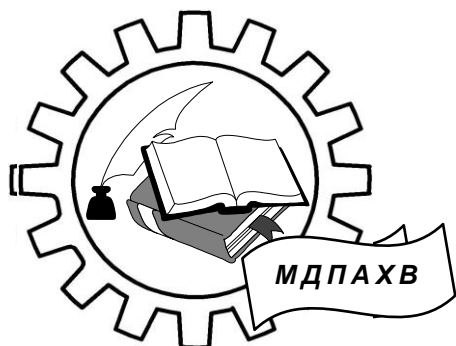


МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ТАВРІЙСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ДМИТРА МОТОРНОГО
МЕХАНІКО-ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ



Кафедра ОПХВ імені
професора Ф.Ю.Ялпачика

ХРОМАТОГРАФІЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ

Методичні вказівки до виконання лабораторної роботи з
дисципліни "Методи досліджень процесів і апаратів харчових
виробництв"

Спеціальність 133 "Галузеве машинобудування"
ОС "Доктор філософії"

**Мелітополь
2021**

Хроматографічні методи аналізу. Методичні вказівки для студентів, що навчаються за спеціальністю 133 Галузеве машинобудування, ОС Доктор філософії - Таврійський державний агротехнологічний університет імені Дмитра Моторного, 2021. – 20 с.

Розробники: д.т.н., проф. Самойчук К.О.
канд. техн. наук, асист. Ковальов О.О.

Рецензент:

Методичні вказівки затверджені на засіданні кафедри «Обладнання переробних і харчових виробництв імені професора Ф.Ю. Ялпачика»

Протокол № __ від «__» _____ 2021 року

Завідувач кафедри ОПХВ ім. проф. Ф.Ю. Ялпачика

проф. _____ Кирило САМОЙЧУК

“ ____ ” _____ 2021 року

Схвалено методичною комісією механіко-технологічного факультету зі спеціальності 133 «Галузеве машинобудування»

Протокол № __ від «__» _____ 2021 року

Голова доц. _____ Андрій СМЕЛОВ

“ ____ ” _____ 2021 року

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ

Тема: Хроматографічні методи аналізу

Мета: розширити і поглибити знання студентів із сутності, видам, області застосування і методикою проведення аналізу хроматографічних методів аналізу речовин.

Час: 4 год.

1.1 Порядок виконання роботи

- представити викладачу виконане завдання для самопідготовки.
- Умову завдання наведено у п. 1.2;
- проробити практичну частину;
 - виконати домашнє завдання.

1.2 Завдання для самопідготовки

У процесі підготовки до заняття студент в обов'язковому порядку повинен виконати наступні завдання:

- а) вивчити конспект лекцій;
- б) опрацювати рекомендовану літературу;
- в) занести у зошит для практичних робіт такі матеріали:
 - 1) дати визначення поняттям: абсорбція, десорбція, абсорбент, адсорбент, сорбент, сорбція.
 - 2) розкрити суть поняття "внутрішній стандарт" у методах досліджень процесів.
 - 3) яку мікроструктуру мають гази та рідина.

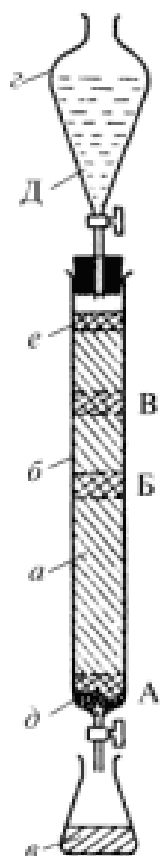
1.3 Практична частина

1.3.1 Хроматографія

Хроматографію як метод розділення вперше відкрив в 1903 р. російський вчений М. С. Цвет, застосувавши принцип адсорбції для аналізу хлорофілу.

Розділення Колір проводив в колонці, показаній на рисунку 1. Суміш речовин А, Б і В – природних пігментів, що спочатку знаходяться в зоні е, – розділяється при приливі відповідного розчинника Д (елюент) на окремі зони. Суміш речовин А, Би і В, що спочатку знаходяться в зоні е,

розділяється при елююванні розчинником Д (елюент) на окремі зони, рухомі з різними швидкостями до виходу з колонки



а – адсорбент;
б – колонка;
в – приймач;
г – ділильна воронка;
д – вата.

Рисунок.1 - Хроматографічне розділення пігментів хлорофілу М.С.Цветом:

Хроматографія заснована на розділенні складних сумішей на складені компоненти між двома фазами, що не змішуються, з яких одна рухома, а інша нерухома.

Істотною ознакою «хроматографічного процесу» є його динамічний характер. В ході процесу відбувається переміщення рухомої фази, що містить аналізовану пробу, через нерухома фазу. Причому взаємодія «сорбція—десорбція» повторюється багато разів, що обумовлює високу ефективність хроматографічного розділення.

Рухома фаза може бути рідкою, твердою або бути сумішшю рідкої або газоподібної фаз і, або переміщується по нерухомій фазі або пропускається через неї.

Хроматографічні методи класифікують відповідно до вибраного типу рухомої і нерухомої фаз.

Залежно від *агрегатного стану фаз* розрізняють твердорідинну (ТРХ), рідко-рідинну (РРХ), газо-адсорбційну (ГАХ), газорідинну (ГРХ) хроматографію. По характеру розділення хроматографічні методи діляться на 4 групи.

Адсорбційна хроматографія — за рахунок адсорбційної рівноваги між

нерухомою твердою і рухомою рідкою фазами. Вона заснована на сорбції розчиненої речовини поверхнею твердої фази.

У *розподільній хроматографії* речовини розподіляються між двома рідкими фазами, одна з яких нерухома.

Різновидами розподільною хроматографії є:

- на папері — за рахунок рівноважного розподілу між нерухомою рідкою і рухомою рідкою фазами;
- у тонкому шарі;
- газорідинна — за рахунок рівноважного розподілу між нерухомою рідкою і рухомою газовою фазами;
- іонообмінна — за рахунок рівноваги між іонообмінною смолою і електролітом (рухома фаза). Вона заснована на утворенні іонних з'єднань між розчиненими речовинами і зарядженими групами сорбенту.

Проникаюча хроматографія — за рахунок рівноваги між рідкою фазою на внутрішній і зовнішній поверхнях пористої структури або «молекулярного сита».

Афінна хроматографія — за рахунок рівноважного пов'язання макромолекули з молекулою малою, по відношенню до якої вона проявляє високу специфічність.

По вигляду *допоміжних засобів* розрізняють тонкошарову, паперову, газову, газорідинну і колоночну хроматографію.

1.3.2 Адсорбційна хроматографія

Розділення при *адсорбційній хроматографії* засноване на різній адсорбованості компонентів аналізованої суміші на адсорбенті. Ці властивості в основному визначаються молекулярною структурою з'єднань. Речовина з вищим коефіцієнтом розподілу пересувається по поверхні адсорбенту з більшою швидкістю. Якщо з'єднання забарвлені, то при їх розділенні можна бачити забарвлені смуги (рисунок 2).

Пробу, що розділяється, можна зібрати у вигляді фракцій пропусканням відповідного розчинника через колонку, а потім проводити аналіз.

Ефективність розділення багато в чому залежить від правильного вибору адсорбенту. Адсорбенти, вживані в колоночній хроматографії, перераховані нижче (таблиця 1).

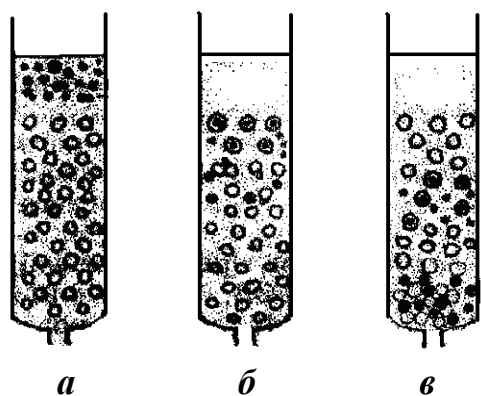


Рисунок 2 — Етапи хроматографічного розділення на колонці:

a — надходження суміші на стартову точку;

б—випередження одного компонента іншим;

в— поява на виході.

Таблиця 1 – Адсорбенти, вживані в колоночній хроматографії

Адсорбент	З'єднання, що розділяються
Силікагель	амінокислоти, вуглеводи, жирні кислоти, ліпіди, ефірні масла, неорганічні катіони і аніони, алкалоїди
Оксид алюмінію	вітаміни, амінокислоти, харчові фарбники феноли, алкалоїди, каротиноїди
Целюлоза	амінокислоти, харчові фарбники, нуклеотіди
Крохмаль	амінокислоти
Сефадекс	білки, амінокислоти
Целюлоза іонообмінна	нуклеотіди

1.3.3 Розподільна хроматографія

Розподільна хроматографія здійснюється на колонках (газорідинна і колоночна хроматографія) або на спеціальному хроматографічному папері (розподільна хроматографія на папері).

Хроматографічний папір володіє властивістю затримувати воду між волокнами. Цю воду можна розглядати як один з розчинників (нерухома фаза). Якщо папір помістити в шари нерідкого розчинника, то під впливом капілярних сил неводний розчинник (рухома фаза) переміщатиметься і молекули аналізованої речовини, заздалегідь нанесеної на хроматографічний папір, розподілятимуться між фазами відповідно до їх коефіцієнта розподілу R_f

$$R_f = \frac{\text{Відстань, пройдена розчиненим з'єднанням}}{\text{Відстань, пройдена фронтом розчинника}} \quad (1)$$

У ідеальному випадку R_f визначається тільки природою речовини, параметрами паперу і властивостями розчинників і не залежить від концентрації речовини і присутності інших компонентів.

По техніці виконання розрізняють наступні види хроматографії на папері: одновимірну, двовимірну і круг.

Перші два види можуть бути отримані у висхідному і низхідному потоці розчинників. Проте двовимірна хроматографія відкриває ширші можливості в розділенні складних сумішей, чим одновимірна.

До хроматографічного паперу і розчинників пред'являється певні вимоги: папір повинен бути однорідним по щільності, хімічно чистий і інертний по відношенню до компонентів, що розділяються, і рухомого розчинника; об'ємні співвідношення розчинників приведені нижче (таблиці 2).

Таблиця 2 – Об'ємні співвідношення розчинників

Речовина, що аналізується	Розчинники
Амінокислоти	н-бутанол – оцетова кислота – вода (40:10:50)
	н-бутанол — піридин — вода (33:33:33);
	метанол — піридин — вода (25:12:63)
Вуглеводи	н-бутанол — піридин — вода (50:28:22)
Хлорофіли і каротиноїди	1-Пропанол—петролейний ефір (4:96);
	хлороформ — петролейний ефір (30:70)

1.3.4 Тонкошарова хроматографія

Тонкошарова хроматографія – дуже зручний метод розділення невеликих кількостей багатоконпонентних сумішей речовин. Переваги цього методу перед паперовою хроматографією: швидкість розділення речовин, стійкість шарів до агресивних проявників і нагрівання і часто значно велика чутливість, чим на папері, що дозволяє виявити у разі застосування деяких реагентів нікчемно малі кількості речовин, що розділяються (від 0,1 до 0,005 мкг).

При використанні тонкошарової хроматографії (ТШХ) сорбент

розподіляють тонким шаром (0,25—5,00 мм) на скляні або металеві пластинки. Пробу у вигляді плями наносять за допомогою мікропіпетки на відстані приблизно 2,5 см від нижнього краю пластинки. Розділення проводять в скляній камері, на дно якої налитий розчинник шаром 2 см. Пластинку залишають в камері на певний час для урівноваження в закритому стані.

Для кількісного визначення застосовують тонкий шар силикагеля, нанесений на стандартні скляні пластинки; для здійснення якісного аналізу речовин – слайди (шар силикагеля, нанесений на наочне скло), а також силуфольні пластинки, що містять флуоресцентний індикатор.

Залежно від того, в якому напрямі поступає розчинник на пластинку, розрізняють методи висхідної, низхідної і горизонтальної хроматографії.

Для розділення речовин методом тонкошарової хроматографії застосовують як одновимірну, так і двовимірну хроматографію.

Для тонкошарової хроматографії необхідний сорбент, який не містить домішок важких металів і органічних речовин. Домішки заліза, присутній, зокрема, в силикагелі, каталізують окислення жирних кислот, викликають ізомеризацію органічних сполук.

Силикагель, вживаний в тонкошаровій хроматографії, повинен мати великопористу будову, розмір зерна – 150 – 200 мкм (розмір отвору сита – відповідно 0,10 — 0,07 мм). Для тонкошарової хроматографії найчастіше використовують готовий силікагель.

За кордоном деякі фірми («Дезага», «Гейдельберг», «Меркнув», «Дармштадт» і ін.) готують спеціально силікагель G, кизельгур Z і окисел алюмінію G з добавкою 5 % гіпсу і без добавки його.

Щоб отримати закріплений шар, сорбент закріплюють на скляній пластині фіксатором: гіпсом медичним, штукатурним, рисовим або маїсовим крохмалем.

Проби дослідних речовин (від 5 до 1000 мкг) наносять на відстані 1,5 см від нижнього краю пластинки суцільною смугою (крапля до краплі) або краплею. Для нанесення проби застосовують мікропіпетки або відкалібровані мікрошприці. При цьому шар сорбенту не повинен порушуватися.

Для розділення речовин зазвичай розчинник пропускають по пластинці з сорбентом один раз. Якщо в одній системі розчинників не всі речовини суміші розділяються однаково добре, то застосовують так зване ступінчасте,

або повторне, хроматографування в різних системах розчинників.

Спочатку застосовують систему, яка ділить менш полярні речовини. При цьому розчинник просувається вперед майже до кінця пластинки. Потім хроматограму сушать для видалення розчинника, і хроматографування проводять в іншій системі розчинників, яку пропускають на коротшу відстань, ніж першу.

Щоб виявити речовини, що поглинають ультрафіолетові промені в певній області спектру, часто застосовують шари сорбенту, що містять флуоресцюючу речовину, або обприскують хроматограму розчином флуоресціюючої речовини або речовин, що поглинає ультрафіолетові промені в певній області спектру, або користуються джерелами світла з максимумами випромінювання в області 254 і 365 нм. Для цього застосовують наступні прилади: ультрахімескоп, що дає максимум випромінювання в області 254 нм, і настільний ультрафіолетовий освітлювач з максимальним випромінюванням близько 365 нм.

Якщо оптичними методами не можна виявити речовини на хроматограмах, то застосовують хімічні методи прояву.

Для прояву парами йоду пластинку поміщають в ексикатор з кристалами йоду в розігрітій фарфоровій чашці. Через 10—15 мін пластинку виймають і залишають на повітрі до випаровування надлишку йоду. При цьому на світлому фоні утворюються забарвлені плями речовин (рисунок 3).

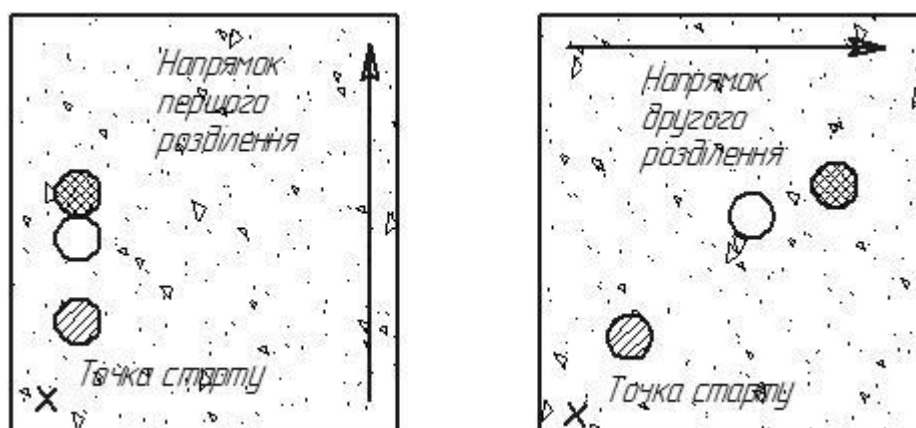


Рисунок 3- Двомірна хроматограма.

Метод рекомендується для визначення неграничних і інших з'єднань. Для прояву окремих плям найширше застосовують обприскування пластинки реактивами, що дають кольорові реакції з розділеними речовинами. Обприскування проводять в скляному ковпаку.

При ідентифікації речовин визначають пробіг досліджуваної речовини (фракції) від лінії старту. Це визначення не є достатнім, оскільки ***R_f*** характеризує лише відносне положення плями усередині хроматограми.

Для точної вказівки умов аналізу користуються величиною ***R_{gt}*** визначуваною як відношення відстані досліджуваної речовини від старту до відстані плями від старту.

Кількість речовини в плямі визначають за площею його поверхні, яка залежить від кількості нанесеної речовини, товщини і активності шаруючи, а також об'єму нанесеного розчину.

Проби аналізованих речовин на одній пластинці порівнюють з пробою еталонних зразків на іншій.

Для цього вимірюють площі плям. На підставі кількості узятої речовини і знайденої площі будують калібрувальну криву.

Для кількісного визначення розділених речовин застосовують також фотометричні методи.

При тонкошаровій хроматографії для розділення речовин застосовують ряд розчинників, приведених в таблиці 3.

1.3.5. Газова хроматографія

Одним з найбільш універсальних хроматографічних методів є газова хроматографія, що відрізняється від інших хроматографічних методів тим, що газ використовується як рухома фаза, а розчинена речовина переміщається по колонці у вигляді газу або пари, частково розчиненої або адсорбованої в нерухомій фазі. Цей метод має два варіанти: газо-адсорбційна і газорідинна хроматографія.

Метод газорідинної хроматографії (ГРХ) заснований на розподілі аналізованих з'єднань між рідкою і газовою фазами. Завдяки високій чутливості і швидкості розділення він використовується для кількісного і якісного аналізів. Принципова схема газорідинного хроматографа приведена на рисунку 4.

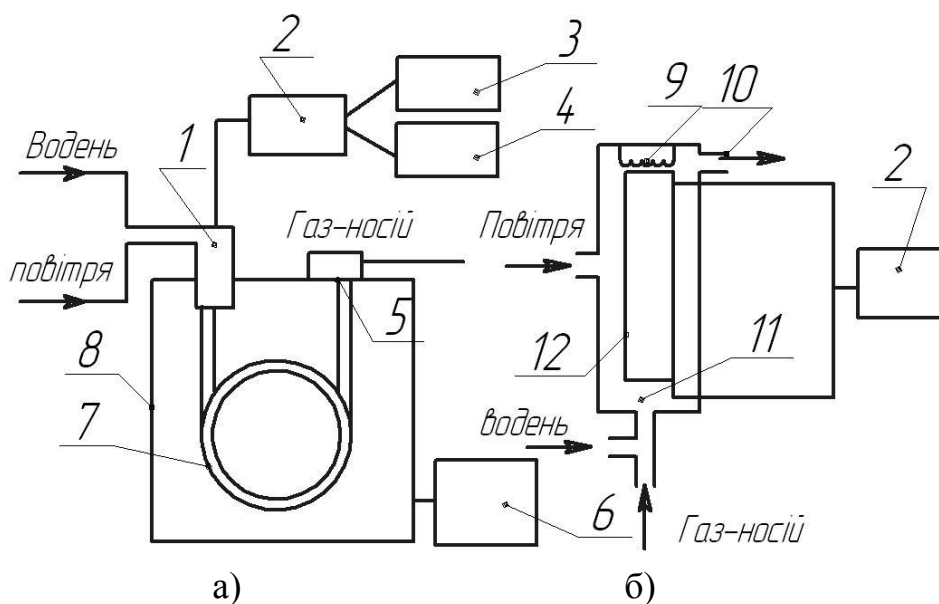
Хроматографи складаються з основних блоків: блок підготовки газів, термостат колонок (зокрема випарник), детектор і реєстратор (самописець) (рисунк 5).

Розділення компонентів суміші відбувається в хроматографічній колонці. Хроматографічні колонки бувають: набивні – довжина 1-3 м.

діаметр близько 4 мм, матеріал – скло, сталь і ін. і капілярні – довжина до 50 м, матеріалу-скла, кварцу.

Таблиця 3. Системи розчинників для тонкошарової хроматографії

Аналізовані з'єднання	Адсорбент	Розчинники
Амінокислоти	Силікагель	Етанол 96%-ний – вода (70:30)(70:30) Бутанол – оцтова кислота – вода (80:20:20)
Вуглеводи	Кизельгур	Етилацетат-1—пропанол (65:35) н-бутанол – ацетон – фосфатний буферН5 (40:50:10)
Нейтральні ліпіди	Силікагель	Петролейний ефір — диетиловий ефір — ацетон (90:10:1)
Фосфоліпіди	Селікагель	Хлороформ — метанол — вода (65:25:10)
Каротиноїди	Кизельгур	Петролейний ефір-1 — пропанол (99:1)



1 – детектор; 2 – підсилювач; 3 – самописець; 4 – інтегратор;
5 – місце введення проби; 6 – пристрій, регулюючий температуру термостата; 7 – хроматографічна колонка; 8 – термостат; 9 – запальний пристрій; 10 – вихідний отвір; 11 – полум'я; 12 – електрод.
Рисунок 4 – Принципова схема газорідинного хроматографа (а) і полум'яно – іонізаційного детектора (б).

Ефективність колонки (здатність розділяти складні суміші на окремі компоненти) залежить від розміру частинок, на які нанесена рідка фаза. Вона

зростає при використанні однорідних частинок малого розміру. Для стандартних набивних колонок оптимальний розмір частинок 0,12-0,17 мм. Необхідно враховувати їх близькість до аналізованих з'єднань.

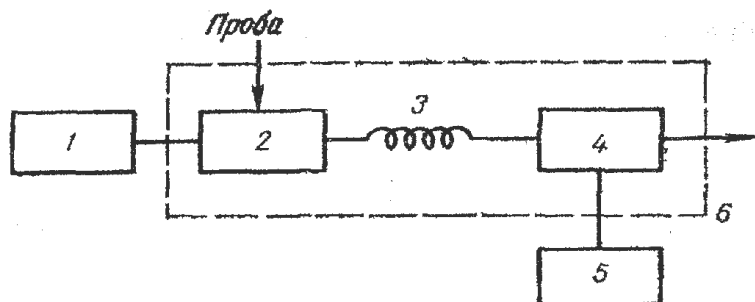


Рисунок 5 – Схема газового хроматографа:

1 – балон для газу-носія; 2 – випарник; 3 – колонка;
4 – детектор; 5 – самописець; 6 – термостат.

Для аналізу полярних компонентів застосовують полярні фази, для аналізу неполярних компонентів – менш полярні або повністю неполярні.

Неполярні фази для *газо-адсорбційної* хроматографії – силикагель, оксид алюмінію, цеоліти, полімерні сорбенти.

Нерухомі рідкі фази, що найбільш вживаються, для газорідинної хроматографії карбовакс, силіконові еластomers, апиезони, твердий носій – хроматів і ін. Рухомі фази – азот, гелій, аргон, пари води.

Розділення компонентів суміші засноване на різній сорбуємості або розчинності аналізованих компонентів при русі їх газоподібної суміші уздовж поверхні твердого тіла або нерухомої рідини в колонці.

При проходженні через колонку окремі компоненти уловлюються (адсорбуються) активним адсорбентом або розчиняються в плівці нерухомої рідкої фази, нанесеної на поверхню інертного носія.

В результаті неоднакової сорбуємості або різної взаємодії з рідкою фазою, компоненти суміші просуваються по колонці з різними швидкостями. Рух молекул речовин, що володіють вищою сорбуємістю в рідкій фазі, сповільнюється, а не адсорбовані або нерозчинні компоненти виходять з колонки першими.

Компоненти, що вимиваються з колонки, реєструються детектором, сигнали якого відтворюються на самописці у вигляді піків. По розташуванню піків судять про якісну характеристику речовин складної суміші, а за площею піків — про концентрацію компонентів у відсотках (рисунок 6).

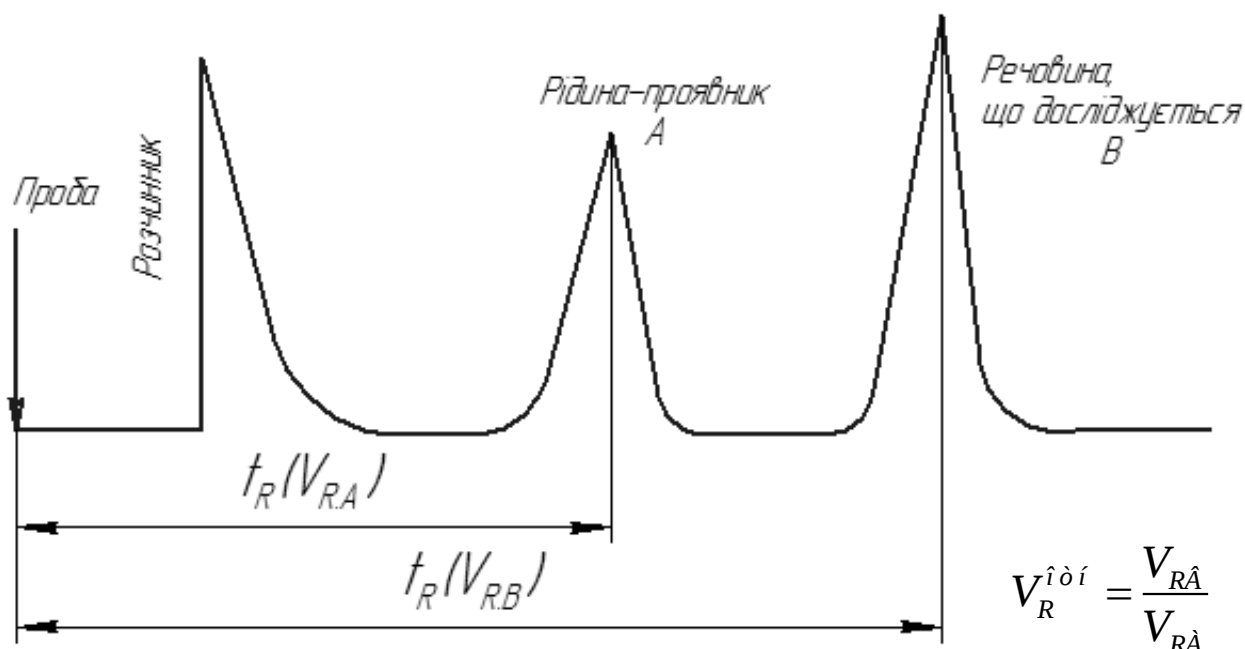


Рисунок 6 – Схема хроматограми двох компонентів:
a — речовина-свідок; *б* — досліджувана речовина.

Найбільш надійний спосіб — це ідентифікація по відносних величинах утримування (об'єму $V_R^{i \hat{o} i}$ або часу t_{omn} що є відношенням часу (або об'єму) утримування даного компоненту до відповідних показників «стандартної» речовини.

Час, відповідний періоду від моменту введення проби до моменту появи максимуму відповідного піку, називається *часом утримування* t_k . Часу утримування відповідає об'єм утримування V_k тобто об'єм газу, що пройшов через колонку з моменту введення проби до моменту появи максимуму піку.

Основна перевага даного виду хроматографії перед іншими методами полягає в тому, що завдяки великій швидкості десорбції компонентів, що розділяються, в газовому середовищі можна значно прискорити просування проявника (газу-носія) і тим самим прискорити процес розділення. Так, аналіз п'ятикомпонентної суміші летючих вуглеводнів, спиртів, жирних кислот, ефірів і так далі на газовому хроматографі з високочутливим детектором може бути проведений за 5 хв.

По отриманих хроматографічних кривих можна визначити кількісний склад аналізованої суміші шляхом вимірювання висоти максимумів піків, а також знайти твір добуток об'єму речовин, що розділяються, на висоту піків.

Концентрація компонентів пропорційна площі піку, тому кількісні вимірювання хроматограм пов'язані з визначенням площ піків, відповідних

індивідуальним компонентам.

Площі піку вимірюють: планіметричним методом; множенням висоти піку на його ширину, зміряну на середині висоти; зважуванням вирізаних з паперу піків і порівнянням з масою шматка того ж паперу відомої площі, або множенням половини висоти піку на його ширину; інтеграторами, безпосередньо приєднаними до самописців так, що площа вимірюється одночасно із записом хроматограми. Утримуваний об'єм розраховують по осі об'ємів від моменту введення порції аналізованої проби до моменту досягнення максимуму піку.

У стандартних умовах час проходження аналізованого з'єднання через колонку є постійною величиною і називається *часом утримання*. При кількісному аналізі в ГРХ використовують внутрішній стандарт — з'єднання, яке по фізичних властивостях дуже близько до досліджуваного, і при хроматографуванні рухається уздовж колонки.

Вітчизняна промисловість випускає хроматографи лабораторного і промислового типів, що володіють, чутливістю, для деяких типів $5 \cdot 10^{-14}$ моль/с.

Найбільш переважний метод газорідинної хроматографії для вивчення складу жирних кислот, ліпідів, вітамінів, тригліцеридів, амінокислот, органічних кислот, вуглеводів, алкалоїдів, аромату і інших летючих речовин харчових продуктів.

1.3.6 Детектори

Історія розвитку газової хроматографії – це історія появи і розвитку детекторів для хроматографії. Застосовуються декілька типів детекторів.

1. *Детектор теплопровідності* (ДТП) або катарометр. Принцип його дії заснований на відмінності теплопровідностей аналізованої речовини і газу-носія.

2. У детекторі *іонізаційно-полум'яному* (ДП) використовується залежність електропровідності простору між електродами від числа іонізованих частинок, що знаходяться в нім, які утворюються у водневому полум'ї під дією термічних і окислювальних процесів при попаданні в нього молекул аналізованої речовини. Вихідним сигналом детектора є значення сили струму, що протікає між електродами під дією, прикладеної до них напруги.

3. *Електронно-захватний детектор* (ЕЗД), або детектор по

захопленню електронів, як і ДП, заснований на залежності електропровідності проміжку між електродами і числом іонів, що знаходяться в цьому, проміжку, яке пов'язане з числом молекул, що поступають в детектор.

Проте механізм і спосіб утворення іонів принципово відрізняються від такого у разі ДП – іони утворюються в результаті взаємодії молекул аналізованої речовини і потоку електронів в камері детектора в результаті бета – розпаду радіоактивної речовини.

Необхідний дуже чистий газ-носій, наприклад азот, що не містить слідів кисню, який знижував би чутливість детектора ЕЗД.

Чутливість визначення залежить від наявності галоїдних, нитро- і інших груп, що взаємодіють з електронами (таблиця 4).

Таблиця 4 - Вплив галоїдів в молекулі на чутливість визначення.

Речовина	Чутливість, відн.од
Хлорбутан	1
Хлорпентан	21
Хлоргептан	1,5
Дихлорбутан	15
Дихлоретан	190
Бромбутан	280
Хлороформ	610
Дібромметан	1,1

4. *Детектор термоіонний (ДТІ)* за принципом дії аналогічний ДП. Проте додатково у водневе полум'я безперервно поступає потік іонів лужних металів (калій, натрій, цезій). В їх присутності різко зростає ефективність іонізації з'єднань, що містять азот, фосфор, хлор і ін. ДТІ застосовують для визначення фосфор і азотомістких з'єднань.

5. *Полум'яно-фотометричний детектор (ПФД)* селективний і володіє підвищеною чутливістю по відношенню до з'єднань, що містять сірку.

Якісний аналіз полягає в порівнянні періодів часу утримування даної речовини на хроматограмі від моменту введення проби у випарник до моменту, відповідного максимальному значенню сигналу для даного компонента.

1.3.7 Методи розрахунку

Кількісний аналіз заснований на прямо пропорційній залежності змісту речовини в пробі від площі піку даного компонента на хроматограмі. Розрахунок ведеться в основному трьома методами.

1. *Метод абсолютного калібрування* полягає в побудові графіків залежності висоти або площі піку X від вмісту компонентів в суміші. Розрахунок ведеться по наступних формулах

$$X = 1000 A/V \quad (2)$$

$$X = C/V_{20}, \quad (3)$$

де A - зміст речовини, визначений по графіку; мг.;

V - об'єм проби повітря, що вводиться у випарник хроматографа, мл.;

C - концентрація речовини, розрахована по графіку, міліграму/мл

V_{20} - об'єм проби повітря, вироблений в стандартних умовах.

2. *Метод внутрішнього стандарту* заснований на введенні в аналізовану суміш відомої кількості речовини, що приймається за стандарт. По своїх властивостях воно повинне бути достатнє близько до аналізованих з'єднань, але повністю відрізнятися від них по хроматограмі.

3 *Метод нормалізації площ піків*. При цьому суму площ всіх піків з урахуванням поправочних коефіцієнтів приймають за 100%. Для обчислення концентрації речовини (у об'ємних відсотках) необхідно його площу помножити на 100 і розділити на суму всіх площ. Метод простий, але може бути використаний лише тоді, коли всі компоненти відомі і повністю розділені.

Найбільш переважний метод газорідинної хроматографії для вивчення складу жирних кислот, ліпідів, вітамінів, тригліцеридів, амінокислот, органічних кислот, вуглеводів, алкалоїдів, аромату і інших летючих речовин харчових продуктів.

1.3.8 Високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ)

Високоефективна рідинна хроматографія – хроматографічний метод, що дозволяє розділити висококиплячі рідини і (або) тверді речовини, які

важко або недоцільно визначати методом газорідинної хроматографії, наприклад поліциклічні ароматичні вуглеводні, амінокислоти, поверхнево-активні речовини, пестициди, лікарські препарати, вуглеводи і ін.

Хроматограф складається з:

- 1) колонок з неіржавіючої сталі, товстостінного скла, танталу або міді; діаметр – 1-6 мм, довжина – від 10-15 см до 7м;
- 2) пористих носіїв: силикагель, хромосорб, і ін. з питомою площею більше 50 м/г і діаметром частинок 0,005-0,05 мм;
- 3) детекторів різних видів: рефрактометричний з чутливістю 10 г/мл, УФ детектор з чутливістю 10 і флуориметричний з чутливістю 10 г/мл, а також електрохімічний; рухомої фази ацетонитріл, метанол і ін.

1.3.9 Іонообмінна хроматографія

У основі іонообмінної хроматографії багатьох з'єднань (амінокислот, органічних кислот, сахаров і т. д.) лежить здібність до іонізації, що обумовлює сумарний позитивний або негативний заряд. Розділення речовин за допомогою цього виду хроматографії проводять на катіонних колонках, заповнених іонообмінною, – або аніонообмінною смолою (рисунок 6) Набряклу смолу поміщають в колонку і піддають регенерації, пропускаючи через неї розчин HCl з молярною концентрацією 1 моль/дм³ (для катіонообмінної) або NaOH тієї ж концентрації (для аніонообмінної).

Потім колонку промивають дистильованою водою, до повного видалення регенеруючої речовини, після чого вона готова до хроматографування. Цей принцип використовується у всіх промислових приладах — автоматичних амінокислотних аналізаторах. Для розділення іонообмінною хроматографією високомолекулярних з'єднань (білків нуклеотидів і ін.) як фільтр широко застосовується модифікована целюлоза.

1.3.10 Хроматомас-спектрометрія

Хроматомас-спектрометрія (ХМС) - це по суті газова хроматографія з мас-спектрометром як детектор (наприклад, МІ-1201). Даний метод дозволяє розшифровувати склад складних сумішей, що містять сотні не ідентифікованих компонентів, і визначати їх по одній пробі.

1.4 Контрольні питання

1. Поняття та суть хроматографії.
2. Класифікація хроматографічних методів досліджень.
3. Поняття та суть адсорбційної хроматографії.
4. Які адсорбенти вживаються в колоночній хроматографії?
5. Поняття та суть розподільної хроматографії.
6. Види хроматографії на папері.
7. Поняття та суть тонкошарової хроматографії.
8. Види тонкошарової хроматографії.
9. Що таке хроматограма і для чого вона використовується?
10. Поняття та суть газової хроматографії.
11. Види газової хроматографії.
12. Принцип дії газорідинного хроматографа.
13. Види та будова хроматографічних колонок.
14. Схема та будова газового хроматографа.
15. Типи та принцип дії детекторів хроматографії.
16. Методи розрахунку кількісних та якісних характеристик проби.
17. Поняття та суть високоефективної рідинної хроматографії.
18. Поняття та суть іонообмінної хроматографії.
19. Поняття та суть хроматомас-спектрометрії.

1.5 Домашнє завдання

Відповісти на наступні запитання:

- принципи та суть обміну іонами у рідинах;
- будова та принцип дії мас-спектрометра;
- будова судини Маріотта.

Рекомендована література

1. Айвазов Б.В. Основы газовой хроматографии / Айвазов Б.В. – М.: Высшая школа, 1977. – 182 с.
2. Базарова В.И. Исследование продовольственных товаров / В.И. Базарова, Л. А. Боровикова. – М.: Экономика, 1986. – 293 с.
3. Белокур И.П. Дефектология и неразрушающий контроль / И.П. Белокур. – Киев: Выща школа, 1990. – 206 с.
4. Ермаков И.Н. Методы и средства неразрушающего контроля качества / И.Н. Ермаков, Ю.Я. Останин – М.: Высш. шк., 1988. – 367с.

