

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ  
Государственное образовательное учреждение  
«Уральский государственный университет им. А.М. Горького»

Химический факультет  
Кафедра органической химии

Хроматографические методы анализа объектов окружающей среды

---

**Методические указания**

Руководитель ИОНЦ

Дата

Екатеринбург

2008

## I. Введение

Уникальная способность атома углерода к образованию прочных химических связей с элементами I-II периодов является основным фактором, благодаря которому становится возможным существование огромного количества различных типов органических молекул. В зависимости от типа углеродной цепи, наличия тех или иных функциональных групп, органические соединения относят к определённым классам. Каждый класс органических соединений обладает некоторыми специфическими свойствами, присущими именно этому классу. Например, амины отличаются от амидов большей на несколько порядков основностью, благодаря тому, что пара электронов атома азота в амидах, определяющая его основность, участвует в образовании сопряжённой системы; альдегиды обладают более низкой температурой кипения, чем соответствующие карбоновые кислоты, вследствие образования последними относительно устойчивых димеров; *пара*-изомеры бензоидных ароматических соединений как правило обладают более высокими температурами плавления и кипения, чем *орто*-изомеры, благодаря более сильному ван-дер-ваальсовому взаимодействию.

Когда требуется определить, к какому классу относится данное соединение, без определения особенностей его строения, то для этого достаточно провести анализ на функциональные группы. Однако, чаще всего, приходится сталкиваться с ситуациями, когда требуется определить точный состав анализируемого объекта или наличие в нём определённого вещества. Для решения таких задач используют физико-химические (инструментальные) методы, позволяющие определить в исследуемом объекте практически любое органическое соединение.

Хроматографические методы очень широко используются в анализе органических объектов, т. к. они позволяют разделять исключительно сложные многокомпонентные смеси. Хроматографический анализ в сочетании с масс-, ЯМР- или ИК-спектрометрическим определением даёт возможность за короткое время качественно и количественно проанализировать состав образца.

Курс состоит из 1 вводного занятия и 5 лабораторных работ, на которых студенты на практике знакомятся с различными подходами к анализу сложных объектов методом газо-жидкостной хроматографии.

## II. Содержание курса

**Вводное занятие.** Проводится инструктаж по технике безопасности, излагается материал по основам газо-жидкостной хроматографии и технике подготовки проб, необходимый для выполнения лабораторных работ по курсу.

**Лабораторная работа 1. Определение сложной смеси органических соединений.**

**Основные параметры настройки хроматографа.** Газ-носитель: гелий; скорость газаносителя: 25-30 см<sup>3</sup>/мин.; температура колонок: 110 °С для смеси бензол-хлорбензол-бромбензол, 190 °С для смеси ацетофенон - *n*-хлорацетофенон - *n*-бромацетофенон; 250 °С для смеси дипнон-анисовый альдегид-диэтилфталат; температура испарителя на 20 °С выше, чем температура колонок; температура детектора на 30 °С выше, чем температура колонок.

**Порядок выполнения работы.** Измеряются времена удерживания эталонных соединений. Готовятся образцы смесей, содержащих по два компонента из трёх, и вводится третий, неизвестный компонент. По сопоставлению времён удерживания определяются известные, и обнаруживается неизвестный компонент. По соотношению площадей хроматографических пиков определяются количественные соотношения компонентов для каждой выбранной смеси.

Измерения времён удерживания для эталонов и для компонентов смесей проводятся в трёх параллелях, и берётся среднее значение.

Измерения площадей хроматографических пиков также проводят в трёх параллелях и берут среднее значение.

## **Лабораторная работа 2. Определение жирнокислотного состава растительного масла.**

### **Оборудование и реактивы.**

Круглодонная колба, объёмом 100 мл;

Обратный холодильник;

Стакан, объёмом 50 мл;

Плоскодонная колба, объёмом 30 мл;

Стеклянная палочка;

Воронка для фильтрования;

Фильтровальная бумага;

Делительная воронка;

Кипелки;

Микрошприц;

Гидроксид калия: 1.5 г;

Карбонат натрия: 1.5 г;

Растительное масло: 5.0 г;

Олеиновая кислота: 3.0 г;

Этиловый спирт: 44 мл;

Иодистый метил: 4 мл;

**Основные параметры настройки хроматографа.** Газ-носитель: гелий; скорость газаносителя: 35-40 см<sup>3</sup>/мин.; температура колонок: 250-290 °С (используется набивная колонка с неподвижной фазой Apiezon-L или другой неполярной неподвижной фазой с верхним температурным пределом не менее 300 °С); температура испарителя: 260-300 °С; температура детектора 270-310 °С.

#### **Порядок выполнения работы.**

**1. Омыление растительного масла.** В круглодонную колбу, объёмом 100 мл, помещают 30 мл этанола и растворяют в нём 1,5 г гидроксида калия. В полученный раствор вносят 5,0 г растительного (напр., подсолнечного) масла, после чего реакционную колбу соединяют с обратным холодильником и реакционную смесь кипятят 1 ч. Затем обратный холодильник отделяют от колбы, а саму колбу устанавливают на высоте 10-12 см от нагревательной плитки так, чтобы исключить перегрев и при этом максимально отогнать этиловый спирт. Остывший остаток отделяют от колбы при помощи стеклянной палочки и переносят в стакан для испарения остатков этанола и воды, и карбонизации избытка гидроксида калия. Полученный таким образом омыленный продукт представляет собой почти бесцветный (с желтоватым оттенком) порошок, состоящий в основном из калиевых солей олеиновой, линолевой, пальмитиновой кислот, небольшого количества глицерина и карбоната калия.

#### **2. Получение пробы смеси метиловых эфиров высших алифатических карбоновых кислот.**

В плоскодонную колбу, объёмом 30 мл, вносят 3,0 г омыленного продукта, 7 мл этанола и 2 мл иодистого метила. Колбу плотно закрывают резиновой пробкой и реакционную массу встряхивают в течение 40 мин., после чего разбавляют 10 мл воды, и метиловые эфиры экстрагируют 5 мл гексана. Затем органический слой отделяют на делительной воронке и переносят в стакан. После испарения летучих компонентов проба (жёлтое масло) готова для хроматографического исследования.

**3. Получение пробы метилового эфира олеиновой кислоты (метилолеата).** В плоскодонную колбу, объёмом 30 мл вносят 7 мл этилового спирта, 3,0 г олеиновой кислоты (свежеперегнанная под вакуумом) и 1,5 г безводного карбоната натрия (или карбоната калия). Затем колбу плотно закрывают резиновой пробкой и реакционную смесь встряхивают в течение 20 мин., после чего добавляют 2 мл иодистого метила, и продолжают встряхивать ещё 40 мин. После этого смесь разбавляют 10 мл воды, метилолеат экстрагируют 5 мл гексана, экстракт отделяют на делительной воронке и

переносят в стакан. После испарения летучих компонентов проба (жёлтое масло) готова для хроматографического исследования.

**4. Хроматографическое исследование.** Вводят пробу метилолеата и измеряют время удерживания в трёх параллелях. Вводят пробу смеси метиловых эфиров, полученных из растительного масла, и измеряют времена удерживания для всех компонентов. Вычисляют средние значения времён удерживания и определяют положение пика метилолеата. Пик с меньшим значением времени удерживания соответствует метилпальмитату, а с большим – метиллинолеату. Температура колонок не должна быть выше 290 °С, т. к. при этом происходит неполное разделение метилолеата и метиллинолеата, и не должна быть ниже 230 °С, т. к. в этом случае времена удерживания могут достигать нескольких часов. По площадям пиков оценивают жирнокислотный состав растительного масла (основной компонент – олеиновая кислота).

**Лабораторная работа 3. Определение влияния заместителя в бензольном кольце на направление реакции электрофильного замещения на примере реакции нитрования толуола и этилбензола.**

**Оборудование и реактивы.**

Трёхгорлая круглодонная колба, объёмом 250 мл;

Обратный холодильник;

Капельная воронка;

Механическая мешалка с дротиком, затвором и якорем;

Колба Бунзена;

Воронка Бюхнера;

Водоструйный насос;

Фильтровальная бумага;

Стеклянная пробка для уплотнения осадка;

Термометр (интервал шкалы: -30 - +100 °С);

Микрошприц;

Этанол: 175 мл;

Толуол: 18 мл;

Этилбензол: 18 мл;

Четырёххлористый углерод: 30 мл;

Концентрированная серная кислота: 40 мл;

Концентрированная азотная кислота: 40 мл;

Карбонат натрия;

Охлаждающая баня.

**Основные параметры настройки хроматографа.** Газ-носитель: гелий; скорость газаносителя: 25-30 см<sup>3</sup>/мин.; температура колонок: 220 °С (используется набивная колонка с неподвижной фазой Arizeon-L или другой неполярной неподвижной фазой с верхним температурным пределом не менее 250 °С); температура испарителя: 240 °С; температура детектора 250 °С.

#### **Порядок выполнения работы.**

**1. Нитрование толуола.** В круглодонную трёхгорлую колбу, объёмом 250 мл, снабжённую механической мешалкой, обратным холодильником и капельной воронкой, помещают 20 мл конц. азотной кислоты, 30 мл конц. серной кислоты и к полученной смеси при интенсивном перемешивании и охлаждении на водяной бане прикапывают 18 мл толуола с такой скоростью, чтобы колба была слегка тёплой. После прибавления всего толуола реакционную смесь продолжают перемешивать ещё 30 мин при комнатной температуре, после чего нагревают до 58-60 °С (температуру контролируют, заменив капельную воронку, на термометр) и продолжают перемешивать при этой температуре 1 ч. После этого колбу охлаждают ледяной водой и реакционную массу разбавляют при перемешивании 150 мл воды. Водный слой декантируют от пастообразного осадка, который затем промывают холодной водой и смешивают с 150 мл этанола. Полученную смесь постепенно охлаждают до -20 °С на охлаждающей бане, выпавший твёрдый продукт, представляющий собой смесь *n*-нитротолуола и 2,4-динитротолуола, отфильтровывают, промывают 25 мл холодного этанола и высушивают. Приготовленная таким образом проба готова к хроматографическому исследованию. Фильтрат, состоящий в основном из *o*-нитротолуола и этилового спирта, переносят в стакан и оставляют в вытяжном шкафу для испарения летучих компонентов. Проба готова к хроматографическому исследованию. Обе пробы (твёрдая и жидкая) взвешивают.

**2. Нитрование этилбензола.** В круглодонную трёхгорлую колбу, объёмом 250 мл, снабжённую механической мешалкой, обратным холодильником и капельной воронкой, помещают 20 мл конц. азотной кислоты, 30 мл конц. серной кислоты и к полученной смеси при интенсивном перемешивании и охлаждении на водяной бане прикапывают 18 мл этилбензола с такой скоростью, чтобы колба была слегка тёплой. После прибавления всего этилбензола реакционную смесь продолжают перемешивать ещё 30 мин при комнатной температуре, после чего нагревают до 58-60 °С и продолжают перемешивать при этой температуре 1 ч. После этого содержимое колбы переносят в делительную воронку и продукты нитрования экстрагируют 30 мл

четырёххлористого углерода. Нижний органический слой дважды промывают 5% раствором карбоната натрия, затем отделяют и переносят в стакан. После испарения летучих компонентов (вытяжной шкаф) остаток (жёлтое масло) готов к хроматографическому исследованию.

**3. Хроматографическое исследование.** Измеряют времена удерживания эталонов (*o*-нитротолуол, *n*-нитротолуол, 2,4-динитротолуол) в трёх параллелях. Хроматографируют твёрдую и жидкую пробы продуктов нитрования толуола в трёх параллелях. Сравнивая средние значения времён удерживания, определяют моонитротолуолы и 2,4-динитротолуол (при усилении можно наблюдать пик *m*-нитротолуола). По соотношению площадей пиков определяют соотношение продуктов нитрования. Аналогичные измерения проводят для продуктов нитрования этилбензола. Делают вывод о влиянии заместителя в бензольном кольце на направление и глубину нитрования.

**Лабораторная работа 4. Определение термической устойчивости органического вещества на примере термической диссоциации 2-морфолино-2-(трифторметил)хроман-4-она.**

**Оборудование и реактивы.**

Пробирки;

Микрошприц;

2-Трифторметилхромон: 0.1 г;

Морфолин: 0.1 г;

2-Морфолино-2-(трифторметил)хроман-4-он: 0.1 г;

**Основные параметры настройки хроматографа.** Газ-носитель: гелий; скорость газаносителя: 25-30 см<sup>3</sup>/мин.; последовательность температур колонок: 200 °С, 220 °С, 240 °С, 260 °С, 280 °С, (используется набивная колонка с неподвижной фазой Apiezon-L или другой неполярной неподвижной фазой с верхним температурным пределом не менее 300 °С); последовательность температур испарителя: 205 °С, 225 °С, 245 °С, 265 °С, 285 °С; последовательность температур детектора такая же, как для испарителя.

**Порядок выполнения работы.**

Пробы 2-трифторметилхромона и 2-морфолино-2-(трифторметил)хроман-4-она готовят путём растворения 0.1 г каждого из соединений в 1 мл толуола. Хроматографирование пробы 2-морфолино-2-(трифторметил)хроман-4-она проводят по одной параллели для каждого из указанных температурных режимов. Наблюдают появление пиков 2-трифторметилхромона и морфолина при введении пробы 2-морфолино-2-(трифторметил)хроман-4-она и определяют изменение интенсивности

пиков в зависимости от температуры хроматографирования. Определение положения пиков 2-трифторметилхромона и морфолина проводят при хроматографировании эталонов при всех вышеуказанных температурных режимах и сопоставлении времён удерживания.

### **Лабораторная работа 5. Определение оптимального времени завершения реакции на примере нитрования 2-трифторметилхромона.**

#### **Оборудование и реактивы.**

Пробирка;

Стеклянная палочка;

Воронка для фильтрования;

Фильтровальная бумага;

Микрошприц;

Концентрированная азотная кислота: 1 мл;

Концентрированная серная кислота: 2 мл;

Хлороформ: 1 мл;

2-Трифторметилхромон: 0.3 г;

**Основные параметры настройки хроматографа.** Газ-носитель: гелий; скорость газаносителя: 25-30 см<sup>3</sup>/мин.; температура колонок: 260 °С (используется набивная колонка с неподвижной фазой Ariezon-L или другой неполярной неподвижной фазой с верхним температурным пределом не менее 300 °С); температура испарителя: 300 °С; температура детектора 300 °С.

#### **Порядок выполнения работы.**

**1. Нитрование 2-трифторметилхромона.** В пробирку помещают 1 мл конц. азотной кислоты и 2 мл конц. серной кислоты. К полученной смеси кислот добавляют 0.3 г 2-трифторметилхромона и реакцию перемешивают стеклянной палочкой до образования гомогенного раствора. Затем пробирку погружают в заранее приготовленную водяную баню (75 °С) и выдерживают при этой температуре 5 мин., после чего сразу охлаждают холодной водой до 0-+5 °С. После этого реакцию смесь разбавляют 10 мл холодной воды и перемешивают стеклянной палочкой до образования однородного осадка, который фильтруют, промывают водой, высушивают и растворяют в 1 мл хлороформа. Полученная таким образом проба готова для хроматографического исследования.

**2. Хроматографическое исследование.** Пробы эталонов 2-трифторметилхромона и 6-нитро-2-трифторметилхромона готовят путём растворения по 0.1 г каждого из веществ в 1 мл хлороформа. Полученные пробы хроматографируют в трёх параллелях и

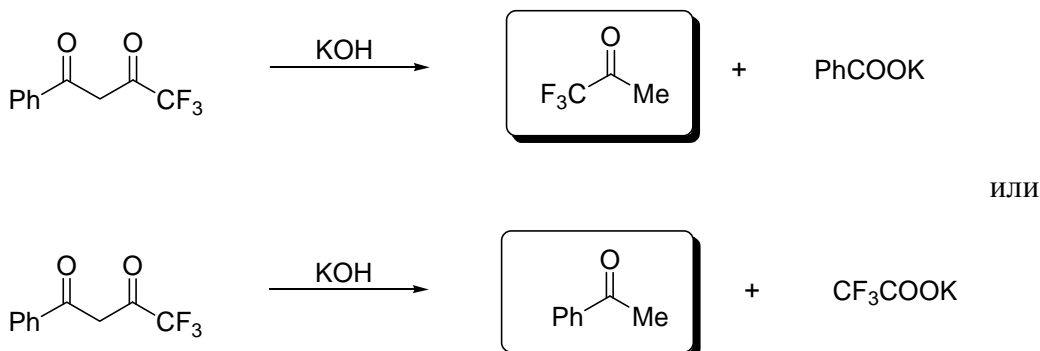


определяют среднее время удерживания для каждого из компонентов. Пробу, полученную после нитрования 2-трифторметилхромона хроматографируют в трёх параллелях в тех же температурных условиях, что и эталоны, рассчитывают средние времена удерживания для наблюдаемых компонентов и относят эти компоненты к 2-трифторметилхромону и 6-нитро-2-трифторметилхромону путём сопоставления. По соотношению площадей пиков определяют степень конверсии 2-трифторметилхромона в 6-нитро-2-трифторметилхромон за 5 мин., после чего рассчитывают время, необходимое для степени конверсии, равной 99%, принимая его за оптимальное время проведения реакции.

**Лабораторная работа 6. Изучение реакции кетонного расщепления с использованием динитрофенилгидразинового метода.**

Задача: 1) определить, какой кетон образуется в результате реакции кетонного расщепления 1-фенил-4,4,4-трифторбутан-1,3-диона; 2) определить выход кетона в результате этой реакции.

Для 1-фенил-4,4,4-трифторбутан-1,3-диона можно предположить существование двух направлений реакции кетонного расщепления:



Какой из путей кетонного расщепления реализуется на самом деле, можно определить по образующемуся кетону, который определяют с помощью динитрофенилгидразинового метода.

Навеску 0.0800-0.1000 г 1-фенил-4,4,4-трифторбутан-1,3-диона помещают на дно пробирки и добавляют раствор 0.07-0.09 г гидроксида калия в 1 мл этанола. Смесь нагревают в течение 1 ч при слабом кипении, после чего пробу разбавляют 3 мл метанола и переносят в стакан; пробирку ополаскивают ещё 3 мл метанола и растворы объединяют. К раствору прибавляют 50 мл раствора ДНФГ и смесь оставляют на 30 мин., после чего нагревают на плитке, постоянно перемешивая, чтобы скоагулировать осадок. После осветления жидкости осадок отфильтровывают через предварительно высушенный в сушильном шкафу при 110 °С и взвешенный бумажный фильтр, фильтр с осадком сушат при 110 °С, а затем взвешивают. По массе выделенного гидразона

определяют выход реакции кетонного расщепления дикетона, а по т.пл. идентифицируют 2,4-динитрофенилгидразон того кетона, который образуется в данной реакции.

Известно, что т.пл. 2,4-динитрофенилгидразона трифторацетона 137-138 °С, а 2,4-динитрофенилгидразона ацетофенона – 237-240 °С.

#### I. Распределение часов курса по темам и видам работ

№ п/п	Тема, раздел	Учебный план, часов			
		Аудиторные занятия		Самостоятельная работа	Итого по темам
		лекции	практические		
1	Вводное занятие	4		2	6
2	Лабораторная работа 1		4	2	6
3	Лабораторная работа 2		12	2	14
4	Лабораторная работа 3		12	2	14
5	Лабораторная работа 4		4	2	6
6	Лабораторная работа 5		4	2	6
	Всего	4	36	12	52

#### IV. Форма итогового контроля

Зачёт 8 семестр

#### V. Учебно-методическое обеспечение курса

Рекомендуемая литература (основная)

1. Сакодынский К. И., Бражников В. В., Волков С. А., Зельвенский В. Ю., Ганкина Э. С., Шатц В. Д. Аналитическая хроматография. М., «Химия», 1993, 463 с.
2. Рудаков О. Б., Востров И. А., Фёдоров С. В., Филиппов А. А., Селеменв В. Ф., Приданцев А. А. Спутник хроматографиста. Воронеж, «Водолей», 2004, 528 с.
3. Краснов Е. А., Березовская Т. П., Алексеюк Н. В., Белоусова Н. И., Демиденко Л. А., Дудко В. В., Дмитрук С. Е., Калинкина Г. И., Романова Г. А. Выделение и анализ природных биологически активных веществ. Томск: Изд-во Том. ун-та., 1987, 184 с.
4. Сониясси Р., Сандра П., Шлетт К. Анализ воды: органические микропримеси.

Практическое руководство. Пер. с англ. Под ред. д.х.н., проф. Исидорова В. А.,  
СПб: Изд-во «Теза», 2000, 248 с.

5. Другов Ю. С., Березкин В. Г. Газохроматографический анализ загрязненного воздуха, М.: «Химия», 1981, 128 с.
6. Рудаков О. Б., Востров И. А., Федоров С. В., Филиппов А. А., Селеменев В. Ф., Приданцев А. А. Спутник хроматографиста, Воронеж: Изд-во «водолей», 2004, 528 с.