЕКТОРЫ В ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

### Основные требования:

- детектор должен обладать высокой чувствительностью
- величина сигнала детектора должна изменяться; пропорционально изменению концентрации определяемого компонента в подвижной фазе;
- детектор должен иметь достаточное для выполнения анализа быстродействие;
- рабочий объем детектора должен быть, по возможности, наименьшим, чтобы исключить дополнительное размывание пиков в детекторе;
- желательно, чтобы показания детектора отражали изменения физико-химических свойств подвижной фазы только от ее состава.

### *Характеристики измерительных систем*

|                             |                                                                    |                                               |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Чувствительность            | $S = \frac{y}{x} \quad S_{dif} = \frac{dy}{\delta x}$              | $X$ – входной сигнал<br>$Y$ – выходной сигнал |
| Разрешающая способность     | $R = \frac{x}{\delta x}$                                           |                                               |
| Динамический диапазон       | $D = \frac{x_{max}}{x_{min}} \rightarrow \frac{x_{max}}{\delta x}$ |                                               |
| Пространственное разрешение | $\delta x = \int_S x_S dS = \int_V x_V dV$                         |                                               |
| Время измерения             | $\delta x = \int_{\tau} x(t) dt$                                   |                                               |

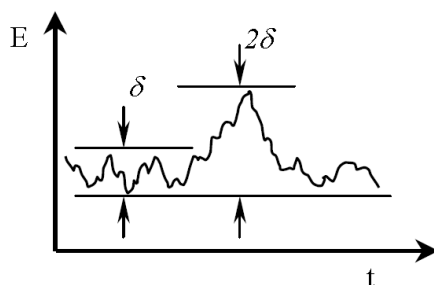
$\delta x$  – порог обнаружения !!!

## Чувствительность детектора.

### Предел обнаружения.

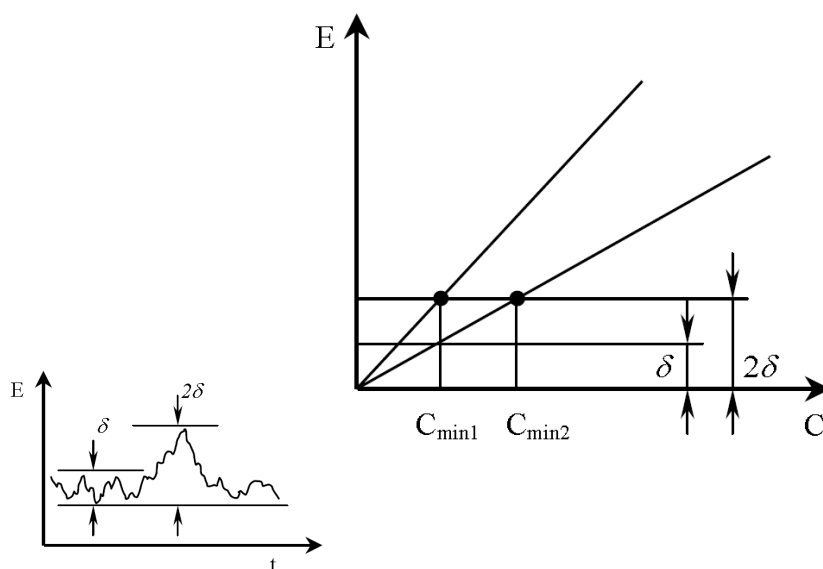
**Чувствительностью** детектора называют отношение величины выходного сигнала детектора к входному сигналу, который определяется количеством вещества, поступающего в детектор вместе с газом-носителем.

**Порогом чувствительности (пределом обнаружения)** называется такое количество определяемого вещества в газе-носителе, которое обуславливает появление сигнала, равного удвоенной величине шумов.



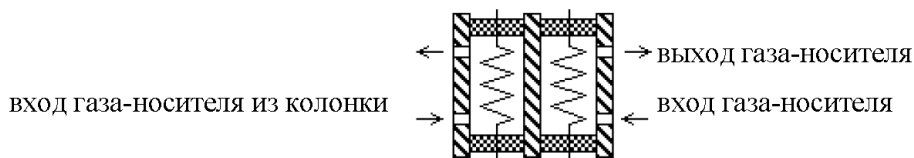
Определение величины минимального сигнала детектора

## Чувствительность и предел обнаружения детектора



## ДЕТЕКТОРЫ ПО ТЕПЛОПРОВОДНОСТИ

### Катарометрический детектор



$$\frac{\Delta T_{эл}}{x} = (T_{эл} - T_{ст}) \left( \frac{\lambda_c}{\lambda_x} - 1 \right)$$

$\Delta T_{эл}$  – величина изменения температуры чувствительного элемента;

$T_{эл}$  – температура чувствительного элемента

$T_{ст}$  – температура стенки камеры детектора

$\lambda_c$  – теплопроводность чистого газа-носителя

$\lambda_x$  – теплопроводность анализируемого вещества

$x$  – мольная доля анализируемого вещества в смеси с газом-носителем

$$R_T = R_o (1 + \alpha \Delta T_{эл})$$

11

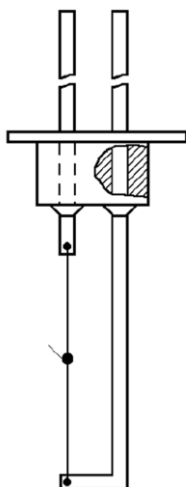
### Величины теплопроводностей газов-носителей и паров веществ

|          |       |                |       |
|----------|-------|----------------|-------|
| водород  | 7.100 | н-бутан        | 0.744 |
| гелий    | 5.530 | метанол        | 0.727 |
| метан    | 1.450 | н-пентан       | 0.702 |
| аммиак   | 1.040 | углекислый газ | 0.700 |
| воздух   | 1.000 | этанол         | 0.700 |
| азот     | 0.996 | н-гексан       | 0.662 |
| этан     | 0.970 | ацетон         | 0.557 |
| ацетилен | 0.900 | хлорметан      | 0.530 |
| пропан   | 0.832 | трихлорметан   | 0.328 |

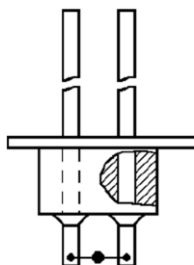
Гелий – наиболее подходящий газ-носитель при работе с детектором по теплопроводности (в ряду используемых газов-носителей гелий характеризуется величиной теплопроводности близкой к водороду, имеет большое отличие по этому параметру от разделяемых соединений, что позволяет обеспечить более высокую чувствительность при их обнаружении и установлении количественного содержания)

12

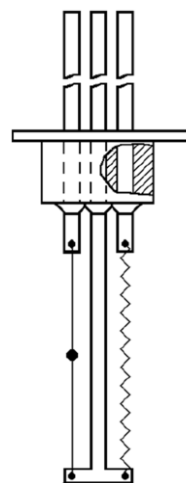
## Термисторный детектор



Термисторный  
детектор



Микродетектор

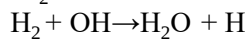
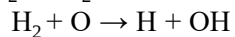
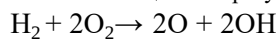


Комбинированный  
детектор

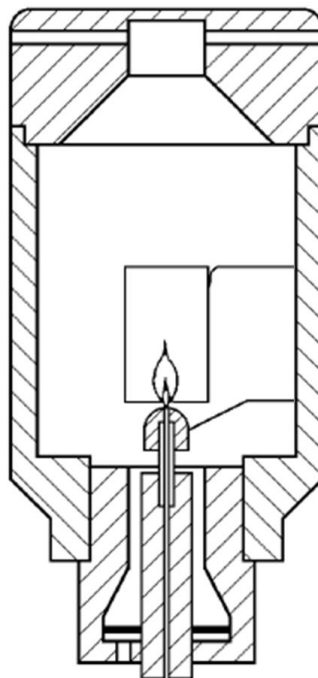
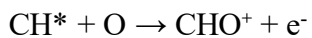
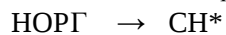
13

## ПЛАМЕННО-ИОНИЗАЦИОННЫЙ ДЕТЕКТОР

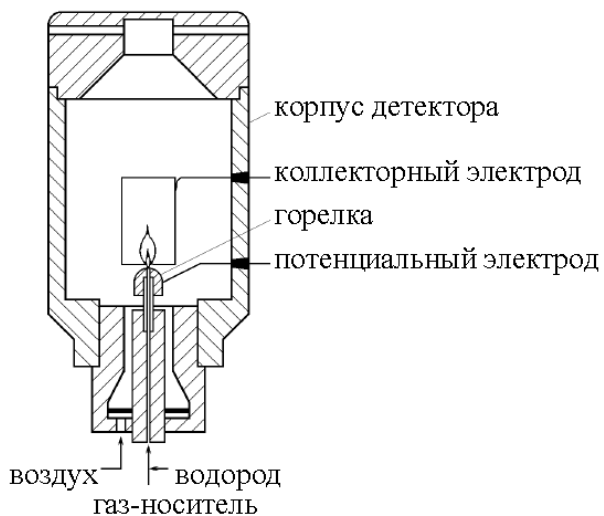
Горение чистого водорода  
(заряженные частицы не образуются)



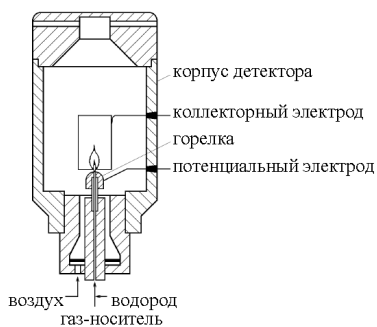
Приролиз органических соединений в пламени  
(горячая неокисляющая среда)



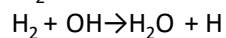
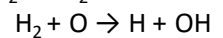
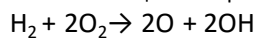
## ПЛАМЕННО-ИОНИЗАЦИОННЫЙ ДЕТЕКТОР



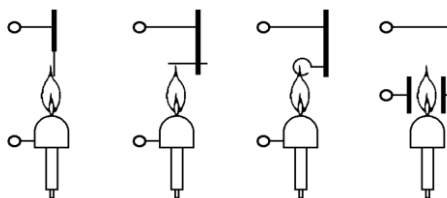
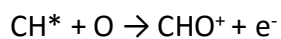
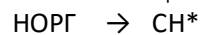
15



Горение чистого водорода  
(заряженные частицы не образуются)

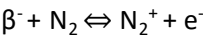
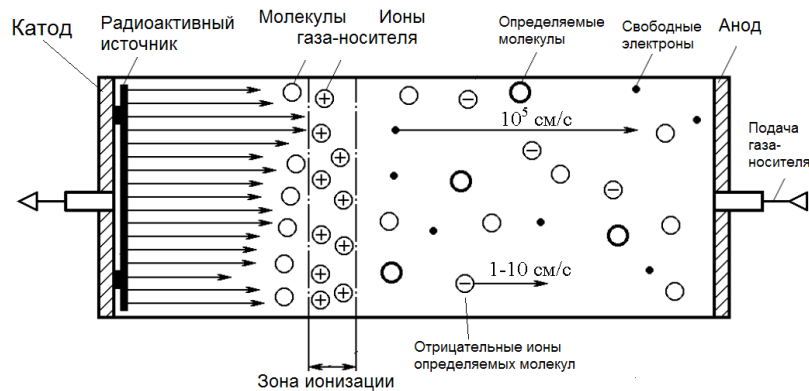


Приролиз органических соединений в пламени  
(горячая неокисляющая среда)



16

ДЕТЕКТОР ЭЛЕКТРОННОГО ЗАХВАТА



недиссоциативный захват электрона  $AB + e^- \rightarrow AB^-$ ;

диссоциативный захват электрона  $AB + e^- \rightarrow A^- + B^+$  ;  $AB + e^- \rightarrow A^- + B$

рекомбинация электронов с положительно заряженными молекулярными ионами газа-носителя  $N_2^+ + e^- \rightarrow N_2$   
и др. механизмы гибели заряженных частиц

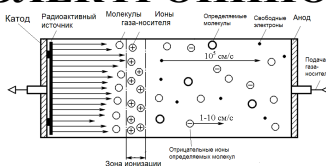
$$\frac{(I_0 - I_e)}{I_e} = K_{эз} C$$

$I_0$  и  $I_e$  – ток ионов в чистом газе-носителе и в присутствии присоединяющих электроны частиц  
 $K_{эз}$  – коэффициент захвата электронов данным соединением  
 $C$  – концентрация анализируемого соединения.

Величины относительных коэффициентов захвата электронов

| Класс соединений                                                               | $K_{эз}$ | Примеры                          |
|--------------------------------------------------------------------------------|----------|----------------------------------|
| алканы, алкены, алкины, алифатические эфиры и диены                            | 0.01     | гексан, бензол, бензиловый спирт |
| высокомолекулярные ароматические соединения                                    | 0.1      | нафталин                         |
| алифатические спирты, кетоны, альдегиды, амины, монофтор-, монохлорпроизводные | 1.0      | амиловый спирт метилэтилкетон    |
| енолы, монобром-, дихлор- и гексафторпроизводные                               | 10.0     | ацетофенон                       |
| трихлорпроизводные, ангидриды, алкилсвинец                                     | 300      | бензальдегид, тетраэтилсвинец    |
| фунгициды, пестициды                                                           | 1000     | линдан                           |
| 1.2-дикетоны, нитросоединения и органические соединения ртути                  | 10000    | динитробензол                    |

## ДЕТЕКТОР ЭЛЕКТРОННОГО ЗАХВАТА



Линейный диапазон детектирования детектора электронного захвата  $10^2 - 10^4$   
 Предел обнаружения по Линдану —  $10^{-14}$  г/с.

Детектор электронного захвата — потоковый детектор.

Детектор электронного захвата применяют для анализа:  
 токсичных соединений в воздухе; остаточных количеств пестицидов, гербицидов, инсектицидов и некоторых других соединений, вредных для человека, в крови, в пищевых продуктах, спиртных напитках, в биологии для анализа аминов, токсичных соединений, гормонов, канцерогенных веществ и метаболитов; летучих галогенсодержащих соединений в различных пробах; некоторых металлоорганических и неорганических соединений.

Недостатки детектора электронного захвата:

- чувствительность к изменению температуры;
- сравнительно невысокий верхний температурный предел использования;
- малая линейная область детектирования;
- возможность протекания следующих побочных процессов:
- возникновение пространственного заряда;
- возникновение контактных потенциалов;
- изменение энергии электронов в процессе детектирования, приводящих к искажению результатов анализа.

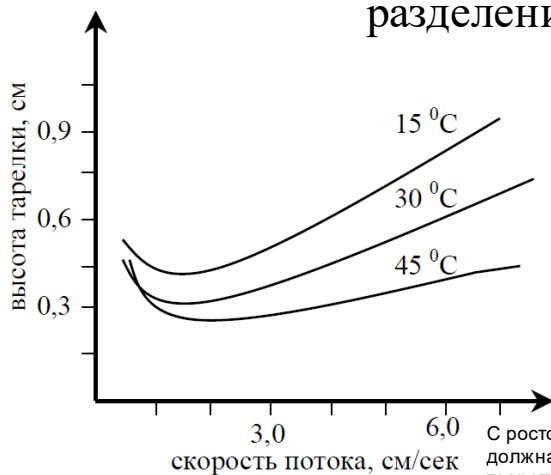
19

### Количественные измерения:

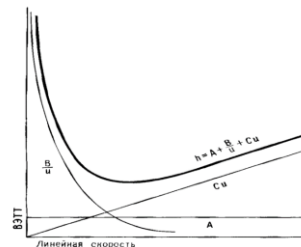
#### Определение концентраций исследуемых веществ

- - Метод **абсолютной калибровки**: ХГ сравнивается с ХГ этого же вещества;
- - Метод **внутренней нормализации**: сумма площадей всех пиков принимается за 100%;
- - Метод **внутреннего стандарта**: к навеске анализируемого вещества добавляется “внутренний стандарт”;
- - Метод **стандартной добавки**: помимо ХГ смеси с добавкой пишется ХГ смеси без добавки

## Влияние температуры на процесс разделения

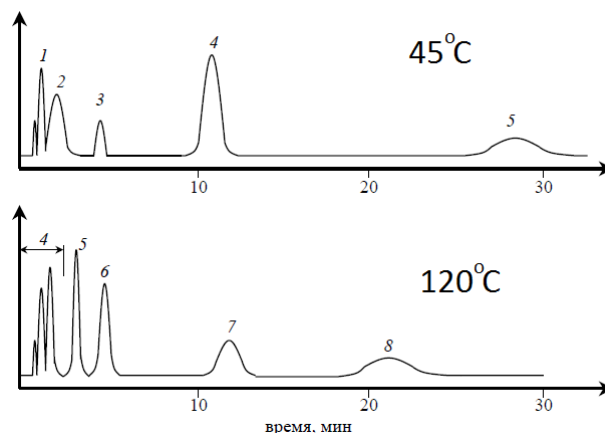


2,3 – диметилбутан  
Колонка: длина 1 м, сорбент  
содержит 39 % ПЭГ-400



С ростом температуры эффективность колонки должна улучшаться (высота, эквивалентная теоретической тарелке уменьшается), однако при любой постоянной температуре невозможно выбрать скорость потока газа-носителя такой, чтобы обеспечить максимальную эффективность колонки для всех разделяемых веществ, различающихся температурами кипения

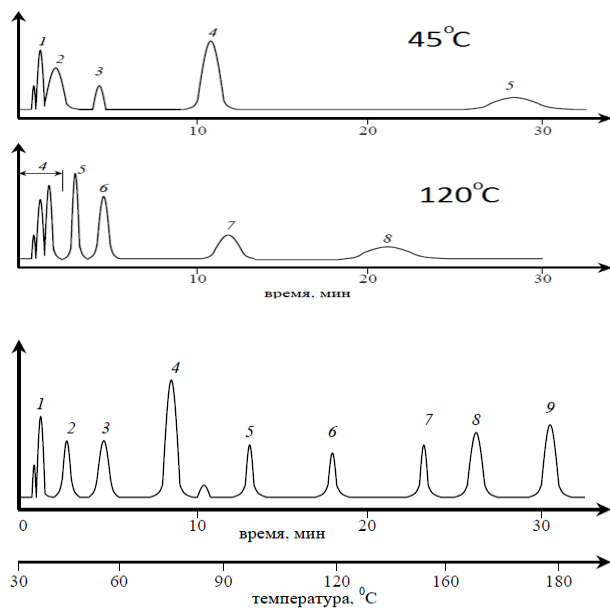
## Влияние температуры на разделение в ГХ Хроматограммы в изотермическом режиме



Смесь веществ с температурами кипения до 226 °C

Пики 1– 6 соответствуют н-алканам от пропана до октана;  
7 – бромформ; 8 – м-хлортолуол.

## Роль программируемого нагрева Хроматограммы в режиме линейного роста



Смесь веществ с температурами кипения до 226 °C

Пики 1– 6 соответствуют н-алканам от пропана до октана;  
7 – бромформ;  
8 – м-хлортолуол;  
9 – м-бромтолуол.

## Жидкостная хроматография



Подвижная фаза в жидкостной хроматографии:

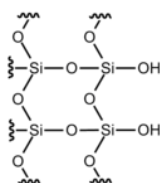
- 1) обеспечивает перенос десорбированных молекул по колонке (подобно подвижной фазе в газовой хроматографии);
- 2) регулирует константы равновесия, а, следовательно, и удерживание в результате взаимодействия с неподвижной фазой (сорбируясь на поверхности) и с молекулами разделяемых веществ.



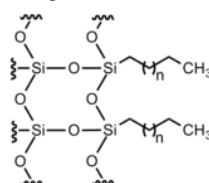
**Mobile Phase Chromatographic Polarity Spectrum**

**В нормально-фазовой ВЭЖХ** НФ – полярная (чаще всего силикагель), а ПФ – неполярная (гексан, либо смеси гексана с более полярными органическими растворителями – хлороформом, спиртами и т.д.). Удерживание веществ растет с увеличением их полярности. Разделения компонентов достигают, меняя элюирующую силу подвижной фазы, которая зависит от энергии взаимодействия компонентов ПФ с поверхностью НФ. В нормально-фазовой хроматографии элюирующая способность ПФ увеличивается с ростом ее полярности.

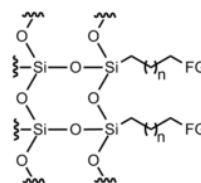
**В обращенно-фазовой хроматографии** неподвижная фаза – неполярная (гидрофобные силикагели с привитыми группами C8, C18); ПФ – полярная (смеси воды и полярных растворителей: ацетонитрила, метанола, тетрагидрофурана и др.). Удерживание веществ растет с увеличением их гидрофобности (неполярности). Наименьшей элюирующей способностью обладает вода, а для повышения элюирующей способности в ПФ вводят ацетонитрил, метанол и другие растворители. **Чем больше содержание органического растворителя, тем выше элюирующая способность подвижной фазы.**



Normal phase silica



Reversed phase silica

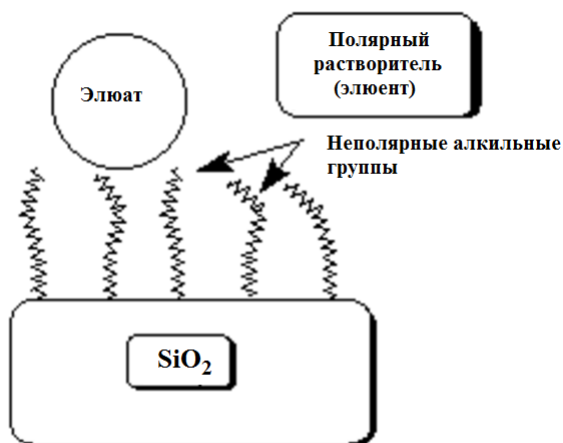


Functionalized silica





При **нормально-фазовом** варианте распределительной жидкостной хроматографии используются неполярный элюент и полярные группы, привитые к поверхности сорбента (чаще всего силикагеля). В качестве модификаторов поверхности силикагеля (привитых фаз) используются замещенные алкилхлорсиланы, содержащие полярные группы, такие как нитрильная, аминогруппа и т. д. Применение привитых фаз позволяет тонко управлять сорбционными свойствами поверхности неподвижной фазы и добиваться высокой эффективности разделения.



**Обращенно-фазовая** жидкостная хроматография основана на распределении компонентов смеси между полярным элюентом и неполярными группами (длинными алкильными цепочками), привитыми к поверхности сорбента

**Элюирующая способность подвижной фазы** – это ее способность вступать в межмолекулярные взаимодействия с разделяемыми соединениями и группами на поверхности сорбента. Эти взаимодействия способствуют десорбции разделяемых соединений, более быстрому перемещению хроматографических зон. Многократное увеличение гибкости метода ВЭЖХ достигается за счет применения в качестве подвижных фаз смесей растворителей.

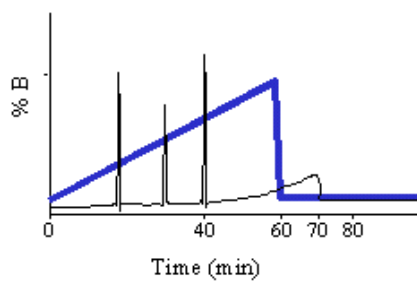
| Растворитель     | Предел прозрачности для УФ-света, нм | Элюирующая сила $\epsilon^0$ на силикагеле | Параметр Р' | Параметр S | Группа селективности |
|------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------|-------------|------------|----------------------|
| Ацетонитрил      | 190                                  | 0,50                                       | 5,8         | 3,1        | VI                   |
| Вода             | -                                    | 1.50                                       | 10,2        | 0,0        | VIII                 |
| Гексан           | 190                                  | 0,01                                       | 0,1         | -          | -                    |
| Диоксан          | 215                                  | 0,45                                       | 4,8         | 3,5        | VI                   |
| Метанол          | 205                                  | 0,7                                        | 5,1         | 3,0        | II                   |
| Метиленхлорид    | 233                                  | 0,32                                       | 3,1         | -          | V                    |
| Пропанол-2       | 205                                  | 0,55                                       | 3,9         | 4,2        | II                   |
| Тетрагидрофуран  | 212                                  | 0,44                                       | 4,0         | 4,4        | III                  |
| Толуол           | 285                                  | 0,1                                        | 2,4         | -          | VII                  |
| Триэтиламин      | -                                    | -                                          | 1,9         | -          | I                    |
| Уксусная кислота | -                                    | -                                          | 6,0         | -          | VI                   |
| Хлороформ        | 245                                  | 0,26                                       | 4,1         | -          | VIII                 |
| Этанол           | 210                                  | 0,6                                        | 4,3         | -3,6       | II                   |
| Этилацетат       | 256                                  | 0,38                                       | 4,4         | -          | VI                   |

- параметр адсорбционной силы растворителя  $\epsilon^0$ , который представляет собой относительную энергию взаимодействия молекул подвижной фазы с поверхностью адсорбента;
- параметр Р' (параметр Снайдера), который рассчитывают как сумму логарифмов коэффициентов распределения стандартных веществ (этанола, диоксана и нитрометана) между паровой фазой и испытуемым растворителем;
- параметр S, который отражает чувствительность величин удерживания к изменению состава подвижной фазы. Эта величина предложена для ОФ ВЭЖХ.

| Растворитель     | Предел прозрачности для УФ-света, нм | Элюирующая сила $\epsilon^0$ на силикагеле | Параметр Р' | Параметр S | Группа селективности |
|------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------|-------------|------------|----------------------|
| Ацетонитрил      | 190                                  | 0,50                                       | 5,8         | 3,1        | VI                   |
| Вода             | -                                    | 1.50                                       | 10.2        | 0,0        | VIII                 |
| Гексан           | 190                                  | 0,01                                       | 0,1         | -          | -                    |
| Диоксан          | 215                                  | 0,45                                       | 4,8         | 3,5        | VI                   |
| Метанол          | 205                                  | 0,7                                        | 5,1         | 3,0        | II                   |
| Метиленхлорид    | 233                                  | 0,32                                       | 3,1         | -          | V                    |
| Пропанол-2       | 205                                  | 0,55                                       | 3,9         | 4,2        | II                   |
| Тетрагидрофуран  | 212                                  | 0,44                                       | 4,0         | 4,4        | III                  |
| Толуол           | 285                                  | 0,1                                        | 2,4         | -          | VII                  |
| Триэтиламин      | -                                    | -                                          | 1,9         | -          | I                    |
| Уксусная кислота | -                                    | -                                          | 6,0         | -          | VI                   |
| Хлороформ        | 245                                  | 0,26                                       | 4,1         | -          | VIII                 |
| Этанол           | 210                                  | 0,6                                        | 4,3         | -3,6       | II                   |
| Этилацетат       | 256                                  | 0,38                                       | 4,4         | -          | VI                   |

- $\epsilon^0$  - энергию взаимодействия молекул подвижной фазы с поверхностью адсорбента;
- параметр Р' - который рассчитывают как сумму логарифмов коэффициентов распределения стандартных веществ (этанола, диоксана и нитрометана) между паровой фазой и испытуемым растворителем;
- параметр S - чувствительность величин удерживания к изменению состава подвижной фазы.

## Градиентное элюирование



■ The following diagram illustrates the cycle time parameters that are used in a typical gradient

