

**МИНОБРНАУКИ РОССИИ**

**Государственное образовательное учреждение высшего  
профессионального образования  
"НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ"  
Факультет естественных наук**

Кафедра: аналитическая химия

Дипломная работа

**РАЗРАБОТКА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ  
ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНИОНОВ НА АНИОНИТАХ  
С ВЫСОКОЙ ЕМКОСТЬЮ**

Мещанова Анна Васильевна

Научный руководитель  
д.х.н. Барам Григорий Иосифович

---

Новосибирск – 2011

## СОДЕРЖАНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ.....	3
2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
2.1. "Классическая" ионная хроматография.....	4
2.2. Ионная хроматография без подавительной колонки.....	5
2.3. Хроматография анионов на колонках с обращенной фазой.....	6
2.3.1. Использование модифицированной обращенной фазы.....	6
2.3.2. Ион-парная ВЭЖХ.....	7
2.4. Ионообменная хроматография анионов, поглощающих УФ-излучение.....	7
2.5. "Непрямое" фотометрическое детектирование.....	9
2.6. Заключение.....	9
3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	
3.1. Материалы.....	11
3.2. Оборудование.....	11
3.3. Методы.....	12
3.3.1. Оценка погрешности приготовления растворов.....	12
3.3.2. Приготовление растворов.....	12
3.3.3. Приготовление образцов.....	14
3.3.4. Методика определения обменной емкости сорбента Диасфер 250-ПА.....	16
3.3.5. Методика упаковки хроматографической колонки сорбентом Диасфер 250-ПА.....	16
3.3.6. Определение свободного объема колонки.....	17
3.3.7. Запись спектров УФ-поглощающих анионов.....	17
3.3.8. Хроматографическое определение неорганических анионов.....	17
3.3.9. Хроматография мононуклеотидов.....	18
3.3.10. Хроматографическое определение сорбат-аниона.....	18
3.3.11. Хроматографическое определение анионов моно-, ди- и трикарбоновых кислот.....	18
3.3.12. Хроматографическое определение анионов ароматических карбоновых кислот.....	19
4. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	
4.1. Введение.....	20
4.2. Определение обменной емкости сорбента Диасфер 250-ПА.....	21
4.3. Определение свободного объема хроматографической колонки.....	22
4.4. Анализ неорганических анионов.....	23
4.4.1. Выбор условий хроматографического анализа.....	23
4.4.2. Применение колонки с анионитом "Диасфер-250-ПА" для решения практических задач.....	30
4.5. Влияние распределительного механизма удерживания.....	33
4.6. Хроматографический анализ моно-, ди- и трикарбоновых кислот.....	36
4.7. Хроматографическое определение анионов ароматических кислот.....	40
5. ВЫВОДЫ.....	44
6. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	45

## 1. ВВЕДЕНИЕ

Определение неорганических анионов в водных растворах является важной и разноплановой проблемой в аналитической химии, о чем свидетельствует сам факт публикации в последние годы объемных монографий, посвященных этому вопросу [1-3]. Для решения этой проблемы привлекаются самые разные методы, выбор которых зависит, как правило, от таких условий, как:

- объект исследования;
- набор определяемых анионов;
- диапазон определяемых концентраций;
- погрешность определяемых концентраций;
- скорость выполнения анализа;
- стоимость анализа и пр.

К наиболее востребованным методам в современной аналитической химии неорганических анионов в силу многих причин относятся ионная хроматография (ИХ) и капиллярный электрофорез (КЭ). В наши задачи не входит детальное сравнение этих двух методов. Отметим лишь то, что для реализации КЭ требуется существенно менее сложная и менее дорогая аппаратура, чем ионные хроматографы, но КЭ в общем случае заметно уступает хроматографии в концентрационной чувствительности и в точности определения концентраций.

Среди хроматографических методов определения анионов наряду с "классической" ионной хроматографией существуют и другие варианты анализа, которые по своим возможностям в некоторых случаях превосходят ИХ. Далее мы рассмотрим основные хроматографические варианты определения неорганических анионов и сравним их возможности в решении типичных аналитических задач.

## 2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 2.1. "Классическая" ионная хроматография

"Классическая" ионная хроматография появилась в 1975 г. [4] в результате развития высокоэффективной ионообменной хроматографии (ИОХ). Разделение ионов в ИХ осуществляется на ионообменных адсорбентах (смолах), емкость которых во много раз меньше емкости обычных ионообменников. Схема "классического" ионообменного хроматографа приведена на рис. 1. Он отличается от привычного хроматографа с кондуктометрическим детектором наличием подавительной колонки **5**, на которой происходит количественная нейтрализация щелочного или кислого элюента, в результате которой измерение электропроводности анализируемых ионов производится в чистой воде, т.е. в отсутствие какой-либо фоновой проводимости. Очевидно, что при такой конструкции достигается максимальная чувствительность анализа, на которую только может быть способен кондуктометр.

В настоящее время ионные хроматографы с "подавлением электропроводности" широко применяются для определения анионов в самых разных областях науки и практики. Наиболее известными производителями этих хроматографов являются фирмы Dionex Corp. (США) и Metrohm Ltd. (Швейцария). В Российской Федерации ионные хроматографы производит ЗАО "Аквилон" (Москва).

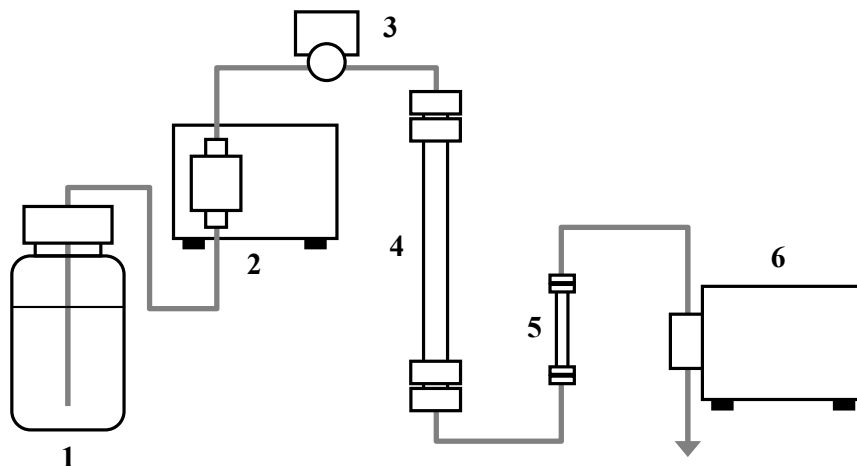
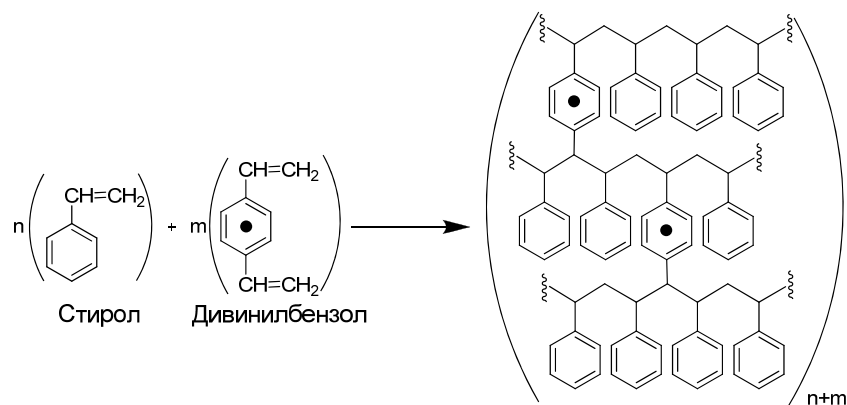


Рис. 1. Схема ионного хроматографа для определения анионов.

**1-** 5÷50 мМ водный раствор NaOH или  $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ ; **2-** насос; **3-** инжектор; **4-** разделительная колонка с анионообменником низкой емкости в  $\text{OH}^-$ -форме; **5-** подавительная колонка с катионообменником высокой емкости в  $\text{H}^+$ -форме; **6-** кондуктометрический детектор.

Стационарные фазы, используемые в ионной хроматографии, чаще всего представляют собой зерна полистирола, поперечно сшитого молекулами дивинилбензола (ДВБ). Схема синтеза подобных сорбентов показана ниже:



В некоторых случаях используют также и другие полимерные матрицы, например, матрицы на основе метакрилата [5]. Контролируя процесс полимеризации, можно контролировать степень сшитости полимера, что в свою очередь влияет на емкость сорбента [6].

Для придания полимерной смоле анионообменных свойств стационарную фазу модифицируют с помощью различных функциональных групп. Такими модификаторами являются, например, четвертичные амины (рис. 2).

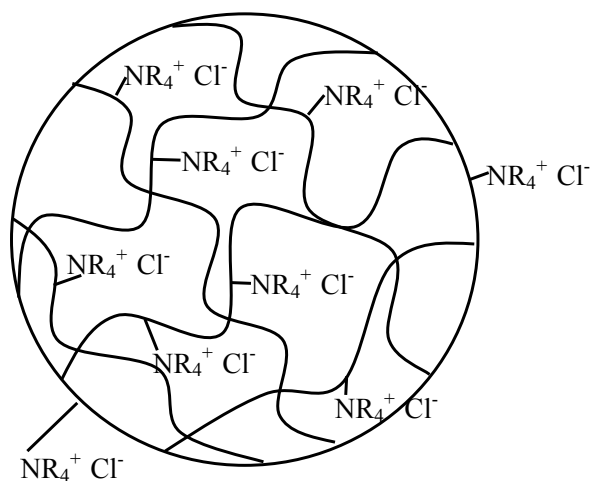


Рис. 2. Схематичное представление анионообменного сорбента. Показана положительно заряженная матрица и анионы, способные к обмену.

Исследования полимерных стационарных фаз показали, что подобные сорбенты обладают достаточной химической стабильностью при температурах до  $80^{\circ}\text{C}$  и  $\text{pH}=0\div 14$  [7, 8].

## 2.2. Ионная хроматография без подавительной колонки

Очевидными недостатками "классической" ионной хроматографии являются:

- необходимость постоянной регенерации подавительной колонки;
- размывание отдельных зон пробы при прохождении через подавительную колонку;

- невозможность анализа анионов очень слабых кислот вследствие низкой электропроводности последних;
- невозможность определения  $\text{CO}_3^{2-}$  при использовании элюентов, характерных для ионной хроматографии.

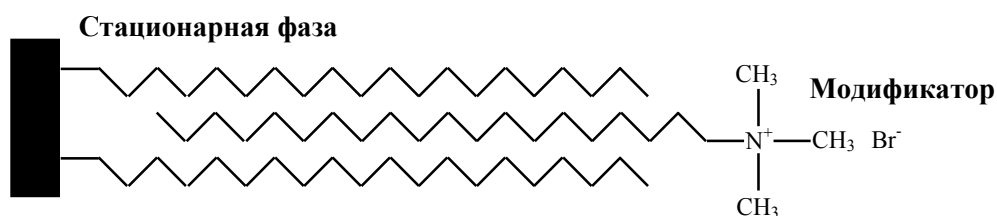
В случае отказа от использования подавительных колонок необходимо уменьшить фоновую электропроводность. Для этого было предложено работать с менее концентрированными элюентами. В этом случае стационарная фаза должна обладать большей селективностью по отношению к элюирующему аниону. В одной из первых работ [9], посвященных ионной хроматографии без подавления был использован  $10^{-4}$  М элюент. При этом проводимость элюента была настолько низкой, что подавительная колонка не требовалась и ионы детектировались с помощью простого кондуктометра.

## 2.3. Хроматография анионов на колонках с обращенной фазой

### 2.3.1. Использование модифицированной обращенной фазы

Для разделения анионов широко используются силикагельные сорбенты, разработанные для обращено-фазовой (ОФ) хроматографии. В отличие от органических полимеров, стационарные фазы на основе силикагеля обладают лучшей механической прочностью и хроматографической эффективностью [8]. Число теоретических тарелок для таких сорбентов может превышать 20000.

В чистом виде ОФ-сорбенты не могут быть использованы для разделения анионов в виду отсутствия ионогенных групп. Приготовление анионообменников на основе этих стационарных фаз проводят путем адсорбции на их поверхности модификаторов. Чаще всего в качестве модификаторов используют гидрофобные четвертичные аммониевые соли [10-13]. Например, авторами [14] в качестве модифицирующего раствора был использован октадецилтриметиламмоний бромид. Схематично стационарную фазу после модификации можно представить следующим образом:



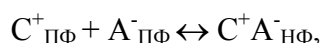
Использование модифицированного таким образом сорбента позволило разделить такие неорганические анионы, как гидрокарбонат, хлорид, нитрат, нитрит, бромид, фосфат и сульфат.

Основным недостатком такого типа модификации сорбента является недостаточная прочность гидрофобных взаимодействий. В процессе продолжительного использования

подобных колонок происходит вымывание модифицирующего агента, что приводит к понижению обменной емкости стационарной фазы. Для решения этой проблемы требуется периодическая регенерация поверхности сорбента.

### 2.3.2. Ион-парная ВЭЖХ

Другим вариантом использования ОФ-сорбентов является так называемая ион-парная хроматография. В этом случае к элюенту добавляется органическое вещество с одной стороны, способное образовывать ионные пары с противоположно-заряженным компонентом пробы (ион-парный агент), а с другой стороны, взаимодействующее по гидрофобному механизму с поверхностью сорбента. Механизм взаимодействия может быть описан следующим уравнением [15]:



где  $C_{\text{ПФ}}^{+}$  – ион-парный агент в подвижной фазе,  $A_{\text{ПФ}}^{-}$  – анализируемый анион в подвижной фазе,  $C^{+}A_{\text{НФ}}^{-}$  – ионная пара в неподвижной фазе.

Существует 2 теории, объясняющие механизм разделения анионов в ион-парной хроматографии [16]. Согласно первой теории разделение происходит аналогично ОФ-хроматографии, и ионная пара рассматривается как недиссоциированное гидрофобное вещество. Вторая теория утверждает, что в процессе анализа происходит адсорбция ион-парного агента на поверхности стационарной фазы. В этом случае разделение анионов происходит согласно принципам ионообменной хроматографии. Очевидно, что меняя силу элюента, можно добиться протекания процесса разделения по одному из этих механизмов.

В общем случае главным недостатком стационарных фаз на основе силикагеля является неширокий диапазон допустимых рН элюента (рН=2-8), что сужает круг используемых элюентов и анализируемых ионов. Также при работе с сорбентами этого типа необходимо присутствие органического компонента в составе подвижной фазы, иначе происходит растворение силикагельной матрицы.

## 2.4. Ионообменная хроматография анионов, поглощающих

### УФ-излучение

Детектор по электропроводности является практически универсальным детектором, однако требует особых мер по снижению фоновой проводимости элюента, которые были рассмотрены выше. В случаях, когда невозможно устранить недостатки кондуктометрического детектора, целесообразно использовать другие виды детектирования. Одним из лучших конкурентов кондуктометра является УФ-детектор.

Детекторы такого типа характеризуются стабильной нулевой линией и хорошей чувствительностью. Круг анионов, способных поглощать ультрафиолетовый свет, ограничен, что позволяет их избирательное определение [17].

Таблица 1. Перечень некоторых неорганических анионов, поглощающих УФ-излучение.

Анион	Длина волны детектирования, нм
$\text{N}_3^-$	195
$\text{BrO}_3^-$	195-210
$\text{Br}^-$	195-214
$\text{CrO}_4^{2-}$	365
$\Gamma^-$	210-235
$\text{IO}_3^-$	195-210
$\text{NO}_3^-$	200-214
$\text{NO}_2^-$	200-214
$\text{SCN}^-$	195-205
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	205

Для прямой детекции этих анионов можно использовать только те элюенты, которые не имеют собственного поглощения в интересующей области УФ-спектра. В этом случае чаще всего используются элюенты, содержащие неорганические анионы: перхлорат, фосфат, борат, сульфат, фторид [18]. Типичная хроматограмма смеси неорганических УФ-поглощающих анионов приведена на рис 3.

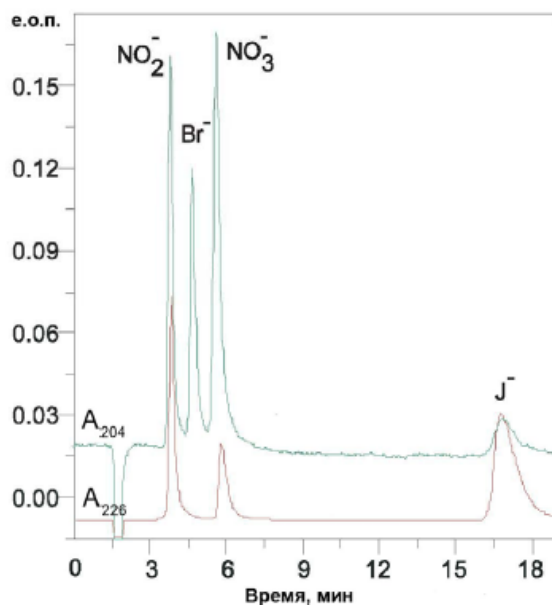


Рис. 3. Хроматограмма смеси анионов. Объем пробы 10 мкл, концентрация каждого аниона 2,5 мг/л. Сорбент: Prontosil C18-AQ, модифицированный октадецилтриметиламмоний бромидом. Элюент: 0,5M NaF.



## 2.5. "Непрямое" фотометрическое детектирование

Для определения непоглощающих УФ-излучение анионов можно использовать методический прием, который получил название "непрямое" фотометрирование (indirect photometry). Принцип такого метода детектирования заключается в том, что в качестве элюента используется раствор, обладающий как можно более высоким УФ-поглощением. В тот момент, когда непоглощающий анион пробы достигает детектора, наблюдается резкое уменьшение фонового поглощения. На хроматограмме это отражается в виде отрицательного пика. Используя компьютерные программы, хроматограмму можно привести к привычному виду, "перевернув" пики.

Впервые метод "непрямой" детекции был использован в 1978 году [19], в качестве элюента применялся  $\text{NaNO}_3$ . В настоящее время в качестве элюентов используют такие анионы, как фталат и бифталат [20], молибдат [21], пиромеллитат [22, 23]. Пример разделения с использованием таких систем представлен на рис. 4.

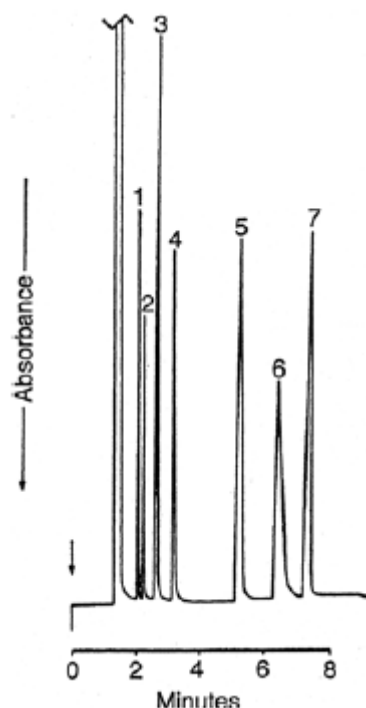


Рис. 4. Разделение смеси анионов на сорбенте с низкой емкостью (27 мкэкв/г) [21].

Элюент: 4 мМ молибдат натрия. Детекция на длине волны  $\lambda=250$  нм.

Пики: 1 – этилсульфат, 2 – пропилсульфат, 3 – хлорид, 4 – нитрит, 5 – бромид, 6 – нитрат, 7 – сульфат.

## 2.6 Заключение

В данной работе не ставилось целью рассмотреть все существующие методы анализа анионов. Нами были рассмотрены "классическая" ионная хроматография, ионная хроматография без использования дополнительной подавительной колонки, а также методы прямого и "косвенного" УФ-детектирования. Было показано, что каждый из

методов имеет свои преимущества и недостатки, и ни один из них не может считаться универсальным. Целесообразность применения того или иного метода анализа во много определяется не только стоимостью, но и чувствительностью оборудования, а следовательно и кругом задач, которые необходимо решать.

Все рассмотренные нами методы определения анионов по разным причинам предполагают использование сорбентов с низкой или с умеренной обменной емкостью. Однако в последние годы ряд фирм начали выпускать микрозернистые высокоемкие анионообменники, синтезированные на основе полистирола. В отличие от своих известных предшественников (анионитов типа "Dowex", "Amberlite", "Aminex" и др. [24]) они не набухают в спиртах и ацетонитриле, не меняют свой объем в колонке при изменении ионной силы подвижной фазы и не разрушаются в колонках при давлении до 400 атм. Эти свойства сорбентов позволяют надеяться, что они окажутся пригодными для проведения ионообменной хроматографии в варианте ВЭЖХ, т.е. при высокой скорости потока и в градиентном режиме.

Важно, что ионообменные свойства давно известных анионитов-аналогов – так называемые "ряды селективности" [7,24] – хорошо изучены для большого числа анионов и эта информация может быть использована при работе с новыми ВЭЖХ-сорбентами.

Перечисленные выше доводы дают основания для проведения исследований, направленных на развитие аналитической химии анионов путем внедрения в широкую практику новых перспективных сорбентов.

Целью настоящей работы являлось изучение перспектив использования анионита с высокой емкостью для ВЭЖХ-анализа различных групп органических и неорганических анионов.

В ходе работы решались следующие задачи:

- исследование физико-химических свойств высокоемкого анионита Диасфер 250-ПА;
- разработка методик определения УФ-поглощающих анионов.

### 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

#### 3.1 Материалы

Ацетонитрил "Сорт 0" (НПК "Криохром", С.-Петербург); уксусная кислота "хч" (ГК "Лаверна", Москва); хлорная кислота (60%) "хч"; соляная кислота, стандарт-титр 0,1 н ("Реахим", Россия); гидроксид натрия "хч"; перхлорат лития тригидрат "analytical grade" ("Panreac", Испания); *трис*(гидроксиметил)аминометан ("Serva", Германия); нитрат серебра "хч" ("ПЗЦМ-Втормет", Россия); тиосульфат натрия пентагидрат "ч" ("Реахим", Россия); гексацианоферрат(II) калия тригидрат "чда" ("Союзреактив", Россия); хлорид натрия "хч" ("Реахим", Россия); нитрат натрия "хч" ("Реахим", Россия); нитрит натрия "хч" ("Реахим", Россия); йодид калия "хч" ("Реахим", Россия); бромид калия "ч" ("Реахим", Россия); бифталат калия "чда" ("Реахим", Россия); карбоновые кислоты (янтарная, яблочная, лимонная, щавелевая, винная) с содержанием основного вещества не менее 95%; аскорбиновая кислота "хч"; салициловая кислота "хч"; бензойная кислота "хч"; сорбиновая кислота с содержанием основного вещества не менее 98% ("Serva", Германия); нуклеотиды любезно предоставлены ООО "БИОССЕТ" (Новосибирск). Анионообменный адсорбент "Диасфер-250 ПА" (5 мкм) получен от (ЗАО "БиоХимМак СТ", Москва).

#### 3.2 Оборудование

Хроматограф жидкостной "Милихром А-02" (ЗАО "ЭкоНова", Новосибирск); весы аналитические "Adventurer" ("Ohaus" Corp., США) - точность взвешивания  $\pm 0,0001$  г; рН-метр "Анион-4100" (НПП "Инфраспек-Аналит", Россия) - точность измерения  $\text{pH} \pm 0,03$ ; центрифуга "MiniSpin" ("Eppendorf", Corp., Германия) - макс. 13400 об./мин; магнитная мешалка с нагревателем (ЗАО "НПО Экрос", Санкт-Петербург); мембранные фильтры "Dugapore 0,22  $\mu\text{m}$  GV" ("Millipore" Corp., США); установка для упаковки хроматографических колонок с насосом высокого давления (до 400 атм) (ЗАО "Эконова", Россия); пипетки переменного объема со сменными наконечниками ( $20 \pm 2\% \div 200 \pm 1,5\%$  мкл и  $100 \pm 1,5\% \div 1000 \pm 1\%$  мкл) (ЗАО "ТермоЛабсистемс", Санкт-Петербург); пипетки стеклянные  $10 \pm 0,05$  мл и  $5 \pm 0,05$  мл с делениями; колбы мерные ( $50 \pm 0,1\%$  мл,  $100 \pm 0,1\%$  мл,  $1000 \pm 0,1\%$  мл).

Обработку хроматограмм проводили с помощью компьютерной программы "Мультихром-СПЕКТР" (ЗАО "Амперсенд", Россия).

Расчет спектральных параметров, коэффициентов удерживания, построение всех зависимостей проводили с помощью компьютерной программы "Microsoft® Excel 2003" ("Microsoft Corp.", США).

### 3.3 Методы

#### 3.3.1 Оценка погрешности приготовления растворов

При приготовлении растворов массовую ( $C_m$ ) и молярную ( $C_M$ ) концентрации вещества определяли соответственно по формулам:

$$C_m = \frac{m}{V}; \quad C_M = \frac{m}{V \cdot M_A},$$

где  $m$  – масса препарата (г),  $V$  – объем раствора (мл),  $M_A$  – молярная масса вещества.

Погрешность приготовления контрольного раствора определяется погрешностью взвешивания, погрешностью используемой мерной посуды. Предел допускаемой погрешности весов "Adventurer" составляет 0,0001 г. Относительную погрешность определения массы вещества  $\delta_m$  определяли по формуле:

$$\delta_m = \pm \frac{\Delta_m}{m},$$

где  $\Delta_m$  – допускаемая погрешность взвешивания (г).

Относительную погрешность используемой мерной посуды  $\delta_V$  определяли по формуле:

$$\delta_V = \pm \frac{\Delta_V}{V},$$

где  $\Delta_V$  – допускаемая погрешность от номинальной вместимости мерной посуды (мл),  $V$  – объем раствора (мл).

Погрешность приготовления растворов  $\delta_C$  (%) определяли по формуле:

$$\delta_C = \pm 100 \cdot \sqrt{\delta_m^2 + \delta_V^2}.$$

#### 3.3.2 Приготовление растворов

**Гидроксид натрия 1 М (раствор №1).** Навеску 4 г гидроксида натрия растворяли в мерной колбе объемом 100 мл в дистиллированной воде и доводили объем раствора дистиллированной водой до метки.

**Гидроксид натрия 0,1 М (раствор №2).** Пипеткой переносили 10 мл раствора №1 в мерную колбу объемом 100 мл и доводили объем раствора дистиллированной водой до метки.

**Гидроксид натрия 0,01 М (раствор №3).** Пипеткой переносили 10 мл раствора №2 в мерную колбу объемом 100 мл и доводили объем раствора дистиллированной водой до метки.

**Соляная кислота 0,1 М (раствор №4).** В мерную колбу на 1000 мл вносили раствор из ампулы стандарт-титра 0,1 М HCl и доводили объем раствора дистиллированной водой

до метки.

**Соляная кислота 0,01 М (раствор №5).** Пипеткой переносили 10 мл раствора №4 в мерную колбу объемом 100 мл и доводили объем раствора дистиллированной водой до метки.

**Раствор нитрата серебра 0,5 М.** Навеску 2,125 г нитрата серебра растворяли в мерной колбе объемом 25 мл в дистиллированной воде. Объем раствора доводили дистиллированной водой до метки.

**Раствор ацетонитрила с массовой долей 10% (Элюент А для хроматографии неорганических анионов).** В мерную колбу объемом 100 мл помещали 30 мл ацетонитрила, объем раствора доводили дистиллированной водой до метки.

Остальные растворы ацетонитрила с различными массовыми долями готовили аналогично.

**Раствор перхлората лития 1 М (раствор №6).** Навеску 16 г перхлората лития растворяли в колбе объемом 100 мл в дистиллированной воде. Объем раствора доводили дистиллированной водой до метки.

**Элюент Б для хроматографии неорганических анионов: 0,1 М LiClO<sub>4</sub>, 30% (об./об.) ацетонитрила.** В мерную колбу объемом 100 мл пипеткой вносили 10 мл раствора №6, добавляли 30 мл ацетонитрила, объем раствора доводили дистиллированной водой до метки.

Остальные элюенты с различными концентрациями соли и ацетонитрила готовили аналогично.

**Элюент Б для хроматографии карбоновых кислот: 0,1 М LiClO<sub>4</sub>.** В мерную колбу объемом 100 мл пипеткой вносили 10 мл раствора №6, объем раствора доводили дистиллированной водой до метки.

Остальные элюенты с различными концентрациями соли готовили аналогично.

**Буферный раствор Трис-HClO<sub>4</sub> 1 М (рН 7,4) (раствор №7).** В мерный стакан вместимостью 50 мл вносили 6 г Трис, приливали 20 мл дистиллированной воды, доводили раствором концентрированной HClO<sub>4</sub> до рН 7,4 по показаниям рН-метра. Раствор количественно переносили в мерную колбу объемом 50 мл, доводили дистиллированной водой до метки.

**Элюент А для хроматографии мононуклеотидов: Трис-HClO<sub>4</sub> 0,025 М (рН 7,4), LiClO<sub>4</sub> 0,01 М, 10% (об./об.) ацетонитрила.** В мерную колбу объемом 100 мл вносили 2,5 мл раствора №7, 250 мкл водного раствора 4 М LiClO<sub>4</sub>, 10 мл ацетонитрила, доводили дистиллированной водой до метки.

Остальные элюенты для хроматографии мононуклеотидов с различными

концентрациями соли и ацетонитрила готовили аналогично.

### 3.3.3 Приготовление образцов

**Растворы неорганических солей 10 г/л (растворы №№8-14).** В мерные колбы объемом 50 мл вносили 0,5 г солей NaCl, NaNO<sub>3</sub>, NaNO<sub>2</sub>, KI, KBr, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] доводили до метки дистиллированной водой, перемешивали до полного растворения.

**Растворы солей 1 г/л.** В центрифужные пробирки объемом 1,5 мл пипеткой вносили по 100 мкл растворов №№8-14 и приливали по 900 мкл дистиллированной воды.

**Растворы натриевых солей ди- и трикарбоновых кислот (1 г кислоты/л).** В стаканы объемом 50 мл вносили 50 мг порошков янтарной, яблочной, лимонной, щавелевой, винной кислот, приливали 20 мл дистиллированной воды. Добавляли растворы гидроксида натрия №№1-3 до pH 7 по показанию pH-метра. Растворы количественно переносили в мерные колбы объемом 50 мл, доводили объемы растворов дистиллированной водой до метки.

**Раствор аскорбата натрия (1 г аскорбиновой кислоты/л).** В стакан объемом 50 мл вносили 50 мг порошка аскорбиновой кислоты, приливали 20 мл дистиллированной воды. Добавляли растворы №№1-3 до pH 7 по показанию pH-метра. Раствор количественно переносили в мерную колбу объемом 50 мл, доводили объем раствора дистиллированной водой до метки.

**Раствор бифталата калия 10 г/л (раствор №15).** Навеску 0,5 г бифталата калия вносили в мерную колбу объемом 50 мл, растворяли в дистиллированной воде, доводили объем раствора дистиллированной водой до метки.

**Растворы бифталата калия 1 г/л (pH 5,7 и pH 7).** В стаканы объемом 50 мл пипеткой вносили по 5 мл раствора №15, прибавляли по 15 мл дистиллированной воды. Добавляли растворы №№1-3 до pH 5,7 и до pH 7 по показаниям pH-метра. Растворы количественно переносили в мерные колбы объемом 50 мл, доводили объемы растворов дистиллированной водой до метки.

**Раствор салицилата натрия (pH 5,7) - 1 г салициловой кислоты в 1 л.** Навеску 50 мг салициловой кислоты вносили в стакан объемом 50 мл, прибавляли 20 мл дистиллированной воды. Добавляли растворы №№1-3 до pH 5,7 по показаниям pH-метра. Раствор количественно переносили в мерную колбу объемом 50 мл, доводили объем раствора дистиллированной водой до метки.

**Раствор бензоата натрия (pH 7) - 1 г бензойной кислоты в 1 л** Навеску 50 мг бензойной кислоты вносили в стакан объемом 50 мл, прибавляли 20 мл дистиллированной воды. Добавляли растворы №№1-3 до pH 11 по показаниям pH-метра. Нагревали до

полного растворения вещества. Остужали раствор до комнатной температуры, добавляли растворы №№4-5 до pH 7 по показаниям pH-метра. Раствор количественно переносили в мерную колбу объемом 50 мл, доводили объем раствора дистиллированной водой до метки.

**Раствор сорбата натрия (pH 5,7) – 0.5 г сорбиновой кислоты в 1 л.** Навеску 25 мг сорбиновой кислоты вносили в стакан объемом 50 мл, прибавляли 20 мл дистиллированной воды. Добавляли растворы №№1-3 до pH 11 по показаниям pH-метра. Нагревали до полного растворения вещества. Остужали раствор до комнатной температуры, добавляли растворы №№4-5 до pH 7 по показаниям pH-метра. Раствор количественно переносили в мерную колбу объемом 50 мл, доводили объем раствора дистиллированной водой до метки.

**Раствор йодированной поваренной соли 200 г/л (раствор №16).** Навеску 10 г йодированной поваренной соли "Илецкая" вносили в мерную колбу объемом 50 мл, прибавляли 25 мл дистиллированной воды. Нагревали при перемешивании до полного растворения вещества. Остужали до комнатной температуры, объем раствора доводили дистиллированной водой до метки.

**Сок огуречный свежесжатый.** В стакан вносили 25 мл свежесжатого огуречного сока, добавляли растворы №№1-3 до pH 7 по показаниям pH-метра. Раствор центрифугировали в течение 15 мин (13000 g) и надсадочную жидкость переносили в пробирку автодозатора.

**Растворы мононуклеотидов с концентрациями 1 г/л.** В центрифужные пробирки объемом 1,5 мл вносили по 1 мг AMP и CMP, добавляли по 1 мл дистиллированной воды и после полного растворения центрифугировали для удаления механических примесей.

**Раствор АТР с концентрацией 0,05 М.** В пробирку на 200 мкл вносили 20 мкл раствора АТР с концентрацией 0,1 М, добавляли 20 мкл дистиллированной воды и перемешивали встряхиванием.

**Лекарственное средство "Янтарная кислота" с концентрацией 0,5 г/л (раствор №17).** Таблетку лекарственного средства "Янтарная кислота" (Марбиофарм, Россия, серия №191210) с содержанием действующего средства (янтарная кислота) 0,1 г растирали в ступке, вносили в стакан объемом 50 мл, растворяли в 25 мл дистиллированной воды. Добавляли растворы №№1-3 до pH 7 по показаниям pH-метра. Раствор количественно переносили в колбу на 200 мл, объем раствора доводили дистиллированной водой до метки.

**Лекарственное средство "Аскорбиновая кислота с глюкозой" с концентрацией 0,5 г/л (раствор №18).** Таблетку лекарственного средства " Аскорбиновая кислота с

глюкозой ("Фармстандарт", Россия, серия №2691110) с содержанием аскорбиновой кислоты 0,1 г растирали в ступке, вносили в стакан объемом 50 мл и растворяли в 25 мл дистиллированной воды. Добавляли растворы №№1-3 до pH 7 по показаниям pH-метра. Раствор количественно переносили в колбу на 200 мл, объем раствора доводили дистиллированной водой до метки.

**Сок апельсиновый (раствор № 19).** В стакан вносили 25 мл апельсинового сока "Моя семья". Добавляли растворы №№1-3 до pH 7 по показаниям pH-метра. Раствор центрифугировали в течение 15 мин (13000 g) и надсадочную жидкость переносили в пробирку автодозатора.

**Сильногазированный безалкогольный напиток "Sprite" (раствор №20).** В стакан вносили 25 мл напитка "Sprite", перемешивали до полного удаления пузырьков газа. Добавляли растворы №№1-3 до pH 7 по показаниям pH-метра.

**Негазированный безалкогольный напиток "Nestea" (раствор №21).** В стакан вносили 25 мл напитка "Nestea". Добавляли растворы №№1-3 до pH 7 по показаниям pH-метра.

### **3.3.4 Методика определения обменной емкости сорбента Диасфер 250-ПА**

В пробирку объемом 1,5 мл помещали 100 мкл суспензии сорбента Диасфер 250-ПА. Для перевода сорбента в ОН-форму в пробирку трижды добавляли по 1 мл 1М NaOH, перемешивали на автошейкере в течение 10 мин, центрифугировали суспензию по 1 мин при ускорении 13000 g и надсадочный раствор отбрасывали. Затем для удаления остатков щелочи сорбент трижды промывали 1 мл дистиллированной воды.

Определение обменной емкости сорбента проводили методом титрования 0,1М HCl. В качестве детектора использовали pH-метр.

Расчет емкости сорбента проводили по данным из трех параллельных измерений.

### **3.3.5 Методика упаковки хроматографической колонки сорбентом Диасфер 250-ПА**

0,7 мл пастообразной суспензии сорбента в этаноле помещали в центрифужную пробирку на 1,5 мл, дважды промывали по 0,7 мл буферного раствора (0,2 М CH<sub>3</sub>COONa, pH 5), предварительно профильтрованного через фильтр с порами 0,22 мкм. Суспензию центрифугировали по 1 мин при ускорении 10000 g. Надсадочный раствор отбрасывали. Осадок сорбента переносили в пробирку на 10 мл и доводили объем до 10 мл раствором 0,2 М CH<sub>3</sub>COONa, pH 5. Полученную суспензию сорбента помещали в резервуар установки для упаковки колонок. Упаковку проводили при ориентации колонки "снизу



вверх" (скорость потока 1,6 мл/мин) в течение 10 мин. При этом максимальное давление составляло 270 атм. Затем сорбент в колонке уплотняли потоком этого же буферного раствора при скорости 2 мл/мин в течение 15 мин, максимальное давление составляло 276 атм. Колонку после упаковки промывали 2 мл воды со скоростью 200 мкл/мин, затем смесью вода-ацетонитрил при градиентном элюировании (от 0 до 100% ацетонитрила за 3000 мкл, скорость потока 150 мкл/мин, температура термостата 35°C).

### **3.3.6 Определение свободного объема колонки**

Анионит переводили во фталатную форму путем промывки колонки раствором бифталата калия 0,15 М при скорости 200 мкл/мин в течение 10 мин. Используя этот же раствор в качестве подвижной фазы, хроматографировали 4 мкл раствора бифталата калия 0,25 М. Объем удерживания пика бифталат-аниона считали (свободным) мертвым объемом колонки.

### **3.3.7 Запись спектров УФ-поглощающих анионов**

Для записи УФ-спектров с помощью насосов хроматографа через капилляр в кювету вводили раствор, содержащий УФ-поглощающий анион. Запись спектров производили после остановки потока в диапазоне длин волн от 190 до 360 нм. Для каждого аниона записывали по три спектра и с помощью программы Microsoft Excel строили средний спектр, определяли спектральные отношения.

### **3.3.8 Хроматографическое определение неорганических анионов**

Для определения коэффициентов удерживания растворы солей  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{KI}$ ,  $\text{KBr}$ ,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ,  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  с концентрацией 1 г/л хроматографировали в изократическом режиме (элюент Б для хроматографии неорганических анионов с содержанием перхлората лития 0,01-0,1 М) при объеме пробы 4 мкл, температуре 40, 50, 60, 70°C и скорости потока 50-200 мкл/мин.

Для определения анионов в поваренной соли 4 мкл раствора №16 (п. 3.3.3) хроматографировали в градиентном режиме (0-0,1 М  $\text{LiClO}_4$  за 2000 мкл) при температуре 40°C и скорости потока 200 мкл/мин. Для оценки значения объема удерживания хлорид-иона собирали фракции элюата через каждые 20 мкл и прибавляли к каждой фракции по 20 мкл раствора нитрата серебра для проведения качественной реакции. Растворы солей  $\text{KI}$ ,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ,  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  с концентрацией 1 г/л хроматографировали в тех же условиях.

Для определения содержания нитрат-иона в свежавыжатом огуречном соке хроматографию проводили в изократическом режиме (элюент Б для хроматографии

неорганических анионов с содержанием перхлората лития 0,05 М) при объеме пробы 4 мкл, температуре 40°C и скорости потока 200 мкл/мин.

### **3.3.9 Хроматография мононуклеотидов**

Смесь растворов АМР и СМР хроматографировали в градиентном режиме (0-100% Б за 4000 мкл) при объеме пробы 4 мкл, температуре 80°C и скорости потока 200 мкл/мин. В качестве подвижной фазы использовали элюенты А и Б для хроматографии мононуклеотидов с содержанием ацетонитрила 0, 20, 40% (об./об.).

Раствор АТР хроматографировали в градиентном режиме (0-100% Б за 4000 мкл) при объеме пробы 4 мкл, температуре 80°C и скорости потока 200 мкл/мин. В качестве подвижной фазы использовали элюенты А и Б для хроматографии мононуклеотидов с содержанием ацетонитрила 0% (об./об.).

### **3.3.10 Хроматографическое определение сорбат-аниона**

Раствор сорбиновой кислоты хроматографировали в изократическом режиме при объеме пробы 4 мкл, температуре 40°C и скорости потока 200 мкл/мин. В качестве подвижной фазы использовали элюент Б для хроматографии карбоновых кислот с содержанием перхлората лития 0,1 М, а также элюент Б для хроматографии неорганических анионов с содержанием перхлората лития 0,01-0,025 М.

### **3.3.11 Хроматографическое определение анионов**

#### **моно-, ди- и трикарбоновых кислот**

Для определения коэффициентов удерживания анионов кислот хроматографировали растворы янтарной, яблочной, лимонной, щавелевой, винной, уксусной и аскорбиновой кислот в изократическом режиме (элюент Б для хроматографии карбоновых кислот с содержанием перхлората лития 0,02-0,05 М) при объеме пробы 4 мкл, температуре 40, 50, 60, 70°C и скорости потока 50-200 мкл/мин.

Для разделения смеси кислот хроматографировали в градиентном режиме (0-0,04 М LiClO<sub>4</sub> за 2900 мкл) 4 мкл смеси янтарной, яблочной, винной и лимонной кислот при температуре 40°C и скорости потока 200 мкл/мин.

Для определения содержания янтарной кислоты в лекарственном средстве "Янтарная кислота" (таблетки по 0,1 г) хроматографировали 4 мкл раствора №17 (п. 3.3.3) в градиентном режиме (0-0,04 М LiClO<sub>4</sub> за 2900 мкл) при температуре 40°C и скорости потока 200 мкл/мин.

Для определения содержания аскорбиновой кислоты в лекарственном средстве

"Аскорбиновая кислота с глюкозой" (таблетки по 0,1 г) хроматографировали 4 мкл раствора №18 (п. 3.3.3) в изократическом режиме (подвижная фаза: 0,015 М LiClO<sub>4</sub>) при температуре 40°С и скорости потока 200 мкл/мин.

Для определения содержания аскорбиновой кислоты в составе апельсинового сока хроматографировали 4 мкл раствора №19 (п. 3.3.3) в изократическом режиме (подвижная фаза: 0,015 М LiClO<sub>4</sub>) при температуре 40°С и скорости потока 200 мкл/мин.

Для определения содержания карбоновых кислот в яблочном соке хроматографировали 4 мкл растворов №№20, 21 в градиентном режиме (0-0,04 М LiClO<sub>4</sub> за 2900 мкл) при температуре 40°С и скорости потока 200 мкл/мин.

### **3.3.12 Хроматографическое определение анионов ароматических карбоновых кислот**

Для определения коэффициентов удерживания анионов кислот растворы бифталата калия, салициловой и бензойной кислот с концентрациями 1 г/л хроматографировали в изократическом режиме (элюент Б для хроматографии неорганических анионов с содержанием LiClO<sub>4</sub> 0,01-0,075 М и ацетонитрила 30% (об./об.)) при объеме пробы 4 мкл, температуре 40, 50, 60, 70°С и скорости потока 50-200 мкл/мин.

Для определения содержания бензоат-аниона в безалкогольных напитках хроматографировали 4 мкл растворов №№22, 23 в градиентном режиме (0-30% элюента Б для хроматографии неорганических анионов за 2800 мкл) при температуре 40°С и скорости потока 200 мкл/мин.

## 4. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### 4.1 Введение

Современные стационарные фазы для анионообменной хроматографии синтезируются в основном на двух различных матрицах: на основе микросферического объемнопористого силикагеля и на основе полистирола, поперечно сшитого дивинилбензолом. Сорбенты на основе силикагеля обладают высокой прочностью (могут работать при давлении в колонке до 100 МПа и выше), однако, их главным недостатком является относительно короткое время жизни колонки, что связано, в первую очередь, с способностью силикагеля растворяться в подвижных фазах с высоким содержанием воды особенно при значениях pH выше 7.

Сорбенты на полистирольной основе позволяют работать при давлении в колонке до 15-30 МПа и отличаются стабильность в широком диапазоне значений pH (1-13).

Используемый в работе сорбент Диасфер 250-ПА синтезирован на основе сополимера стирол-дивинилбензол, и представляет собой так называемый "сверхсшитый" полистирол. Практически каждое бензольное кольцо молекулы полистирола несет на себе четвертичное азотистое основание, что придает сорбенту очень высокую емкость. Ниже представлены основные характеристики сорбента Диасфер 250-ПА [25] и на рис. 5 приведена его микрофотография:

1. Средний размер пор 25 нм;
2. Степень сшивки: 80%;
3. Обменная емкость: 2,0 мэкв/мл;
4. Размер частиц адсорбента: 5 мкм;
5. Распределение частиц адсорбента по размерам: узкое.

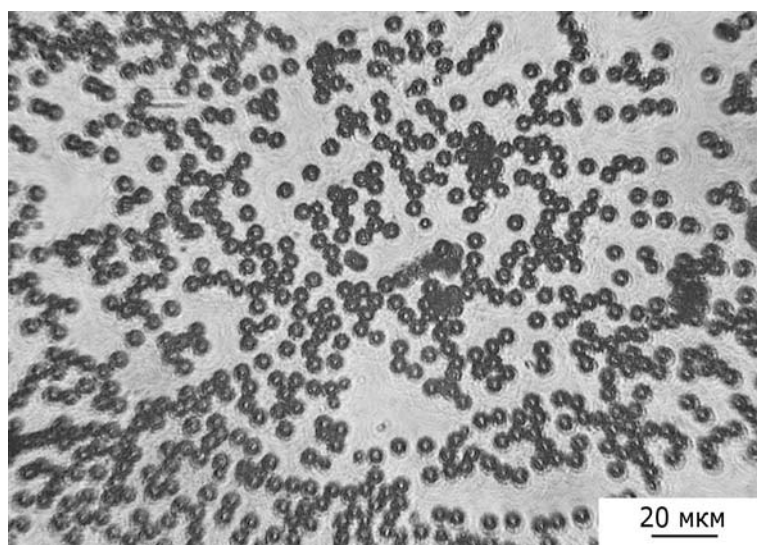


Рис. 5. Микрофотография анионообменника Диасфер 250-ПА.

## 4.2 Определение обменной емкости сорбента Диасфер 250-ПА

Для определения обменной емкости сорбента использовали метод титрования, описанный в п. 3.3.4. На рис. 6 приведена кривая титрования, построенная по значениям, полученным путем усреднения данных трех параллельных экспериментов.

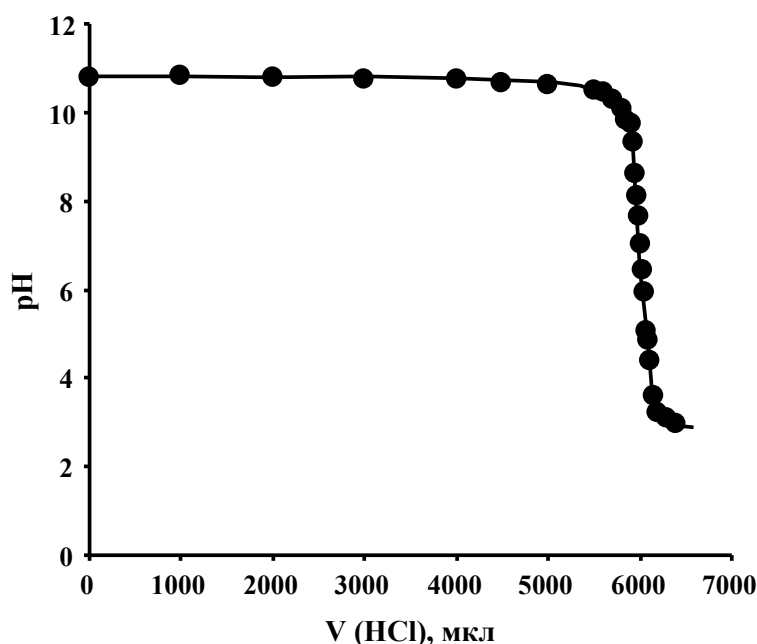


Рис. 6. Усредненная кривая титрования сорбента Диасфер 250-ПА в OH-форме 0.1 М соляной кислотой

Расчет емкости сорбента производили следующим образом:

$$v(H^+) = C \cdot V,$$

где  $v(H^+)$  – количество молей кислоты, необходимой для титрования (моль),  $C$  – концентрация кислоты (моль/л),  $V$  – объем титранта (л).

$$v(H^+) = v(OH^-),$$

где  $v(OH^-)$  – общее количество гидроксид-ионов в системе (моль).

$$v_0(OH^-) = 10^{-(14-pH_0)} \cdot V_0,$$

где  $v_0(OH^-_{сорб.})$  – начальное количество гидроксид-ионов в растворе (моль),  $pH_0$  – начальное значение  $pH$  раствора,  $V_0$  – начальный объем раствора (л).

$$v(OH^-_{сорб.}) = v(OH^-) - v_0(OH^-)$$

где  $v(OH^-_{сорб.})$  – количество гидроксид-ионов на сорбенте (моль).

$$E = \frac{v(OH^-_{сорб.})}{V_{сорб.}},$$

где  $E$  – емкость сорбента (моль/мл),  $V_{сорб.}$  – объем аликвоты суспензии сорбента в воде (мл).

В табл. 2 приведены все данные, необходимые для расчета емкости сорбента, а

также рассчитанные значения объема титранта ( $V$ ) и емкости ( $E$ ).

Таблица 2. Данные, необходимые для расчета обменной емкости сорбента.  $pH_0$ - начальное значение  $pH$  суспензии;  $V_{сорб.}$  – объем аликвоты суспензии сорбента в воде;  $V$ - объем раствора соляной кислоты, соответствующий точке эквивалентности;  $E$ - емкость сорбента.

Номер эксперимента	$pH_0$	$V_{сорб.}$ , мкл	$V$ , мкл	$E$ , мэкв/мл
1	10.80	130	6000	4.6
2	10.82	140	5938	4.2
3	10.84	130	6071	4.6

Определенная таким образом емкость сорбента составила  $4.4 \pm 0.6$  мэкв/мл. Для расчета емкости, отнесенной на сухой вес, сорбент высушивали до постоянного веса. Расчет емкости производили по следующей формуле:

$$E_z = \frac{E_{мл} \cdot V}{m},$$

где  $E_z$  – емкость сорбента, рассчитанная на сухой вес (мэкв/г),  $E_{мл}$  – емкость сорбента в единицах мэкв/мл,  $V$  – объем сорбента (мл),  $m$  – масса сорбента после высушивания (г).

Рассчитанное таким образом значение емкости составило  $9,4 \pm 1,2$  мэкв/г, что почти в 50 раз превышает емкости полимерных сорбентов, используемых в настоящее время для анионообменной хроматографии (0,01-0,2 мэкв/г) [26].

### 4.3 Определение свободного объема хроматографической колонки

Определение свободного объема хроматографической колонки является достаточно ответственной задачей в жидкостной хроматографии. Наиболее корректным методом определения свободного объема колонки является тот, когда в качестве пробы в колонку вводится вещество, содержащееся в элюенте, но отличающееся от него изотопным составом. Однако этот метод требует наличия специфического детектора. Подобный эксперимент можно провести, используя УФ-детектор (п. 3.3.6). Для этого необходимо в качестве элюента использовать вещество, способное поглощать УФ-излучение, например, раствор бифталата калия. Раствор этого же вещества, но с несколько большей, чем в элюенте концентрацией, вводится в колонку в качестве пробы (рис. 7). Объем удерживания наблюдаемого на хроматограмме пика бифталат-иона будет соответствовать мертвому (свободному) объему колонки. В нашем случае его значение составило  $164 \pm 4$  мкл ( $P=0,95$ ;  $f=4$ ).

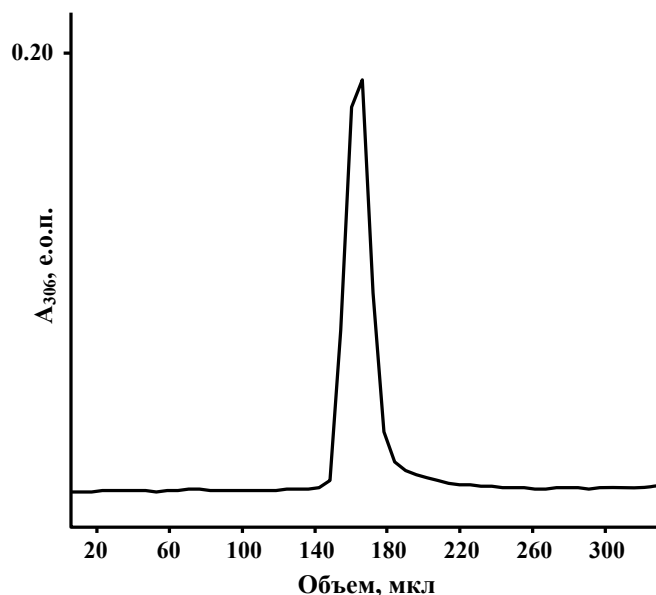


Рис. 7. Хроматограмма бифталата калия. Условия анализа:  $T=40^{\circ}\text{C}$ ,  $v=200$  мкл/мин, подвижная фаза - 0,15 М бифталата калия, 30% ацетонитрила (об./об.)

#### 4.4 Анализ неорганических анионов

##### 4.4.1 Выбор условий хроматографического анализа

Прямая детекция с использованием УФ-детектора возможна лишь в том случае, когда анализируемое вещество обладает способностью поглощать ультрафиолетовое излучение. Список неорганических анионов, для которых является возможным прямое УФ-детектирование, приведен в табл. 1.

Очевидно, что для детектирования УФ-поглощающих анионов в качестве элюента необходимо использовать раствор, прозрачный в УФ-области спектра. В качестве такого элюента нами использовались водные и водно-ацетонитрильные растворы перхлората лития. Анализировали следующие неорганические анионы: бромид, иодид, нитрат, нитрит, тиосульфат и ферроцианид. Для определения оптимальных волн детектирования были записаны УФ-спектры растворов соответствующих солей, которые в виде нормированных спектров представлены на рис. 8. Исходя из этих данных, далее для детектирования выбирали длины волн в диапазоне 210-280 нм.

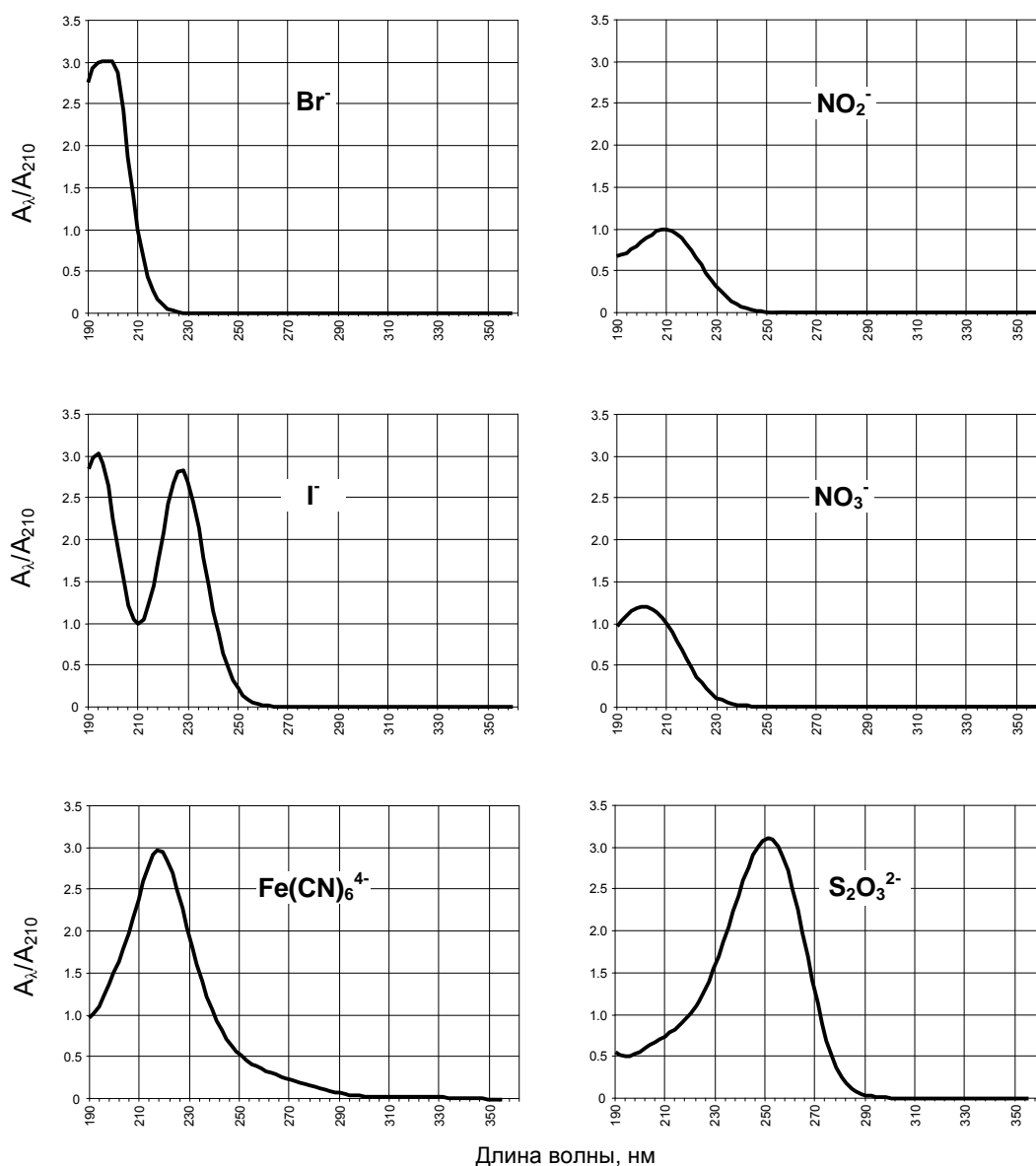


Рис. 8. Нормированные спектры бромид-, иодид-, нитрат- и нитрит-, тиосульфат-, ферроцианид-ионов.

Одним из объектов хроматографического анализа при определении неорганических анионов может являться природная вода, содержащая помимо анализируемых компонентов различные органические соединения, также способные удерживаться на полимерном сорбенте по гидрофобному механизму. Для исключения этого взаимодействия необходимо добавлять некоторое количество органического растворителя, например, ацетонитрила, в подвижную фазу. Сила гидрофобного взаимодействия в первую очередь зависит от структуры используемого сорбента. Чтобы определить необходимое количество ацетонитрила в подвижной фазе хроматографировали пробу бифталата калия при различном содержании ацетонитрила в составе элюента. Данные об объеме удерживания вещества представлены в табл. 3. Из результатов эксперимента видно, что при содержании ацетонитрила выше 30% (об./об.)



объем удерживания иона бифталата практически не изменяется. Это позволяет говорить о том, что в системе происходит взаимодействие только по ионообменному механизму.

Таблица 3. Зависимость объема удерживания бифталат-иона от содержания ацетонитрила в подвижной фазе.

% ACN (об./об.)	0	10	20	30	40	50
$V_R$ , мкл	1417	1282	922	900	895	904

Для определения коэффициентов удерживания  $k'$  анионов записывали хроматограммы при различном составе подвижной фазы. В качестве элюента использовали растворы, содержащие  $\text{LiClO}_4$  в различных концентрациях и 30% ацетонитрила. На рис. 9 приведены хроматограммы иодид-иона, выполненные при температуре  $40^\circ\text{C}$  и скорости потока 200 мкл/мин при различном составе подвижной фазы. Из рисунка видно, что при увеличении концентрации перхлората в составе элюента, то есть при увеличении силы элюента, сила удерживания иодида на сорбенте уменьшается. Это характерно для всех анионов.

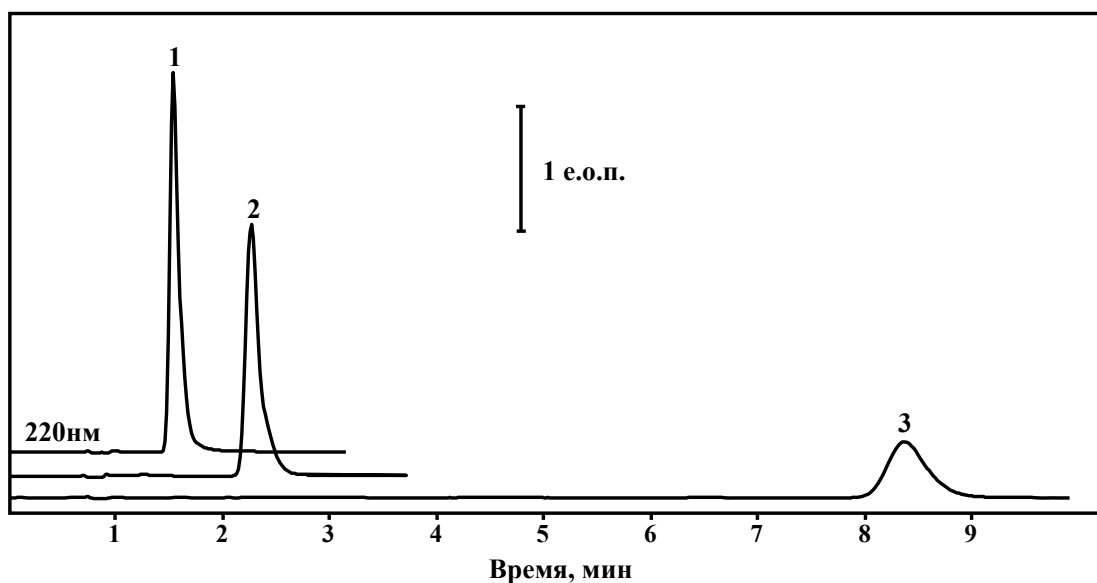


Рис. 9. Хроматограммы раствора иодида калия.  
Условия анализа:  $T=40^\circ\text{C}$ ;  $v=200$  мкл/мин; подвижные фазы: 1 – 0.1M  $\text{LiClO}_4$ , 30% ACN (об./об.); 2 – 0.05M  $\text{LiClO}_4$ , 30% ACN (об./об.); 3 – 0.01M  $\text{LiClO}_4$ , 30% ACN (об./об.).

Для остальных анионов записали аналогичные хроматограммы и определили коэффициенты удерживания по формуле:

$$k' = \frac{V_R}{V_0} - 1,$$

где  $V_R$  – объем удерживания аниона (мкл),  $V_0$  – свободный объем колонки (мкл).

Для всех анионов зависимости  $\lg k' - \lg C$ , где  $C$  – концентрация перхлората лития в

элюенте, приведены на рис. 10.

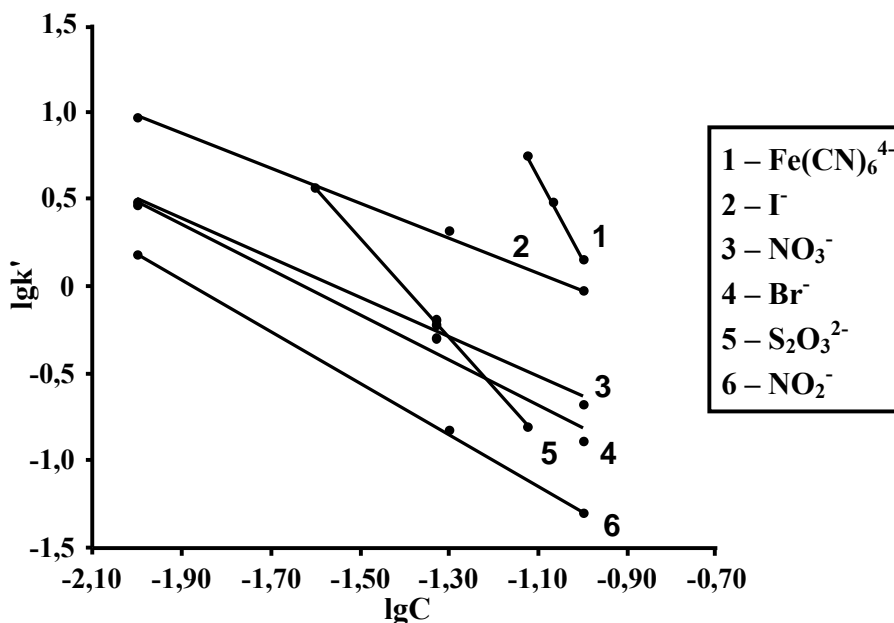


Рис. 10. Зависимость логарифма коэффициента удерживания анионов от состава подвижной фазы.

Полученные данные позволяют сделать выводы о возможности разделения смеси неорганических анионов. Из рисунка видно, что наиболее подходящим элюентом для разделения этих анионов является 0.1 М раствор  $\text{LiClO}_4$ , однако, в этих условиях тиосульфат-ион будет выходить в свободном объеме колонки. В зависимости от поставленной задачи можно использовать элюенты с другими концентрациями перхлората.

Для изучения зависимости коэффициентов удерживания неорганических анионов от температуры колонки записывали хроматограммы при фиксированной скорости потока 200 мкл/мин. В качестве подвижной фазы использовали 0.075 М  $\text{LiClO}_4$ . В табл. 4 приведены значения объемов удерживания в зависимости от температуры хроматографирования.

Таблица. 4. Значения объемов удерживания анионов в зависимости от температуры колонки

Анион	Объем удерживания $V_R$ , мкл			
	40°C	50°C	60°C	70°C
$\text{NO}_2^-$	193	197	208	228
$\text{NO}_3^-$	256	264	272	283
$\text{Br}^-$	252	259	270	291
$\text{I}^-$	445	445	454	477
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	1072	1077	1084	1102
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	189	191	200	218

Из представленных данных видно, что существует довольно слабая зависимость объемов удерживания, а соответственно и коэффициентов удерживания от температуры колонки.

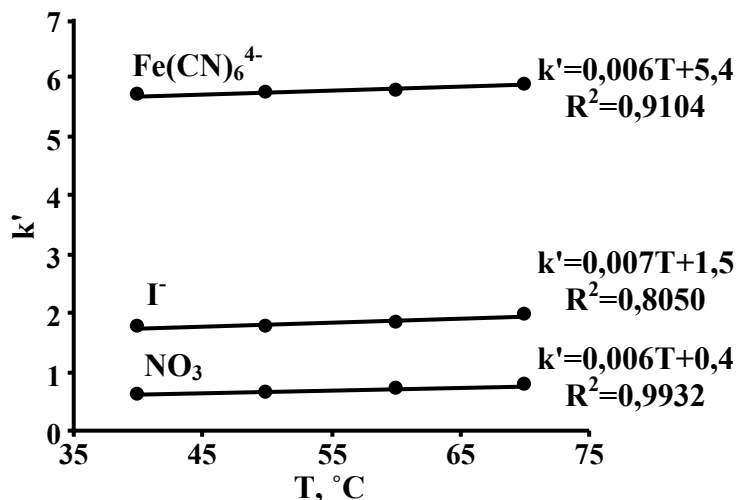


Рис. 11. Зависимость коэффициента удерживания анионов от температуры колонки.

Из графиков видно, что зависимости  $k'$  от температуры похожи для всех анионов и настолько слабы, что ими можно пренебречь.

Для изучения зависимости коэффициентов удерживания неорганических анионов от скорости потока подвижной фазы записывали хроматограммы при фиксированной температуре 40°C. В качестве подвижной фазы использовали 0,05 М LiClO<sub>4</sub> для тиосульфат-иона и 0,1 М LiClO<sub>4</sub> для всех остальных анионов. В табл. 5 приведены значения объемов удерживания анионов в зависимости от скорости потока элюента.

Таблица 5. Значения объемов удерживания анионов в зависимости от скорости потока элюента при температуре колонки 40°C.

Анион	Скорость потока, мкл/мин		
	50	100	200
$\text{NO}_2^-$	168	170	172
$\text{NO}_3^-$	185	190	198
$\text{Br}^-$	174	180	185
$\text{I}^-$	289	298	309
$\text{Fe(CN)}_6^{4-}$	292	303	315
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	232	237	240

На рис. 12 представлены соответствующие зависимости для трех анионов. Видно, что коэффициент удерживания слабо зависит от скорости потока элюента. При увеличении скорости наблюдается небольшое увеличение объема удерживания, что связано, очевидно, с повышением давления, которое, в свою очередь, приводит к

дополнительному сжатию жидкости в хроматографической системе [27].

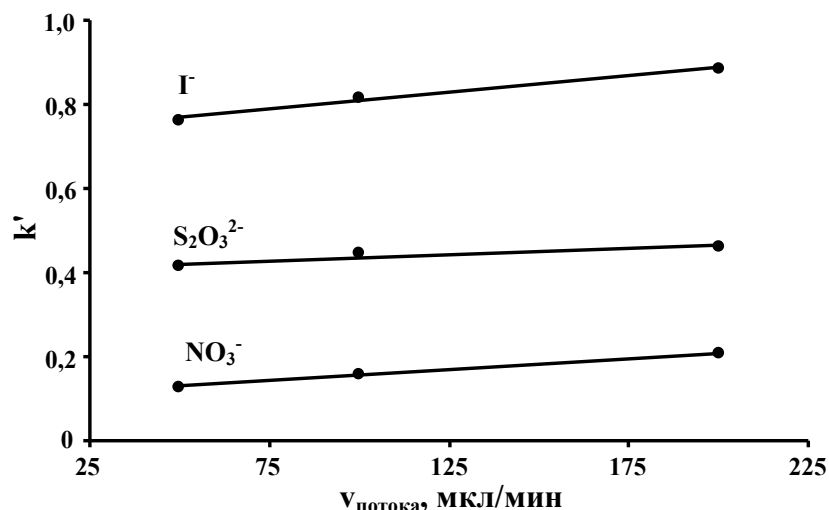


Рис. 12. Зависимость коэффициентов удерживания анионов от скорости потока.

Проведенные эксперименты позволяют выбрать оптимальные условия для решения типичных аналитических задач, связанных с определением неорганических анионов.

В качестве примера хроматографировали 2 мкл смеси четырех неорганических солей с концентрацией каждой соли 0,25 г/л. В качестве подвижной фазы использовали 0,075 М  $\text{LiClO}_4$  – 30% АСН (об./об.). Хроматограмма представлена на рис. 13.

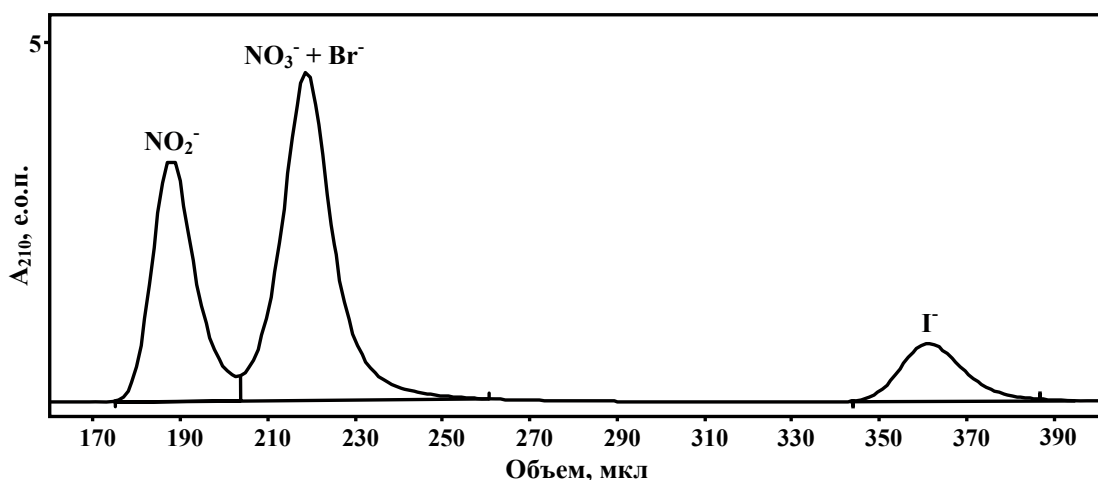


Рис. 13. Хроматограмма смеси анионов.

Условия анализа: подвижная фаза – 0,075М  $\text{LiClO}_4$ ;  $T=40^\circ\text{C}$ ,  $v=200$  мкл/мин.  
Проба – 2 мкл водного раствора солей (0,25 г/л).

Пики нитрит- и иодид-ионов идентифицировали по объему удерживания методом внешнего стандарта. Характерный доверительный интервал для величины объема удерживания определяли из 5 хроматограмм раствора  $\text{KBr}$ , записанных в одинаковых условиях. В табл. 6 представлены данные, необходимые для расчета. Вычисленное значение доверительного интервала составило 2 мкл. Далее считали, что данная величина остается неизменной для времен удерживания всех анионов на сорбенте Диасфер 250-ПА.

Таблица 6. Объемы удерживания бромид-иона на сорбенте Диасфер 250-ПА в пяти экспериментах. Подвижная фаза: 0,15M LiClO<sub>4</sub>.

	Номер эксперимента				
	1	2	3	4	5
<b>V<sub>R</sub>, мкл</b>	179	180	177	178	177

На рис. 13 видно, что пики нитрат- и бромид-ионов не разделяются и выходят в виде одного вполне симметричного пика. Используя данные многоволнового детектирования и, так называемый, факторный анализ, такие пики можно разделить математически [28]. Эта возможность заложена в программу "Мультихром-Спектр". На рис. 14 представлен участок хроматограммы смеси анионов, содержащий неразделенные пики. Использование факторного анализа позволяет также определить вклад каждого вещества в общий пик.

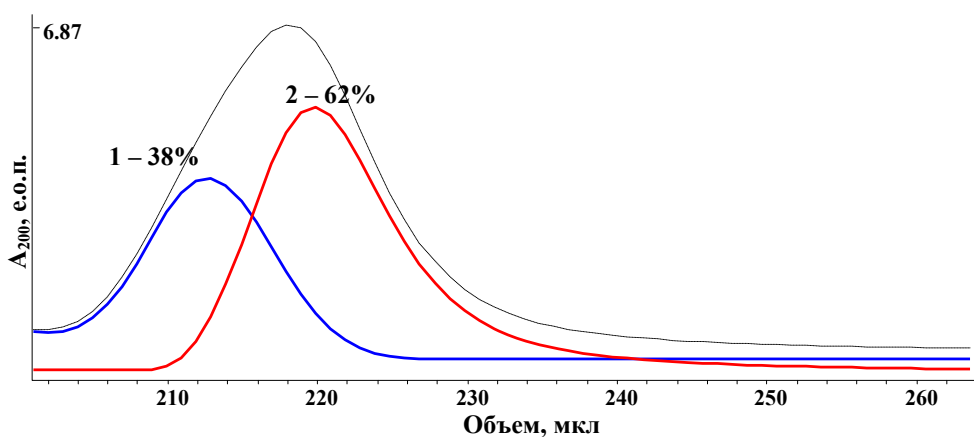


Рис. 14. Разделение пиков нитрат- и бромид-ионов методом факторного анализа.

Для идентификации перекрывающихся веществ недостаточно знать только объемы удерживания нитрат- и бромид-ионов. Более информативной в этом смысле характеристикой является нормированный спектр УФ-поглощения. Однако, количественный анализ с помощью нормированных спектров провести нельзя. Для этого необходимо знать значения коэффициентов экстинкции аналитов. Спектры растворов с известными концентрациями бромид- и нитрат-ионов, приведены на рис. 15.

Обрабатывающая программа "Мультихром-Спектр" позволяет также проводить количественные расчеты, используя площади хроматографических пиков.

Для определения удельного поглощения каждого аниона, необходимого для количественных расчетов, хроматографировали 2 мкл раствора каждой соли в воде с концентрацией 0,25 г/л при  $\lambda=210$  нм. Площадь каждого пика умножили на 4 и получили значение площадей пиков при 210 нм, соответствующих растворам с концентрацией 1 г/л при объеме пробы 2 мкл. Эти значения представлены в табл. 7.

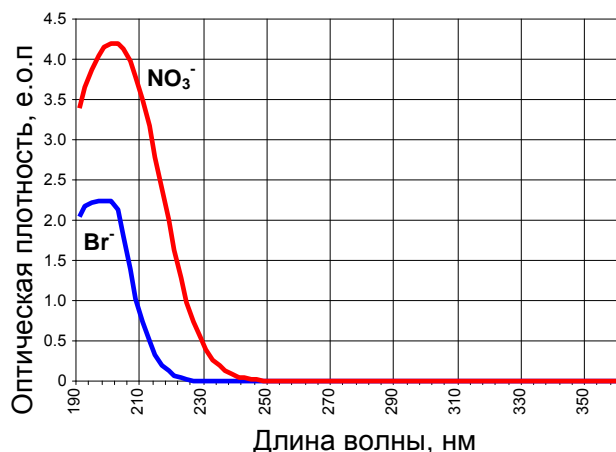


Рис. 15. Спектры УФ-поглощения водных растворов KBr и KNO<sub>3</sub>.  
Концентрация каждого соли 0.25 г/л.

Таблица. 7. Удельные площади хроматографических пиков анионов при концентрации солей 1 г/л и объеме пробы 2 мкл.

Соль	Удельная площадь $S_{a_{210}}$ , $\frac{e.o.p. \cdot мкл}{мг / мл}$
NaNO <sub>2</sub>	152,86
NaNO <sub>3</sub>	182,08
KBr	37,37
KI	49,80
K <sub>4</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	49,18
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	34,27

При необходимости записи хроматограммы при любой другой длине волны детектирования в диапазоне от 190 до 360 нм площадь пика  $S_{\lambda}$  вычисляется как:

$$S_{\lambda} = S_{a_{210}} \frac{A_{\lambda}}{A_{210}},$$

где  $S_{a_{210}}$  – удельная площадь при длине волны 210 нм (е.о.п.·мкл),  $A_{\lambda}/A_{210}$  – спектральное отношение, которое берется из таблицы, представленной в *Приложении 1*.

#### 4.4.2 Применение колонки с анионитом "Диасфер-250-ПА"

##### для решения практических задач

Преимущество использования сорбентов с высокой емкостью заключается в том, что формально для них нагрузка на колонку может быть увеличена пропорционально увеличению емкости без уменьшения эффективности колонки. Это, в свою очередь, способствует расширению линейного динамического диапазона детектора и дает

возможность, например, определять низкие концентрации одного аниона на фоне большого количества другого аниона. Примером такой задачи является "определение малых количеств иодида в иодированной поваренной соли".

Очевидно, что решение поставленной задачи возможно лишь при условии, что иодид-ион адсорбируется сильнее хлорид-иона. В противном случае большой избыток хлорид-ионов может не позволить иодид-иону сорбироваться на колонке. Т.к. хлорид-ион не поглощает УФ-излучение, то определить его удерживание с помощью УФ-детектора нельзя. Для оценки объема удерживания хлорид-иона мы определяли его в элюате качественно по реакции с нитратом серебра. Элюат фракционировали на порции по 25 мкл, которые в виде капель располагали на пластине из полиметакрилата (рис. 16). После добавления к каждой капле элюата раствора нитрата серебра увидели, что ожидаемый белый осадок образовался в каплях, соответствующих объему элюции 750-775 мкл.

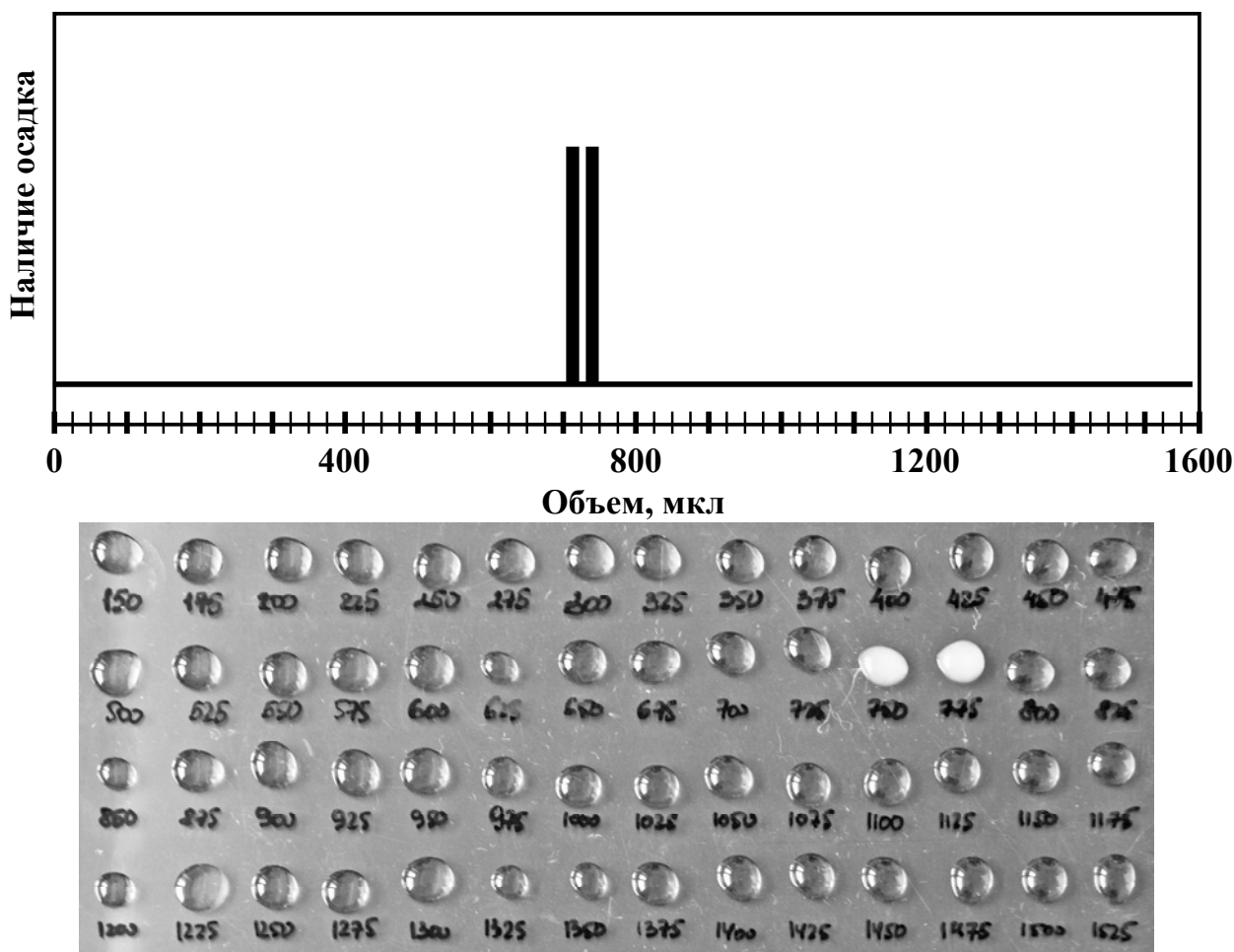


Рис. 16. Фотография элюата, разделенного на фракции по 25 мкл для оценки величины объема удерживания хлорид-иона. Детали эксперимента см. в тексте.

Оцененный таким образом объем удерживания хлорида составил 750-775 мкл, в то время как объем удерживания иодид-иона в этих же условиях составляет 1057 мкл.

На рис. 17 представлена хроматограмма иодированной поваренной соли.

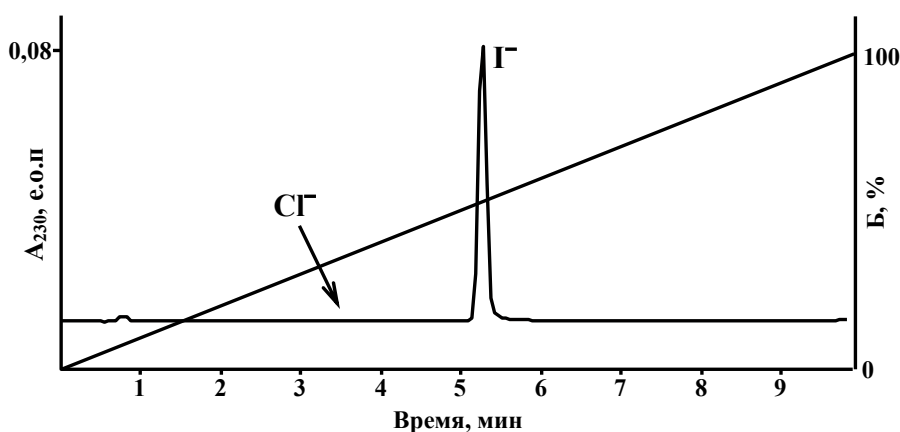


Рис. 17. Хроматограмма иодированной поваренной соли "Илецкая". Условия анализа: элюент А – вода-30% АСN (об./об.), элюент Б – 0,1 М LiClO<sub>4</sub>-30% АСN (об./об.); Т=40°С;  $\nu$ =200 мкл/мин.

Определенное таким образом содержание иодид-иона поваренной соли составило 49 мкг/г, что соответствует значению, нормированному по ГОСТ [29].

Высокоемкий сорбент также может быть использован и для решения других задач, связанных с определением анионов. Примером такой "классической" задачи является определение нитратов в продуктах питания.

Опасность нитратов для здоровья заключается в том, они, восстанавливаясь в человеческом организме до нитритов, вступают во взаимодействие с гемоглобином крови, а это приводит к окислению в гемоглобине двухвалентного железа в трёхвалентное. В итоге образуется метгемоглобин, который не переносит кислород, и наступает кислородное голодание [30]. Уровень нитратов нормируется и контролируется государственными службами.

В качестве примера определяли содержание нитрат-ионов в свежавыжатом огуречном соке. Хроматограмма представлена на рис. 18. Определенная таким образом концентрация нитрат-ионов составила 0,36 г/л или 171 мг/кг продукта (в пересчете на натриевую соль). Это значение превышает максимально допустимый уровень концентрации нитрата, который установлен в огурцах как 150 мг/кг [31].



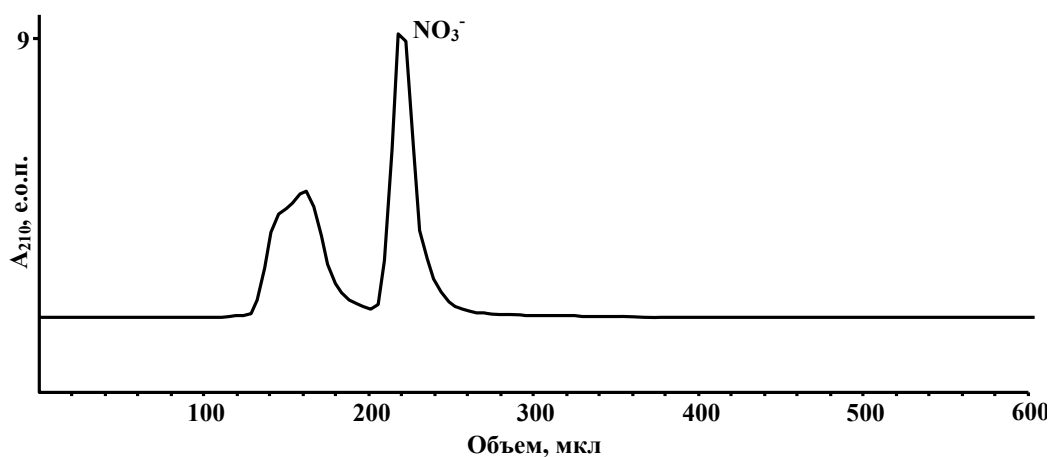


Рис. 18. Хроматограмма свежевыжатого огуречного сока.  
Условия анализа: элюент – 0,075 М LiClO<sub>4</sub>-30% ACN (об./об.); T=40°C; v=200 мкл/мин.

#### 4.5 Влияние распределительного механизма удерживания

Как уже упоминалось выше, особенностью полимерных анионообменных сорбентов является то, что в хроматографической системе присутствуют два различных механизма удерживания. Помимо ионного обмена может происходить удерживание по гидрофобному механизму в силу присутствия ароматической системы в структуре сорбента. Чаще всего совокупность этих двух механизмов приводит к значительному удерживанию вещества на сорбенте, к уширению и асимметрии хроматографических пиков. Это можно проиллюстрировать следующим примером. Хроматографировали 4 мкл раствора, содержащего сорбат-ионы. Условия хроматографического анализа указаны в п. 3.3.10.

Для определения оптимального диапазон волн детектирования записывали спектр сорбат-иона, нормированный на длину волны 210 нм, спектр представлен на рис. 19.

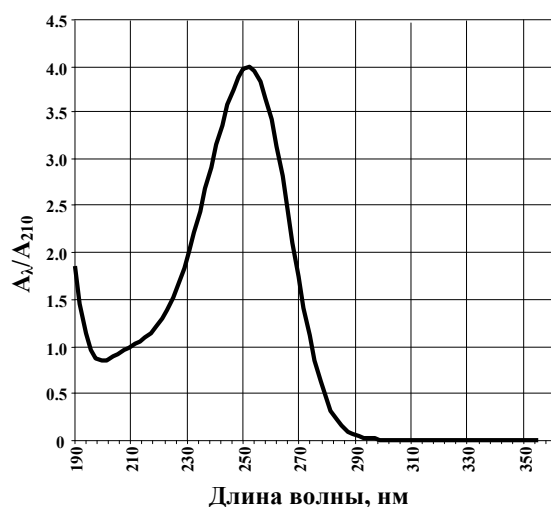
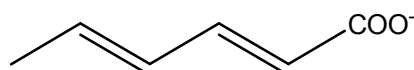


Рис. 19. Нормированный спектр сорбат-иона.

Из структурной формулы сорбат-иона, представленной ниже, видно, что это

вещество способно принимать участие в обоих механизмах удерживания на сорбенте, т.к. содержит анион карбоксильной группы и гидрофобный углеводородный радикал:



В отсутствие органического компонента (ацетонитрила) даже при наличии высокой концентрации перхлората лития (0,1 М) в составе подвижной фазы сорбат-ион сильно удерживается на сорбенте (рис. 20 а). При добавлении 30% (об./об.) ацетонитрила уже при содержании перхлората 0,025 М наблюдается значительное уменьшение объема удерживания вещества (рис. 20 б). Это говорит о том, что во втором случае гидрофобный механизм удерживания подавлен.

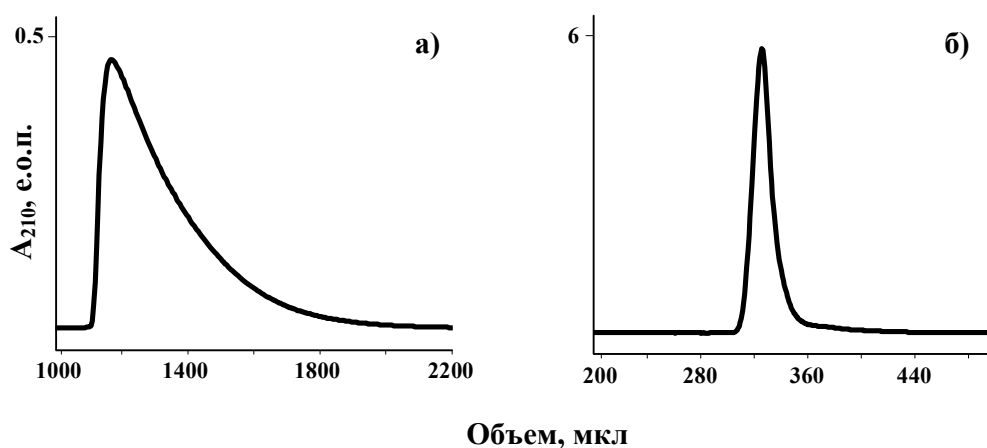


Рис. 20. Хроматограммы раствора сорбата натрия (0,5 г/л).  
Условия анализа:  $T=40^{\circ}\text{C}$ ;  $v=200$  мкл/мин; подвижная фаза – а) 0,1 М  $\text{LiClO}_4$ , б) 0,025 М  $\text{LiClO}_4$ , 30% АСN (об./об.).

Правильность сделанных выводов подтверждается зависимостью коэффициента удерживания сорбат-иона от состава подвижной фазы, приведенная на рис. 21. Так же как и для неорганических анионов, для сорбат-иона наблюдается уменьшение силы взаимодействия с сорбентом при увеличении содержания перхлората лития в элюенте.

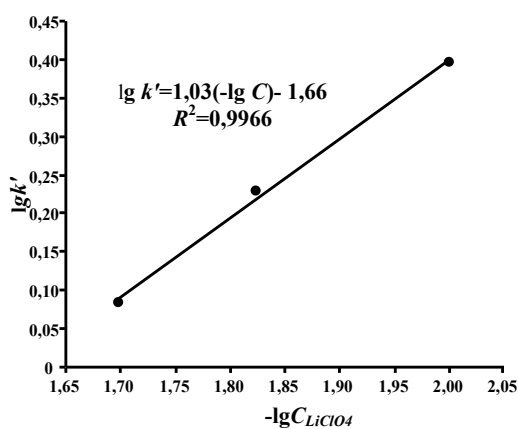


Рис. 21. Зависимость логарифма коэффициента удерживания сорбат-аниона от состава подвижной фазы в присутствии 30% ацетонитрила.

В некоторых случаях наличие гидрофобного взаимодействия можно использовать с

целью разделения пиков. В качестве такого примера можно привести разделение мононуклеотидов. Для эксперимента выбрали смесь АМР и СМР. Из хроматограмм, приведенных на рис. 22, видно, что при отсутствии ацетонитрила в подвижной фазе пики хорошо разделены, хотя ионы веществ имеют одинаковый формальный заряд. При увеличении концентрации ацетонитрила в подвижной фазе разрешение пиков уменьшается до нуля.

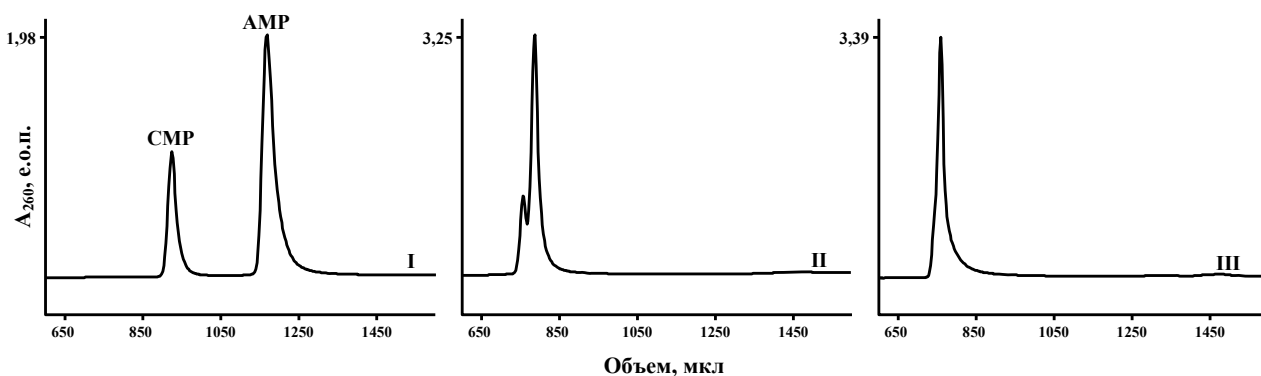


Рис. 22. Хроматограммы раствора смеси АМР и СМР (по  $\sim 1$  мг/мл) при различном содержании ацетонитрила в подвижной фазе: **I** – 0%, **II** – 20%, **III** – 40%.

Элюент **A** – [0,005 мМ Трис-НСlO<sub>4</sub> (*pH* 7,4), 0,002 М LiClO<sub>4</sub>, ACN *X* % (об./об.)],

элюент **B** – [0,025 мМ Трис-НСlO<sub>4</sub> (*pH* 7,4), 0,1 М LiClO<sub>4</sub>, ACN *X* % (об./об.)];

градиент: от 0 до 100% **B** за 4000 мкл;  $v=200$  мкл/мин;  $T=80^{\circ}\text{C}$ .

Идентификацию пиков АМР и СМР на хроматограммах производили по спектральным отношениям, взятым из литературы [32].

Высокоемкие сорбенты также могут быть использованы в хроматографии нуклеотидов для решения задач, которые ранее были недоступны для сорбентов с низкой емкостью. Таким примером может служить одновременное количественное определение примесей АМР и АДР и основного вещества в растворе АТР. Хроматограмма этой смеси приведена на рис. 23, из которого видно, что при большой концентрации основного вещества (АТР) не наблюдается перегрузки колонки. При этом на его фоне определение примесных веществ не вызывает особого труда. Идентификацию АМР производили по спектральным отношениям и объему удерживания. Количественное определение примесей АМР и АДР целесообразно проводить при максимальной чувствительности ( $\lambda_{\text{макс}}=260$  нм), а основное вещество АТР определяется при длине детектирования, на которой высота пика АТР не превышает 6-8 е.о.п.

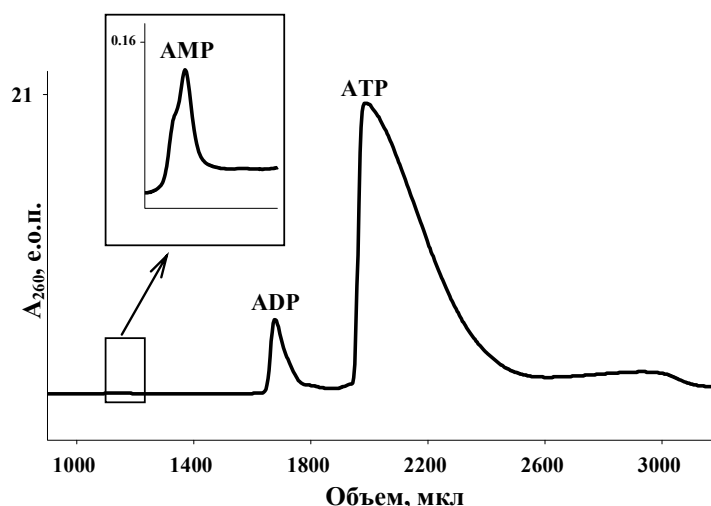


Рис. 23 Хроматограмма смеси АТФ, АДП и АМФ. Концентрация основного вещества (АТФ) 0,1М. условия анализа: Элюент А – [0,005 мМ Трис-НСlО4 (*pH* 7,4), 0,002 М LiClO4], элюент Б – [0,025 мМ Трис-НСlО4 (*pH* 7,4), 0,1 М LiClO4]; градиент: от 0 до 100% Б за 4000 мкл;  $v=200$  мкл/мин;  $T=80^{\circ}C$ .

#### 4.6 Хроматографический анализ моно-, ди- и трикарбоновых кислот

Структурные формулы выбранных для исследований карбоновых кислот, представлены в *Приложении 2*. Все кислоты, кроме аскорбиновой, характеризуются значением  $pK_a$  ниже 7, поэтому все анализы проводились в нейтральной среде для обеспечения полной ионизации кислот.

Для определения оптимальных длин волн детектирования записывали спектры УФ-поглощения всех анионы и нормировали их на длину волны 210 нм (рис. 24). Из рисунка видно, что все анионы карбоновых кислот, кроме аскорбат-иона, имеют похожие УФ-спектры и могут детектироваться в диапазоне длин волн от 190 до 250 нм. Анион аскорбиновой кислоты имеет максимум поглощения на длине волны 268 нм.

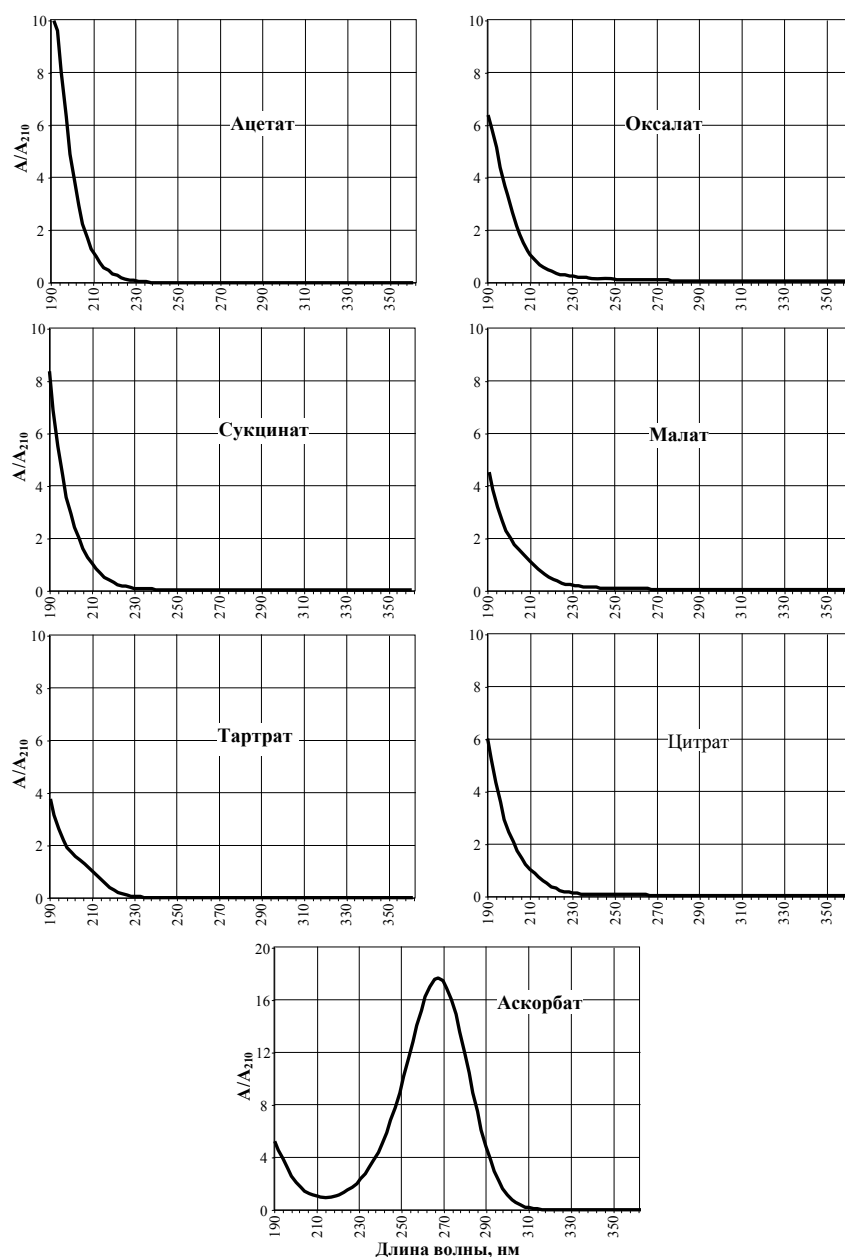


Рис. 24. Нормированные спектры анионов карбоновых кислот.

Для количественных расчетов были определены удельные площади хроматографических пиков при длине волны детектирования 210 нм, объеме пробы 4 мкл и концентрации вещества 1 г/л (табл. 8). Спектральные отношения, необходимые для расчета площадей хроматографических пиков при других длинах волн детектирования, представлены в *Приложении 3*.

Таблица. 8. Удельные площади пиков анионов кислот при концентрации кислот 1 г/л и объеме пробы 4 мкл.

Кислота	Удельная площадь $S_{a_{210}}$ , $\frac{e.o.n. \cdot мкл}{мг / мл}$
Уксусная	17,22
Щавелевая	22,12
Янтарная	6,01
Яблочная	9,03
Винная	12,84
Лимонная	6,55
Аскорбиновая	3,12

Для всех анионов были изучены зависимости коэффициентов удерживания от концентрации перхлората в составе подвижной фазы (рис. 25). Для исключения гидрофобного механизма удерживания анионов на сорбенте в подвижную фазу добавляли 30% (об./об.) ацетонитрила.

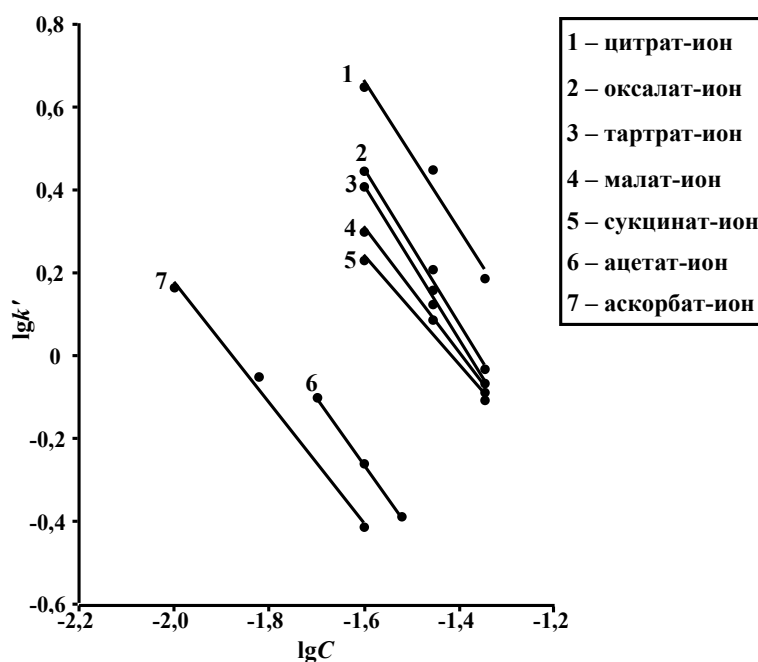


Рис. 25. Зависимость величины коэффициента удерживания анионов карбоновых кислот от состава подвижной фазы.

Для трех анионов были изучены зависимости коэффициента удерживания от температуры хроматографического анализа (рис. 26). Для всех анионов наблюдается слабое увеличение объема удерживания при повышении температуры.

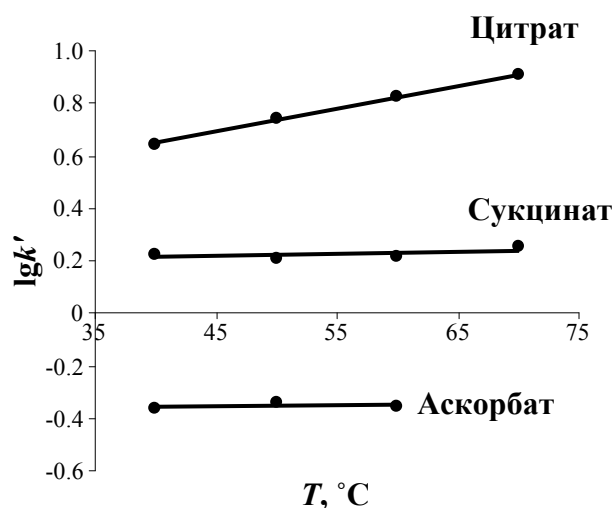


Рис. 26. Зависимость коэффициента удерживания анионов карбоновых кислот от температуры.

В качестве примера определения анионов карбоновых кислот в реальных объектах хроматографировали растворы лекарственных средств "Янтарная кислота" и "Аскорбиновая кислота с глюкозой" (рис. 27 а, б). Рассчитанные по площадям хроматографических пиков содержания основных веществ в препаратах составили  $98 \pm 14$  мг янтарной кислоты и  $98 \pm 11$  мг аскорбиновой кислоты в таблетке ( $P=0,95$ ;  $f=2$ ). Это полностью соответствует содержанию, указанному на упаковке.

Также было исследовано содержание аскорбат-иона в апельсиновом соке "Моя семья" (рис. 27 в). Заявленное производителем содержание аскорбата составляет не менее 0,1 г/л. Рассчитанное по площади хроматографического пика содержание аскорбиновой кислоты в перерасчете на аскорбат-ион составило  $0,97 \pm 0,09$  г/л.

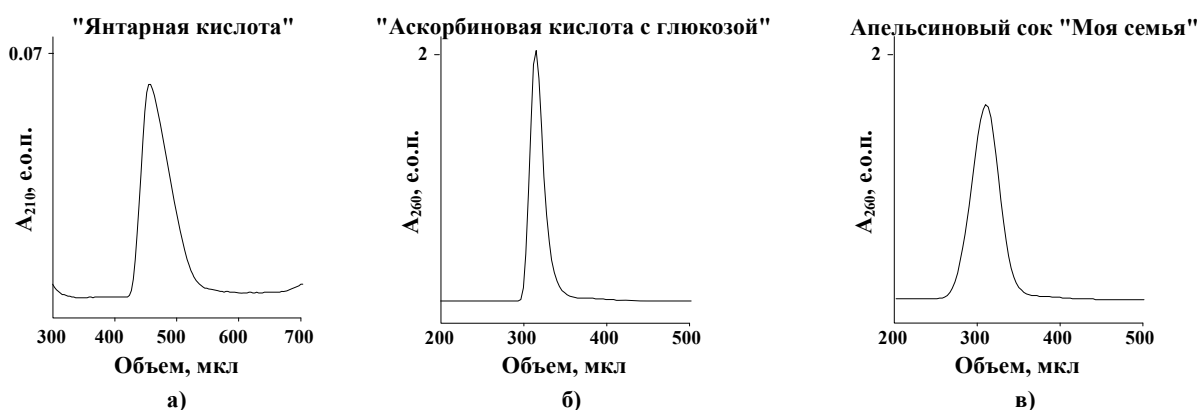


Рис. 27. Хроматограммы лекарственных препаратов и фруктового сока.  
Условия анализа:  $T=40^\circ\text{C}$ ,  $v=200$  мкл/мин; элюент – а)  $0,025$  М  $\text{LiClO}_4$ , 30%  $\text{ACN}$  (об./об.); б), в)  $0,025$  М  $\text{LiClO}_4$ , 30%  $\text{ACN}$  (об./об.).

Проведенные исследования позволяют сделать выводы о возможности разделения смеси анионов карбоновых кислот. Исходя из рис. 25, можно предположить, что элюент с содержанием перхлората  $0,025$  М является оптимальным для разделения. Однако существует вероятность перекрытия анионов янтарной и яблочной кислот, а также

винной и щавелевой. В таком случае является целесообразным использование градиентного режима хроматографии. Выбор правильного градиента является достаточной сложной задачей, но позволяет получать более узкие и разрешенные пики. Использование градиентного режима возможно в силу прозрачности элюента в заданном диапазоне длин волн детектирования.

Для разделения смеси четырех органических анионов был выбран градиент элюента от 0 до 0,04 М LiClO<sub>4</sub> за 2900 мкл. Хроматограмма смеси представлена на рис. 28. Идентификацию пиков веществ производили по спектральным отношениям.

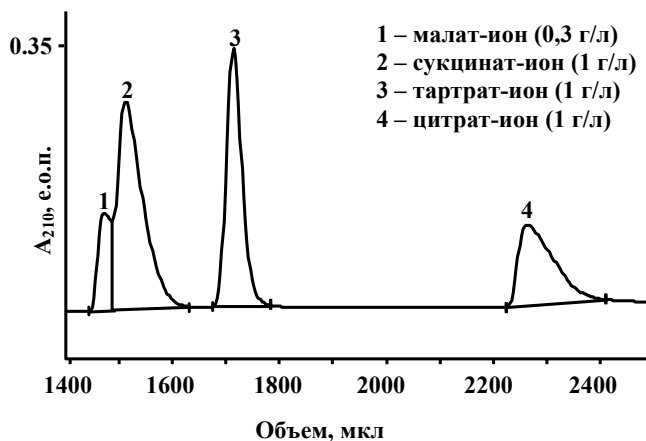


Рис. 28. Хроматограмма смеси растворов карбоновых кислот. Условия анализа: элюент А – вода, элюент Б – 0,04 М LiClO<sub>4</sub>; градиент от 10 до 100% Б за 2900 мкл; T=40°C, v=200 мкл/мин.

#### 4.7 Хроматографическое определение анионов ароматических кислот

Возможности применения сорбента "Диасфер-250 ПА" для определения анионов ароматических карбоновых кислот показано на примере анионов *o*-фталевой, салициловой и бензойной кислот. Структурные формулы этих соединений и значения  $pK_a$  приведены в *Приложении 4*. Наличие в структуре этих соединений бензольного кольца приводит к их взаимодействию с сорбентом по распределительному (гидрофобному) типу, что приводит к увеличению объема удерживания, к заметному его уширению и нарушению симметричности. Как показано на рис. 29 гидрофобное взаимодействие эффективно подавляется путем добавления в элюент до 30% ацетонитрила.



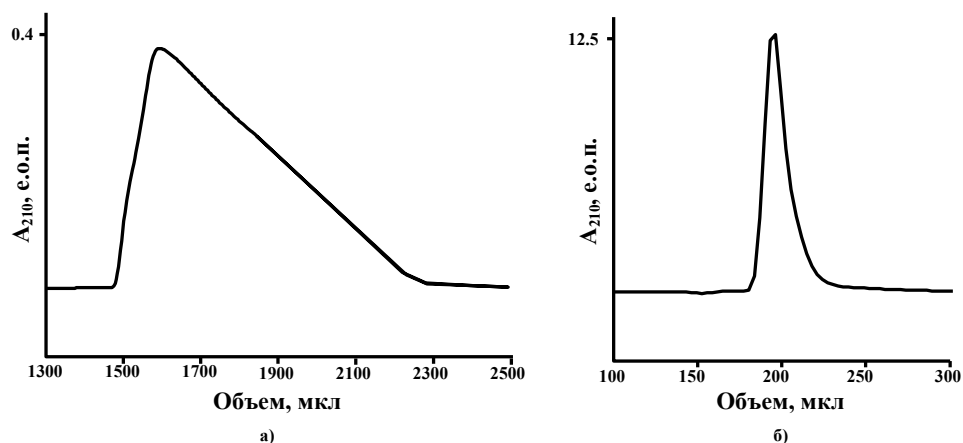


Рис. 29. Хроматограммы бензоат-иона (1г/л). Условия анализа:  $T=40^{\circ}\text{C}$ ;  $v=200$  мкл/мин; элюент: а) 0,1 М  $\text{LiClO}_4$ , б) 0,1 М  $\text{LiClO}_4$ , 30%  $\text{ACN}$  (об./об.).

Для выбора оптимальных длин волн детектирования записывали спектры УФ-поглощения растворов ароматических кислот и нормировали их на поглощение при длине волны 210 нм. (рис. 30).



Рис. 30. Нормированные спектры анионов ароматических карбоновых кислот.

Для количественных расчетов были определены удельные площади хроматографических пиков при длине волны детектирования 210 нм, объеме пробы 4 мкл и концентрации кислот 1 г/л (табл. 9). Спектральные отношения, необходимые для расчета площадей хроматографических пиков при других длинах волн детектирования, представлены в *Приложении 5*.

Таблица. 9. Удельные площади пиков анионов при концентрации кислот 1 г/л и объеме пробы 4 мкл.

Кислота	Удельная площадь $S_{a_{210}}$ , $\frac{\text{e.o.p.} \cdot \text{мкл}}{\text{мг} / \text{мл}}$
Бензойная	178,9
Салициловая	440,9
о-фталевая	325,2

Для выбора оптимального состава подвижной фазы для хроматографического

анализа анионов ароматических кислот исследовали зависимость коэффициента удерживания каждого вещества от концентрации перхлората лития в элюенте (рис. 31).

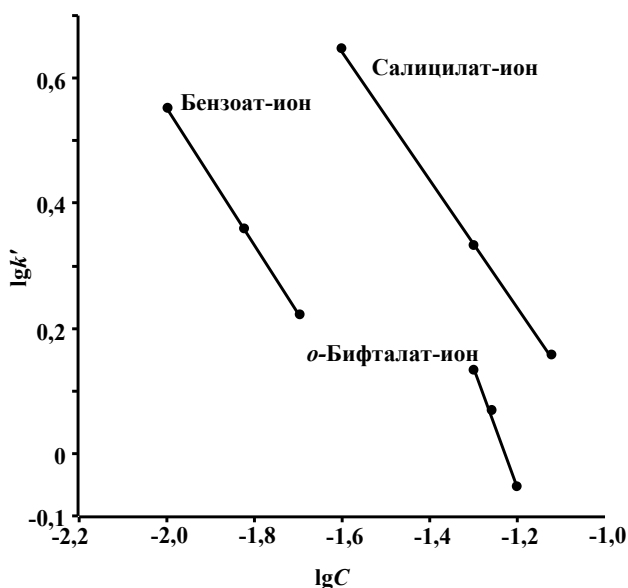


Рис. 31. Зависимости логарифмов коэффициентов удерживания анионов ароматических кислот от состава подвижной фазы.

Из рисунка 31 видно, что при увеличении содержания перхлората лития в элюенте наблюдается уменьшение объемов удерживания анионов. Это является характерным для всех анионов рассмотренных выше.

Подбор элюента для разделения смеси анионов ароматических кислот является достаточно сложной задачей в силу большого различия в объемах удерживания. Поэтому существует вероятность, что при заданной концентрации перхлората лития в составе подвижной фазы одни анионы будут сильно удерживаться на сорбенте, и объема насосов хроматографа будет недостаточно для их элюирования, а другие наоборот будет выходить в свободном объеме.

Бензоат-ион является интересным с точки зрения аналитической химии, так как используется в качестве консерванта (E211) в пищевых продуктах, и его содержание контролируется. В качестве примера хроматографировали два безалкогольных напитка: "Sprite" и "Nestea" (рис. 32). Для хроматографии выбрали градиентный режим элюирования, чтобы избежать возможного перекрытия пика бензоата и пиков других веществ, содержащихся в напитках. Для идентификации бензоата пользовались спектральными отношениями.

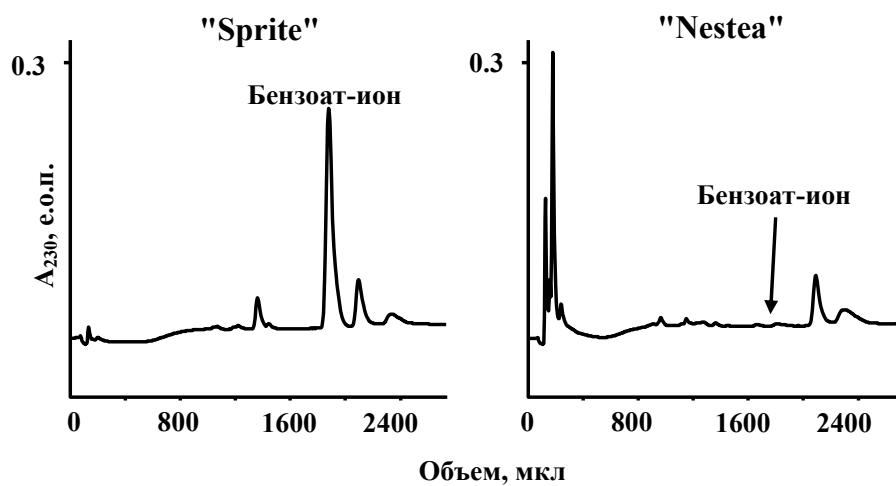


Рис. 32. Хроматограммы безалкогольных напитков. Условия анализа: элюент А – 30% АСN в воде (об./об.), элюент Б – 0,03 М LiClO<sub>4</sub>, 30% АСN (об./об.); градиент: от 0 до 100% Б за 2800 мкл; T=40°C; v=200 мкл/мин.

Рассчитанное по площади хроматографического пика содержание бензоата в напитке "Sprite" составило  $35 \pm 3$  мг/л. В напитке "Nestea" бензоата обнаружено не было.

## 5. ВЫВОДЫ

1. Разработана методика упаковки колонки  $\text{Ø}2 \times 75$  анионоотом Диасфер 250-ПА, показано, что сорбент устойчив до  $P=400$  атм; нечувствителен к изменению ионной силы элюента и к замене воды на  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  и  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; эффективность колонки  $N \approx 50000$  т.г./м; ее обменная емкость  $Q=0,728$  мэкв/колонку;
2. Показано, что сорбент можно использовать и как анионообменник, и как "обращенную" фазу;
3. Получены количественные данные по селективности сорбента для анионов солей и кислот:  $\text{KBr}$ ,  $\text{KI}$ ,  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ,  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , яблочная, янтарная, уксусная, щавелевая, лимонная, винная, аскорбиновая, бензойная, салициловая, *о*-фталевая;
4. Показана применимость сорбента для решения таких задач как:
  - определение йодида в поваренной соли при концентрации от 15 мкг/кг;
  - определение нитрата в овощах (огурцы) при концентрации от 0,6 мг/кг;
  - определение аскорбиновой и янтарной кислот в лекарствах;
  - и др.

## 6. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Crompton, T.R.. Determination of anions. A Guide for the Analytical Chemist. – Springer, 1996. – P. 583.
2. Crompton, T.R.. Determination of anions in natural and treated waters. – Taylor & Francis Group, 2005. – P. 880.
3. Nollet, L.M.L (Ed.). Handbook of Water Analysis. 2nd Ed. – Taylor & Francis Group, 2007. – P. 786.
4. Small, H., Stevens, T.S., Bauman, W.S.. Novel ion exchange chromatographic method using conductometric detection // Anal. Chem. – 1975. – V.47. – P. 1801.
5. Li, J., Fritz, J. S. Novel polymeric resins for anion-exchange chromatography // J. Chromatogr. A. – 1998. – N 793. – P. 231-238.
6. Риман, В., Уолтон, Г. Ионообменная хроматография в аналитической химии. //М.: Мир, 1973.
7. Wheaton, R.M., Bauman, W.C. Properties of strongly basic anion exchange resins // Ind. Eng. Chem. – 1951. – V. 43. – N 5. – P. 1088-1093.
8. Weiss, J., Jensen, D. Modern stationary phases for ion chromatography // Anal. Bioanal. Chem. – 2003. – N 375. – P. 81-98.
9. Gjerde, D.T., Fritz, J.S., Schmuckler, G. Anion chromatography with low conductivity eluents // J. Chromatogr. – 1980. – N 187. – P. 35.
10. Cassidy, R.M., Elchuk, S. Dynamically coated columns and conductivity detection for trace determination of organic anions by ion chromatography // J. Chromatogr. A. – 1983. – V. 262. – P. 311-315.
11. Duval, D.L., Fritz, J.S. Coated anion-exchange resins for ion chromatography // J. Chromatogr. A. – 1984. – V. 295. – P. 89-101.
12. Gennaro, M.C., Bertolo, P.L., Marengo, E. Determination of aromatic amines at trace levels by ion interaction reagent reversed-phase high-performance liquid chromatography : Analysis of hair dyes and other water-soluble dyes // J. Chromatogr. A. – 1990. – V. 518. – P. 149-156.
13. Ito, K., Shoto, E., Sunahara, H. Ion chromatography of inorganic iodine species using C<sub>18</sub> reversed-phase columns coated with cetyltrimethylammonium // J. Chromatogr. A. – 1991. – V. 549. – P. 265-272.
14. Методика выполнения измерений массовой концентрации гидрокарбонат-, хлорид-, нитрит-, нитрат-, сульфат- и фосфат- анионов в питьевых, природных и очищенных сточных водах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. / Федеральный реестр методик выполнения измерений, применяемых в сферах

- распространения метрологического контроля и надзора, № Ф.Р. 1.31.2008.04416.
15. Cazes, J. Encyclopedia of chromatography. – Taylor & Francis Group, 2004.
  16. Cooke, M. Encyclopedia of separation science. – Academic press, 2000.
  17. Fritz, J.S., Gjerde, D.T. Ion Chromatography. 4th Ed. – Wiley, 2009. – P. 385.
  18. Методика выполнения измерений массовой концентрации бромид-, иодид-, нитрат- и нитрит-анионов в питьевых, природных и очищенных сточных водах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. / Федеральный реестр методик выполнения измерений, применяемых в сферах распространения метрологического контроля и надзора, № Ф.Р. 1.31.2008.04415.
  19. Haddad, P.R., Jackson, P.E. Ion chromatography. Principles and applications. – Elsevier, 1990. – P.799.
  20. Baram, G.I., Vereshchagin, A.L., Golobokova, L.P. Microcolumn high-performance liquid chromatography with UV detection for the determination of anions in environmental materials // J. Anal. Chem. – 1999. – V. 54. – N 9. – P. 854-857.
  21. Warth, L.M., Fritz, J.S., Naples, J. O. Preparation and use of latex-coated resins for anion chromatography // J. Chromatogr. – 1989. – N 462. – P. 165.
  22. Ohta, K., Tanaka, K., Fritz, J.S. Non-suppressed ion chromatography of inorganic anions, magnesium and calcium ions using a pyromellitate eluent and its application in evaluating environmental water quality // J. Chromatogr. A. – 1996. – N 731. – P. 179-186.
  23. Ohta, K., Tanaka, K. Simultaneous determination of common inorganic anions, magnesium and calcium ions in various environmental waters by indirect UV-photometric detection ion chromatography using trimellitic acid-EDTA as eluent // Anal. Chim. Acta. – 1998. – N 373. – P. 189-195.
  24. Лурье, А.А. Хроматографические материалы. //М.: Химия, 1978. – С. 145.
  25. ЗАО "БиоХимМак СТ". Пресс-релиз. – Москва. – 2010.
  26. Fritz, J.S., Gjerde, D.T. Ion Chromatography. 4th Ed. – Wiley, 2009. – P. 42.
  27. Барам, Г.И. Развитие метода микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии и его применение для решения комплексных аналитических задач: Дис. докт. хим. наук: 02.00.20 / Г.И. Барам. Лимнологический институт. - Иркутск, 1997.
  28. Juan, A., Tauler, R. Factor analysis of hyphenated chromatographic data. Exploration, resolution and quantification of multicomponent systems // J. Chromatogr. A. – 2007. – V. 1158. – P. 184-195.
  29. ГОСТ Р 51574-2000. Соль поваренная пищевая. Технические условия. – Введ. 01.07.01.
  30. Ковба, Л.М. Нитраты // КХЭ. – М., 1964. – Т. 3. – С. 487.

31. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.3.2.1078-01.  
Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. – Введ. 01.09.02.
32. Досон, Р., Эллиот, Д., Эллиот, У., Джонс, К. Справочник биохимика. – М.: Мир. – 1991. – с. 89, 97.

Спектральные отношения ( $A_{\lambda}/A_{210}$ ) растворов неорганических солей

в диапазоне длин волн 200-358 нм

## KBr

$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$
190	2.76	234	0.00	278	0.00	322	0.00
192	2.93	236	0.00	280	0.00	324	0.00
194	3.00	238	0.00	282	0.00	326	0.00
196	3.01	240	0.00	284	0.00	328	0.00
198	3.01	242	0.00	286	0.00	330	0.00
200	3.02	244	0.00	288	0.00	332	0.00
202	2.87	246	0.00	290	0.00	334	0.00
204	2.42	248	0.00	292	0.00	336	0.00
206	1.87	250	0.00	294	0.00	338	0.00
208	1.39	252	0.00	296	0.00	340	0.00
210	1.00	254	0.00	298	0.00	342	0.00
212	0.68	256	0.00	300	0.00	344	0.00
214	0.44	258	0.00	302	0.00	346	0.00
216	0.27	260	0.00	304	0.00	348	0.00
218	0.17	262	0.00	306	0.00	350	0.00
220	0.09	264	0.00	308	0.00	352	0.00
222	0.05	266	0.00	310	0.00	354	0.00
224	0.03	268	0.00	312	0.00	356	0.00
226	0.01	270	0.00	314	0.00	358	0.00
228	0.01	272	0.00	316	0.00	360	0.00
230	0.00	274	0.00	318	0.00		
232	0.00	276	0.00	320	0.00		

## KI

$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$
190	2.87	234	2.16	278	0.00	322	0.00
192	3.00	236	1.81	280	0.00	324	0.00
194	3.05	238	1.46	282	0.00	326	0.00
196	2.95	240	1.15	284	0.00	328	0.00
198	2.66	242	0.88	286	0.00	330	0.00
200	2.28	244	0.64	288	0.00	332	0.00
202	1.89	246	0.45	290	0.00	334	0.00
204	1.52	248	0.32	292	0.00	336	0.00
206	1.23	250	0.22	294	0.00	338	0.00
208	1.06	252	0.14	296	0.00	340	0.00
210	1.00	254	0.09	298	0.00	342	0.00
212	1.05	256	0.06	300	0.00	344	0.00
214	1.22	258	0.03	302	0.00	346	0.00
216	1.46	260	0.02	304	0.00	348	0.00
218	1.76	262	0.01	306	0.00	350	0.00
220	2.10	264	0.01	308	0.00	352	0.00
222	2.44	266	0.00	310	0.00	354	0.00
224	2.70	268	0.00	312	0.00	356	0.00
226	2.85	270	0.00	314	0.00	358	0.00
228	2.85	272	0.00	316	0.00	360	0.00
230	2.71	274	0.00	318	0.00		
232	2.46	276	0.00	320	0.00		



**NaNO<sub>2</sub>**

$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$
190	0.67	234	0.19	278	0.00	322	0.00
192	0.69	236	0.14	280	0.00	324	0.00
194	0.72	238	0.10	282	0.00	326	0.00
196	0.75	240	0.07	284	0.00	328	0.00
198	0.80	242	0.05	286	0.00	330	0.00
200	0.84	244	0.03	288	0.00	332	0.00
202	0.89	246	0.02	290	0.00	334	0.00
204	0.94	248	0.01	292	0.00	336	0.00
206	0.97	250	0.01	294	0.00	338	0.00
208	0.99	252	0.00	296	0.00	340	0.00
210	1.00	254	0.00	298	0.00	342	0.00
212	0.99	256	0.00	300	0.00	344	0.00
214	0.95	258	0.00	302	0.00	346	0.00
216	0.90	260	0.00	304	0.00	348	0.00
218	0.83	262	0.00	306	0.00	350	0.00
220	0.75	264	0.00	308	0.00	352	0.00
222	0.66	266	0.00	310	0.00	354	0.00
224	0.57	268	0.00	312	0.00	356	0.00
226	0.48	270	0.00	314	0.00	358	0.00
228	0.39	272	0.00	316	0.00	360	0.00
230	0.31	274	0.00	318	0.00		
232	0.25	276	0.00	320	0.00		

**NaNO<sub>3</sub>**

$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$
190	0.97	234	0.05	278	0.00	322	0.00
192	1.04	236	0.04	280	0.00	324	0.00
194	1.10	238	0.02	282	0.00	326	0.00
196	1.15	240	0.02	284	0.00	328	0.00
198	1.19	242	0.01	286	0.00	330	0.00
200	1.20	244	0.01	288	0.00	332	0.00
202	1.20	246	0.00	290	0.00	334	0.00
204	1.18	248	0.00	292	0.00	336	0.00
206	1.14	250	0.00	294	0.00	338	0.00
208	1.08	252	0.00	296	0.00	340	0.00
210	1.00	254	0.00	298	0.00	342	0.00
212	0.90	256	0.00	300	0.00	344	0.00
214	0.79	258	0.00	302	0.00	346	0.00
216	0.68	260	0.00	304	0.00	348	0.00
218	0.57	262	0.00	306	0.00	350	0.00
220	0.46	264	0.00	308	0.00	352	0.00
222	0.36	266	0.00	310	0.00	354	0.00
224	0.28	268	0.00	312	0.00	356	0.00
226	0.21	270	0.00	314	0.00	358	0.00
228	0.15	272	0.00	316	0.00	360	0.00
230	0.11	274	0.00	318	0.00		
232	0.08	276	0.00	320	0.00		

Приложение 1 (продолжение).

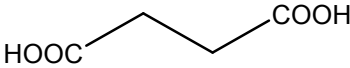
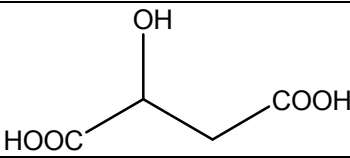
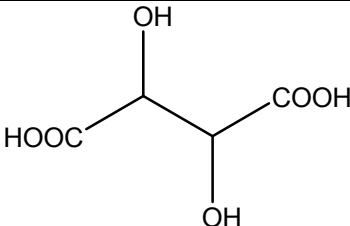
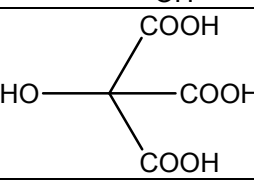
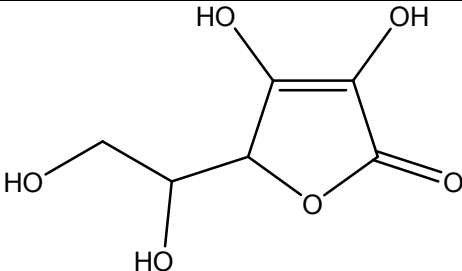
**K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>**

$\lambda$ , нм	$A_i/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_i/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_i/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_i/A_{210}$
190	0.42	234	0.68	278	0.08	322	0.02
192	0.43	236	0.59	280	0.07	324	0.02
194	0.47	238	0.52	282	0.07	326	0.02
196	0.52	240	0.46	284	0.06	328	0.02
198	0.58	242	0.40	286	0.05	330	0.02
200	0.63	244	0.35	288	0.05	332	0.02
202	0.69	246	0.31	290	0.04	334	0.02
204	0.76	248	0.27	292	0.04	336	0.02
206	0.83	250	0.24	294	0.03	338	0.02
208	0.91	252	0.22	296	0.03	340	0.01
210	1.00	254	0.20	298	0.03	342	0.01
212	1.09	256	0.18	300	0.03	344	0.01
214	1.17	258	0.17	302	0.02	346	0.01
216	1.22	260	0.16	304	0.02	348	0.01
218	1.25	262	0.15	306	0.02	350	0.01
220	1.24	264	0.14	308	0.02	352	0.01
222	1.20	266	0.13	310	0.02	354	0.01
224	1.13	268	0.12	312	0.02	356	0.01
226	1.05	270	0.11	314	0.02	358	0.01
228	0.96	272	0.11	316	0.02	360	0.02
230	0.86	274	0.10	318	0.02		
232	0.77	276	0.09	320	0.02		

**Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>**

$\lambda$ , нм	$A_i/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_i/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_i/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_i/A_{210}$
190	0.75	234	2.51	278	0.67	322	0.00
192	0.70	236	2.75	280	0.49	324	0.00
194	0.67	238	3.00	282	0.35	326	0.00
196	0.68	240	3.24	284	0.24	328	0.00
198	0.71	242	3.48	286	0.16	330	0.00
200	0.75	244	3.70	288	0.11	332	0.00
202	0.80	246	3.88	290	0.08	334	0.00
204	0.85	248	4.03	292	0.05	336	0.00
206	0.90	250	4.12	294	0.04	338	0.00
208	0.95	252	4.16	296	0.03	340	0.00
210	1.00	254	4.13	298	0.02	342	0.00
212	1.05	256	4.03	300	0.01	344	0.00
214	1.10	258	3.87	302	0.01	346	0.00
216	1.16	260	3.64	304	0.01	348	0.00
218	1.23	262	3.35	306	0.00	350	0.00
220	1.32	264	3.01	308	0.00	352	0.00
222	1.43	266	2.65	310	0.00	354	0.00
224	1.55	268	2.27	312	0.00	356	0.00
226	1.70	270	1.88	314	0.00	358	0.00
228	1.87	272	1.52	316	0.00	360	0.00
230	2.07	274	1.20	318	0.00		
232	2.28	276	0.91	320	0.00		

Структурные формулы моно-, ди- и трикарбоновых кислот.

Название	Структурная формула	pK <sub>1</sub>	pK <sub>2</sub>	pK <sub>3</sub>
Уксусная кислота	$\text{H}_3\text{C}-\text{COOH}$	4,75	-	-
Щавелевая кислота	$\text{HOOC}-\text{COOH}$	1,27	4,27	-
Янтарная кислота		4,21	5,64	-
Яблочная кислота		3,46	5,10	-
Винная кислота		2,98	4,34	-
Лимонная кислота		3,13	4,76	6,39
Аскорбиновая кислота		4,10	11,79	-

Спектральные отношения ( $A_\lambda/A_{210}$ ) карбоновых кислот

в диапазоне длин волн 200-358 нм

## Уксусная кислота

$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$
190	9.98	234	0.03	278	0.00	322	0.00
192	9.61	236	0.02	280	0.00	324	0.00
194	8.04	238	0.01	282	0.00	326	0.00
196	6.34	240	0.01	284	0.00	328	0.00
198	4.92	242	0.01	286	0.00	330	0.00
200	3.83	244	0.01	288	0.00	332	0.00
202	2.94	246	0.00	290	0.00	334	0.00
204	2.23	248	0.00	292	0.00	336	0.00
206	1.70	250	0.00	294	0.00	338	0.00
208	1.30	252	0.00	296	0.00	340	0.00
210	1.00	254	0.00	298	0.00	342	0.00
212	0.77	256	0.00	300	0.00	344	0.00
214	0.59	258	0.00	302	0.00	346	0.00
216	0.46	260	0.00	304	0.00	348	0.00
218	0.35	262	0.00	306	0.00	350	0.00
220	0.27	264	0.00	308	0.00	352	0.00
222	0.20	266	0.00	310	0.00	354	0.00
224	0.15	268	0.00	312	0.00	356	0.00
226	0.11	270	0.00	314	0.00	358	0.00
228	0.08	272	0.00	316	0.00	360	0.00
230	0.06	274	0.00	318	0.00		
232	0.04	276	0.00	320	0.00		

## Щавелевая кислота

$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$
190	6.30	234	0.14	278	0.02	322	0.00
192	5.76	236	0.13	280	0.02	324	0.00
194	5.07	238	0.12	282	0.02	326	0.00
196	4.31	240	0.10	284	0.02	328	0.00
198	3.58	242	0.09	286	0.01	330	0.00
200	2.97	244	0.09	288	0.01	332	0.00
202	2.44	246	0.08	290	0.01	334	0.00
204	1.96	248	0.07	292	0.01	336	0.00
206	1.56	250	0.07	294	0.01	338	0.00
208	1.25	252	0.06	296	0.01	340	0.00
210	1.00	254	0.06	298	0.01	342	0.00
212	0.79	256	0.06	300	0.01	344	0.00
214	0.63	258	0.05	302	0.01	346	0.00
216	0.52	260	0.05	304	0.01	348	0.00
218	0.43	262	0.04	306	0.01	350	0.00
220	0.36	264	0.04	308	0.01	352	0.00
222	0.30	266	0.04	310	0.01	354	0.00
224	0.26	268	0.03	312	0.01	356	0.00
226	0.23	270	0.03	314	0.01	358	0.00
228	0.20	272	0.03	316	0.01	360	0.00
230	0.18	274	0.03	318	0.01		
232	0.16	276	0.02	320	0.00		

**Янтарная кислота**

$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$
190	8.24	234	0.04	278	0.01	322	0.00
192	6.78	236	0.03	280	0.00	324	0.00
194	5.44	238	0.03	282	0.00	326	0.00
196	4.33	240	0.02	284	0.00	328	0.00
198	3.48	242	0.02	286	0.00	330	0.00
200	2.86	244	0.01	288	0.00	332	0.00
202	2.36	246	0.01	290	0.00	334	0.00
204	1.92	248	0.01	292	0.00	336	0.00
206	1.54	250	0.01	294	0.00	338	0.00
208	1.25	252	0.01	296	0.00	340	0.00
210	1.00	254	0.01	298	0.00	342	0.00
212	0.78	256	0.01	300	0.00	344	0.00
214	0.61	258	0.01	302	0.00	346	0.00
216	0.47	260	0.01	304	0.00	348	0.00
218	0.37	262	0.01	306	0.00	350	0.00
220	0.28	264	0.01	308	0.00	352	0.00
222	0.21	266	0.01	310	0.00	354	0.00
224	0.16	268	0.01	312	0.00	356	0.00
226	0.12	270	0.01	314	0.00	358	0.00
228	0.09	272	0.01	316	0.00	360	0.00
230	0.07	274	0.01	318	0.00		
232	0.05	276	0.01	320	0.00		

**Яблочная кислота**

$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$
190	4.43	234	0.11	278	0.02	322	0.01
192	3.76	236	0.09	280	0.02	324	0.01
194	3.12	238	0.08	282	0.01	326	0.01
196	2.60	240	0.07	284	0.01	328	0.01
198	2.20	242	0.07	286	0.01	330	0.01
200	1.92	244	0.06	288	0.01	332	0.01
202	1.70	246	0.05	290	0.01	334	0.01
204	1.50	248	0.05	292	0.01	336	0.01
206	1.32	250	0.04	294	0.01	338	0.01
208	1.15	252	0.04	296	0.01	340	0.01
210	1.00	254	0.04	298	0.01	342	0.01
212	0.85	256	0.03	300	0.01	344	0.01
214	0.71	258	0.03	302	0.01	346	0.01
216	0.58	260	0.03	304	0.01	348	0.01
218	0.48	262	0.03	306	0.01	350	0.01
220	0.38	264	0.02	308	0.01	352	0.01
222	0.31	266	0.02	310	0.01	354	0.01
224	0.25	268	0.02	312	0.01	356	0.01
226	0.20	270	0.02	314	0.01	358	0.01
228	0.17	272	0.02	316	0.01	360	0.01
230	0.14	274	0.02	318	0.01		
232	0.12	276	0.02	320	0.01		

**Винная кислота**

$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$
190	3.71	234	0.02	278	0.00	322	0.00
192	3.10	236	0.02	280	0.00	324	0.00
194	2.57	238	0.01	282	0.00	326	0.00
196	2.16	240	0.01	284	0.00	328	0.00
198	1.87	242	0.01	286	0.00	330	0.00
200	1.67	244	0.01	288	0.00	332	0.00
202	1.53	246	0.01	290	0.00	334	0.00
204	1.40	248	0.01	292	0.00	336	0.00
206	1.27	250	0.01	294	0.00	338	0.00
208	1.14	252	0.01	296	0.00	340	0.00
210	1.00	254	0.01	298	0.00	342	0.00
212	0.84	256	0.01	300	0.00	344	0.00
214	0.67	258	0.01	302	0.00	346	0.00
216	0.53	260	0.01	304	0.00	348	0.00
218	0.40	262	0.01	306	0.00	350	0.00
220	0.28	264	0.01	308	0.00	352	0.00
222	0.20	266	0.01	310	0.00	354	0.00
224	0.13	268	0.01	312	0.00	356	0.00
226	0.09	270	0.01	314	0.00	358	0.00
228	0.06	272	0.01	316	0.00	360	0.00
230	0.04	274	0.01	318	0.00		
232	0.03	276	0.00	320	0.00		

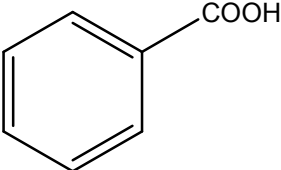
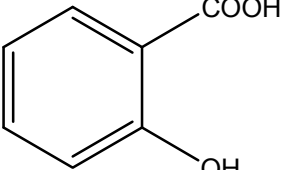
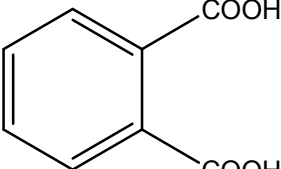
**Лимонная кислота**

$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$
190	5.84	234	0.06	278	0.02	322	0.01
192	5.13	236	0.05	280	0.02	324	0.01
194	4.26	238	0.04	282	0.02	326	0.01
196	3.47	240	0.04	284	0.02	328	0.01
198	2.84	242	0.04	286	0.01	330	0.01
200	2.37	244	0.03	288	0.01	332	0.01
202	2.00	246	0.03	290	0.01	334	0.01
204	1.67	248	0.03	292	0.01	336	0.01
206	1.40	250	0.03	294	0.01	338	0.01
208	1.18	252	0.03	296	0.01	340	0.01
210	1.00	254	0.03	298	0.01	342	0.01
212	0.83	256	0.03	300	0.01	344	0.01
214	0.68	258	0.03	302	0.01	346	0.01
216	0.55	260	0.03	304	0.01	348	0.01
218	0.45	262	0.02	306	0.01	350	0.01
220	0.35	264	0.02	308	0.01	352	0.01
222	0.27	266	0.02	310	0.01	354	0.01
224	0.20	268	0.02	312	0.01	356	0.01
226	0.16	270	0.02	314	0.01	358	0.01
228	0.12	272	0.02	316	0.01	360	0.01
230	0.09	274	0.02	318	0.01		
232	0.08	276	0.02	320	0.01		

**Аскорбиновая кислота**

$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$
190	5.10	234	3.15	278	11.77	322	0.01
192	4.47	236	3.68	280	10.27	324	0.01
194	3.77	238	4.29	282	8.78	326	0.01
196	3.09	240	4.97	284	7.35	328	0.01
198	2.52	242	5.75	286	5.98	330	0.01
200	2.07	244	6.65	288	4.79	332	0.01
202	1.71	246	7.67	290	3.76	334	0.01
204	1.43	248	8.77	292	2.88	336	0.01
206	1.23	250	9.96	294	2.14	338	0.01
208	1.09	252	11.22	296	1.56	340	0.01
210	1.00	254	12.52	298	1.11	342	0.01
212	0.95	256	13.74	300	0.77	344	0.01
214	0.94	258	14.89	302	0.52	346	0.01
216	0.97	260	15.89	304	0.34	348	0.01
218	1.03	262	16.68	306	0.22	350	0.01
220	1.13	264	17.17	308	0.14	352	0.01
222	1.28	266	17.33	310	0.09	354	0.01
224	1.46	268	17.15	312	0.06	356	0.01
226	1.69	270	16.60	314	0.04	358	0.01
228	1.97	272	15.74	316	0.02	360	0.01
230	2.31	274	14.61	318	0.02		
232	2.70	276	13.27	320	0.01		

## Структурные формулы ароматических карбоновых кислот

Название	Структурная формула	$pK_1$	$pK_2$
Бензойная кислота		4,18	
Салициловая кислота		2,7	7,5
О-фталевая кислота		2,93	5,41



**Спектральные отношения ( $A_\lambda/A_{210}$ ) ароматических карбоновых кислот  
в диапазоне длин волн от 190 до 360 нм**

**Бензойная кислота**

$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$
190	3.02	234	0.87	278	0.05	322	0.00
192	3.30	236	0.71	280	0.04	324	0.00
194	3.48	238	0.57	282	0.02	326	0.00
196	3.46	240	0.44	284	0.01	328	0.00
198	2.90	242	0.34	286	0.00	330	0.00
200	2.22	244	0.27	288	0.00	332	0.00
202	1.71	246	0.22	290	0.00	334	0.00
204	1.37	248	0.18	292	0.00	336	0.00
206	1.17	250	0.16	294	0.00	338	0.00
208	1.05	252	0.14	296	0.00	340	0.00
210	1.00	254	0.12	298	0.00	342	0.00
212	1.00	256	0.11	300	0.00	344	0.00
214	1.04	258	0.11	302	0.00	346	0.00
216	1.11	260	0.10	304	0.00	348	0.00
218	1.21	262	0.10	306	0.00	350	0.00
220	1.29	264	0.10	308	0.00	352	0.00
222	1.35	266	0.10	310	0.00	354	0.00
224	1.37	268	0.10	312	0.00	356	0.00
226	1.34	270	0.09	314	0.00	358	0.00
228	1.27	272	0.08	316	0.00	360	0.00
230	1.15	274	0.07	318	0.00		
232	1.02	276	0.07	320	0.00		

**Салициловая кислота**

$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_\lambda/A_{210}$
190	0.98	234	0.39	278	0.11	322	0.03
192	1.11	236	0.35	280	0.12	324	0.02
194	1.23	238	0.30	282	0.14	326	0.02
196	1.33	240	0.24	284	0.16	328	0.01
198	1.39	242	0.17	286	0.18	330	0.01
200	1.42	244	0.11	288	0.20	332	0.01
202	1.44	246	0.07	290	0.21	334	0.01
204	1.44	248	0.05	292	0.23	336	0.01
206	1.39	250	0.03	294	0.24	338	0.00
208	1.23	252	0.02	296	0.24	340	0.00
210	1.00	254	0.02	298	0.24	342	0.00
212	0.78	256	0.02	300	0.23	344	0.00
214	0.62	258	0.02	302	0.22	346	0.00
216	0.52	260	0.02	304	0.20	348	0.00
218	0.46	262	0.02	306	0.18	350	0.00
220	0.43	264	0.03	308	0.16	352	0.00
222	0.42	266	0.03	310	0.13	354	0.00
224	0.43	268	0.04	312	0.11	356	0.00
226	0.43	270	0.05	314	0.09	358	0.00
228	0.44	272	0.06	316	0.07	360	0.00
230	0.43	274	0.07	318	0.05		
232	0.42	276	0.09	320	0.04		

**О-фталевая кислота**

$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$	$\lambda$ , нм	$A_{\lambda}/A_{210}$
190	1.45	234	0.33	278	0.05	322	0.00
192	1.52	236	0.31	280	0.05	324	0.00
194	1.58	238	0.29	282	0.05	326	0.00
196	1.62	240	0.27	284	0.05	328	0.00
198	1.63	242	0.24	286	0.05	330	0.00
200	1.60	244	0.22	288	0.04	332	0.00
202	1.54	246	0.19	290	0.04	334	0.00
204	1.44	248	0.16	292	0.03	336	0.00
206	1.31	250	0.14	294	0.03	338	0.00
208	1.16	252	0.12	296	0.02	340	0.00
210	1.00	254	0.10	298	0.02	342	0.00
212	0.84	256	0.08	300	0.01	344	0.00
214	0.70	258	0.07	302	0.01	346	0.00
216	0.59	260	0.06	304	0.00	348	0.00
218	0.51	262	0.05	306	0.00	350	0.00
220	0.46	264	0.05	308	0.00	352	0.00
222	0.42	266	0.05	310	0.00	354	0.00
224	0.39	268	0.05	312	0.00	356	0.00
226	0.38	270	0.05	314	0.00	358	0.00
228	0.36	272	0.05	316	0.00	360	0.00
230	0.35	274	0.05	318	0.00		
232	0.34	276	0.05	320	0.00		