

Хроматография

Введение

Хроматографический метод разделения и анализа сложных смесей был открыт русским ботаником М. С. Цветом в 1903 г. В первых же работах с помощью этого метода М. С. Цвет установил, что считавшийся однородным зеленый пигмент растений хлорофилл на самом деле состоит из нескольких веществ. При пропускании экстракта зеленого листа через колонку, заполненную порошком мела, и промывании петролейным эфиром он получил несколько окрашенных зон, что с несомненностью говорило о наличии в экстракте нескольких веществ. Этот метод он назвал хроматографией (от греч. *χρωματός* - цвет), хотя сам же указал на возможность разделения и бесцветных веществ.



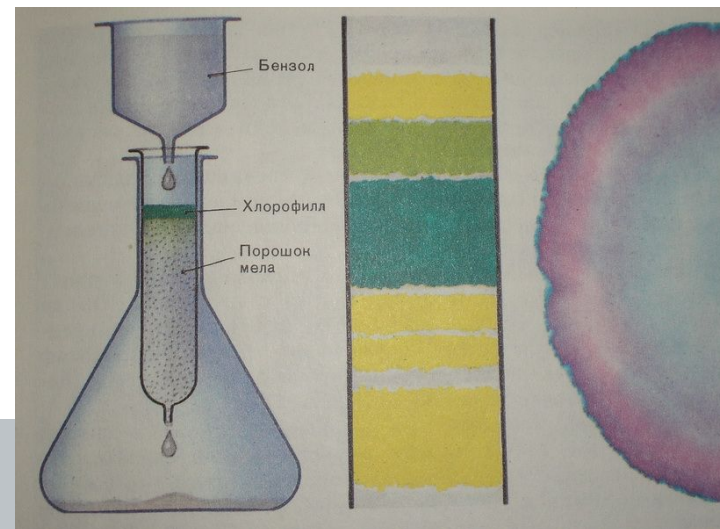
Основные виды хроматографии

Хроматография - физико-химический процесс, основанный на многократном повторении актов сорбции и десорбции вещества при перемещении его в потоке подвижной фазы вдоль неподвижного сорбента.

В качестве неподвижной фазы используют твердые (или твердообразные) тела и жидкости.

В соответствии с агрегатным состоянием подвижной и неподвижной фаз различают следующие виды хроматографии:

- 1) газовая хроматография (газо-адсорбционная и газо-жидкостная)
- 3) жидкостная хроматография
- б) сверхкритическая флюидная хроматография



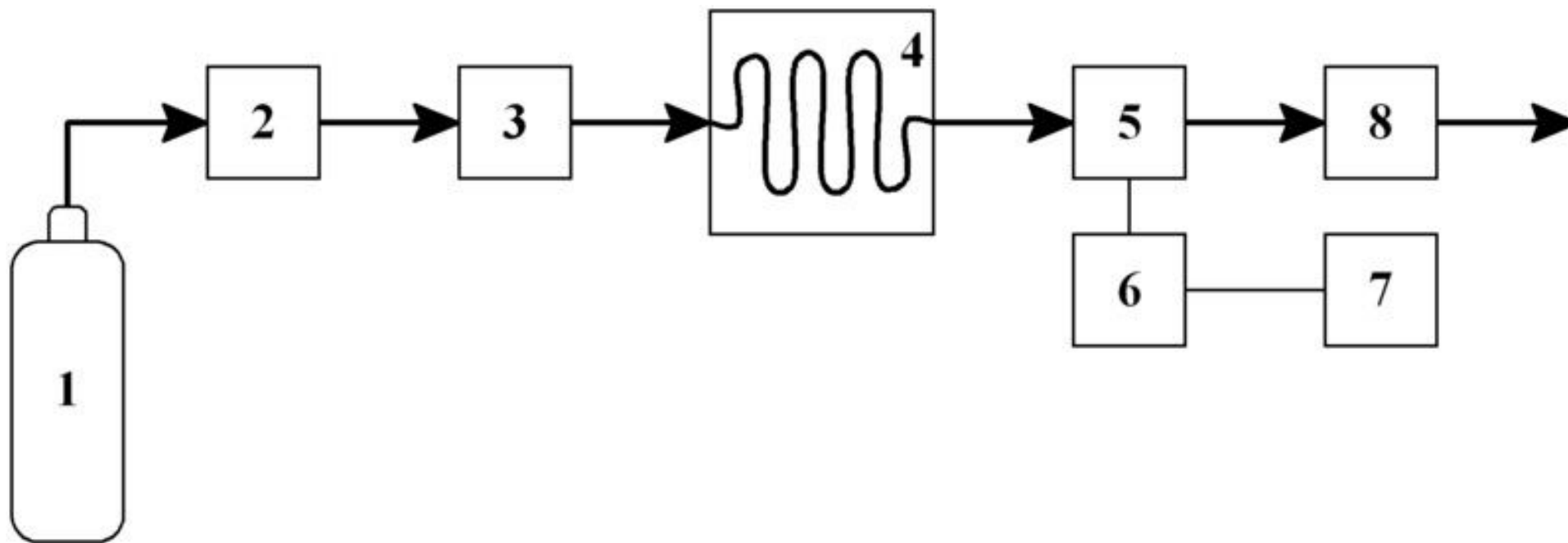
Газовая хроматография

Газовая хроматография — разновидность хроматографии, метод разделения летучих компонентов, при котором подвижной фазой служит инертный газ (газ-носитель), протекающий через неподвижную фазу с большой поверхностью. В качестве подвижной фазы используют водород, гелий, азот, аргон, углекислый газ. Газ-носитель не реагирует с неподвижной фазой и разделяемыми веществами.

Различают газо-твёрдофазную и газо-жидкостную хроматографию. В первом случае неподвижной фазой является твёрдый носитель (силикагель, уголь, оксид алюминия), во втором — жидкость, нанесённая на поверхность инертного носителя.

Газовая хроматография

Главным прибором для этого метода исследований является газовый хроматограф (Рис. 1).



Газовая хроматография

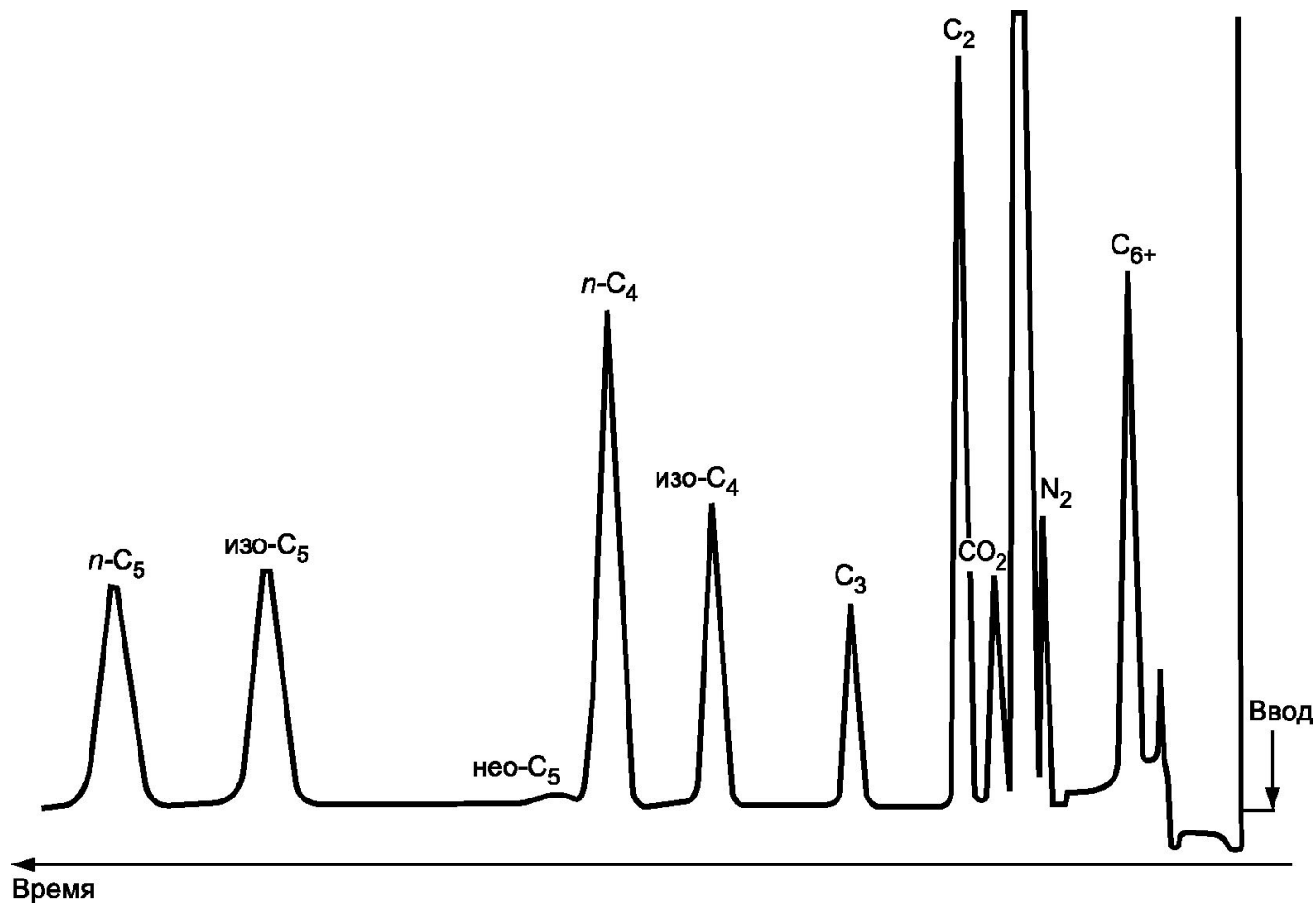


Рисунок 2 - Хроматограмма

Газовая хроматография

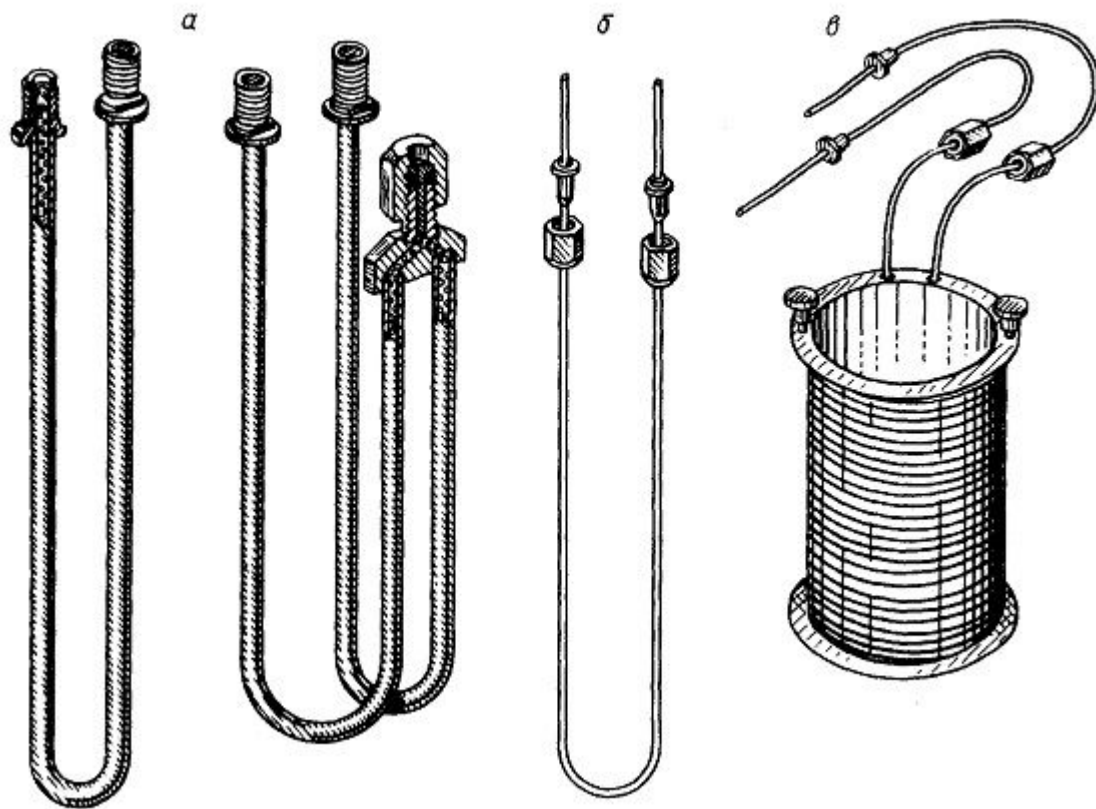


Рисунок 3 — Типы колонок.

а — насадочная колонка;

б — микронасадочная колонка;

в — капиллярная колонка.

Газовый хроматограф



Газовая хроматография

Детектор	Область применения	Нижний предел детектирования, пг	Линейный диапазон (отношение наибольшего содержания вещества к наименьшему)
Детектор по теплопроводности (катарометр)	Все вещества	10	10 ⁴
Пламенно-ионизационный детектор (ПИД)	Все виды органических веществ	100	10 ⁶
Термоионный детектор (ТИД)	Вещества, содержащие азот и фосфор	1–10	10 ³ –10 ⁴
Детектор электронного захвата (ЭЗД)	Вещества, содержащие серу, галоген и азот	0,001–1,0	10 ²
Пламенно-фотометрический детектор (ПФД)	Вещества, содержащие серу и фосфор	100	10 ³ –10 ⁵

Газовая хроматография

Сферы применения

Использование газовых хроматографов актуально в различных промышленных отраслях, медицине и криминалистике.

С помощью таких хроматографов обычно исследуют:

Продукты горения. Анализ могут подвергаться продукты горения, образовавшиеся при использовании топлива различных видов.

Результаты работы промышленных печей, топочных приборов, парогенераторов и т. д. Посредством газового хроматографа можно анализировать и контролировать результаты работы технического оборудования.

Состав воздуха. Обычно исследуют воздух в рудниках, складских и промышленных помещениях.

Медикаменты. Речь идет об анализе количественного и качественного состава лекарственных средств.

Жидкостная хроматография

Жидкостная хроматография - метод разделения, идентификации, количественного определения и физико-химического исследования веществ; вид хроматографии, в которой в качестве подвижной фазы (элюента) используется жидкость.

Предложено несколько десятков методов и вариантов жидкостной хроматографии, которые позволяют разделять смеси соединений с молекулярными массами от 50 до нескольких миллионов, включая изомеры (в том числе оптические), макромолекулы синтетических и биополимеров, ионы, стабильные радикалы, вирусы и другие микрочастицы.

Жидкостная хроматография

По механизму разделения выделяют следующие основные методы жидкостной хроматографии:

адсорбционный - разделение происходит за счёт различной адсорбируемости компонентов смеси на поверхности твёрдого тела (адсорбента);

распределительный - разделение за счёт различной растворимости в плёнке жидкой фазы, нанесённой на поверхность твёрдого носителя;

ионообменный (ионный, ион-парный) - за счёт различной способности разделяемых ионов в растворе к ионному обмену с ионитом - неподвижной фазой;

эксклюзионный (молекулярно-ситовый, гель-фильтрационный, гель-проникающий) - разделение макромолекул полимеров, а также малых молекул и ионов за счёт различных размеров или формы и способности проникать в поры неионогенного геля - неподвижной фазы;

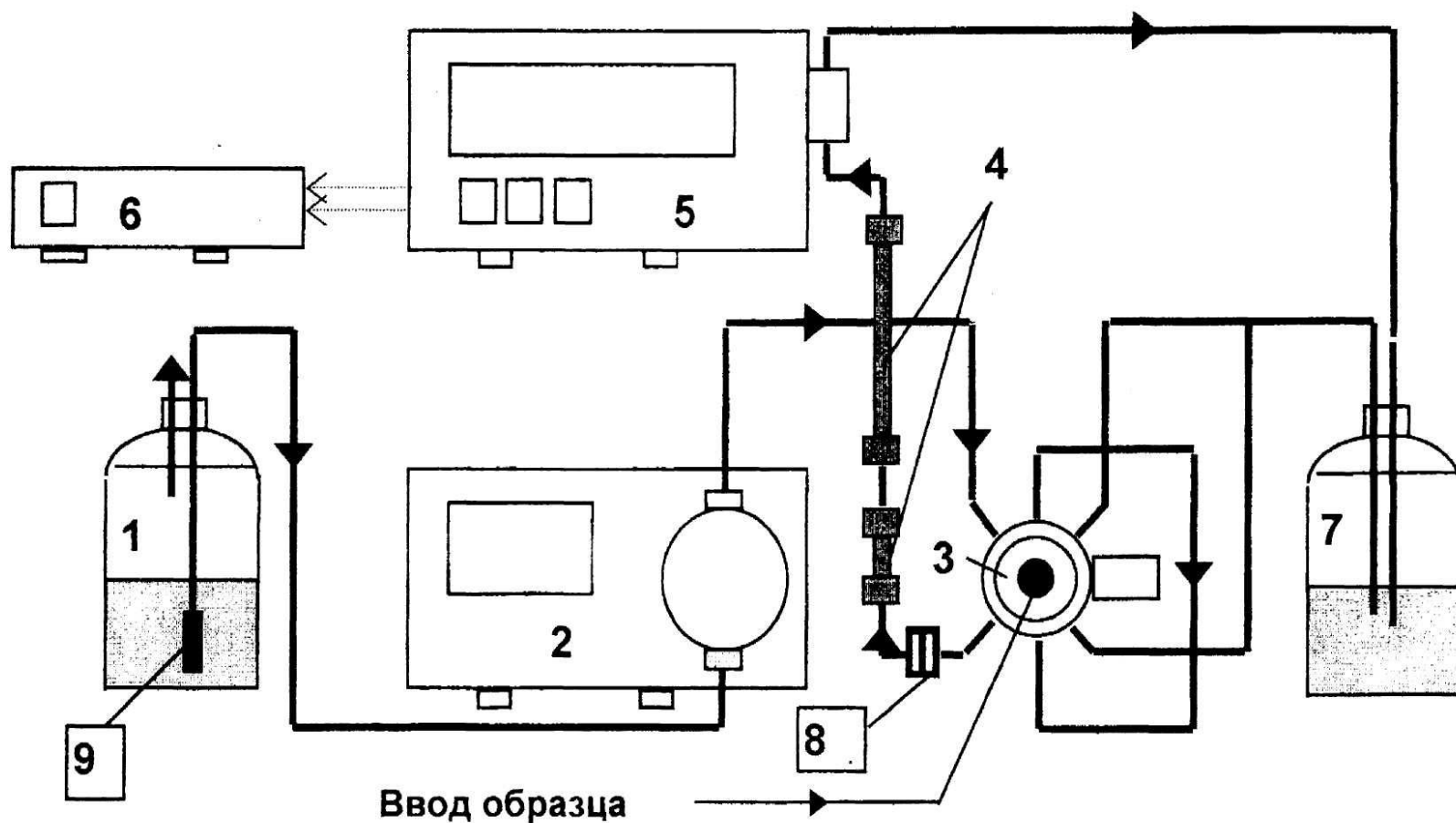
аффинный (биоспецифический) - разделение биологически активных соединений за счёт биоспецифических взаимодействий с комплементарными сорбционными центрами неподвижной фазы;

лигандообменный - разделение за счёт различной способности разделяемых соединений к комплексообразованию с катионами металлов или функциональными группами неподвижной фазы;

хиральный (энантиоселективный) - разделение энантиомеров за счёт взаимодействия с хиральными группами неподвижной или подвижной фазы, а также ряд других методов.

Жидкостная хроматография

Работа изократического хроматографа



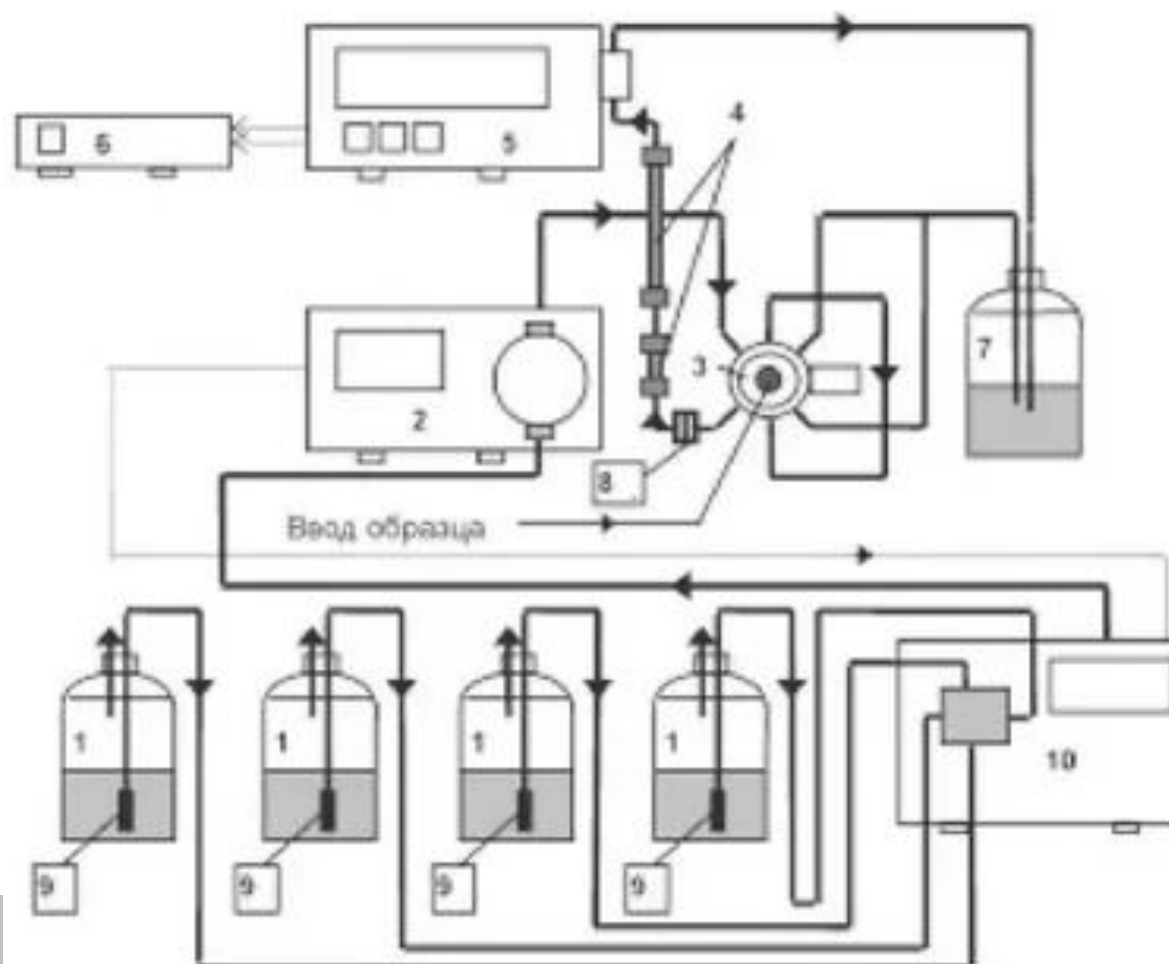
Жидкостная хроматография

Изократический хроматограф



Жидкостная хроматография

Работа градиентного хроматографа



Жидкостная хроматография

Градиентный хроматограф



Жидкостная хроматография

Сферы применения

Высокоэффективная жидкостная хроматография используется:

в биологии и биотехнологии (в том числе при расшифровке генома человека, решении задач протеомики, пептидомики, метаболомики);

в медицине (например, для ранней диагностики заболеваний с использованием биохимических маркеров);

в фармацевтике при создании новых лекарств и анализе их чистоты (в том числе энантиомерной);

в судебно-медицинских экспертизах;

в контроле окружающей среды и промышленных выбросов, технологических процессов и качества продукции в химической, нефтехимической, пищевой, микробиологической промышленности;

препаративную жидкостную хроматографию используют для выделения и очистки многих природных и синтетических веществ, в том числе биологически активных соединений, вирусов (гриппа, энцефалита и др.), белков и полипептидов;

Сверхкритичная флюидная хроматография

Сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ) — вид элюентной хроматографии, в которой в качестве основного компонента подвижной фазы используется вещество в сверхкритическом или окологкритическом состоянии.

В сверхкритической флюидной хроматографии (СФХ) подвижной фазой служит сверхкритический флюид – вещество, находящееся в сверхкритическом состоянии и имеющее показатели, промежуточные между характеристиками газов и жидкостей, благодаря тому, что находится при так называемой критической температуре и критическом давлении. Наиболее

важными характеристиками используемых в хроматографии

подвижных фаз являются плотность, вязкость и коэффициент

Сверхкритичная флюидная хроматография

Характеристика	Газы	Сверхкритические флюиды	Жидкости
Плотность, г/см ³	$0,6 \cdot 10^{-3} - 2 \cdot 10^{-3}$	0,2 – 0,5	0,6 – 2
Вязкость, г/(см · с)	$1 \cdot 10^{-4} - 3 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4} - 3 \cdot 10^{-4}$	$0,2 \cdot 10^{-2} - 3 \cdot 10^{-2}$
Коэффициент диффузии, см ² /с	$0,6 \cdot 10^{-3} - 2 \cdot 10^{-3}$	$0,6 \cdot 10^{-3} - 2 \cdot 10^{-3}$	$0,6 \cdot 10^{-3} - 2 \cdot 10^{-3}$

Сверхкритичная флюидная хроматография

Благодаря тому, что СФХ объединила преимущества газовой и жидкостной хроматографии, она особенно полезна при установлении соединений, которые не могут быть определены ни газовой, ни жидкостной хроматографией. Это, с одной стороны, нелетучие вещества, которые не могут испаряться без разложения, и, с другой стороны, вещества, не содержащие функциональных групп и, следовательно, не дающие сигнал при использовании обычных для жидкостной хроматографии спектроскопических или электрохимических детекторов.

Сверхкритичная флюидная хроматография

Примеров применения СФХ для определения нелетучих веществ с относительно высокой молекулярной массой достаточно много уже в настоящее время. С ее помощью эффективно анализируются многие природные продукты, лекарства, пищевые продукты, поверхностно-активные вещества, полимеры, сырая нефть и продукты ее переработки и многие другие объекты.

Вывод

Диапазон применения хроматографических методов огромен: от анализа атмосферы планет Солнечной системы до полного анализа содержимого одной живой клетки.

Исключительную роль хроматография играет в химической, нефтехимической, газовой, пищевой, целлюлозно-бумажной и многих других отраслях промышленности, прежде всего в технологическом контроле и поддержании оптимального режима производства, в контроле исходного сырья и качества готовой продукции, анализе газовых и водных сбросов производства.

Вывод

На каждом из 150 крупных заводов в России в технологическом контроле постоянно функционируют от 100 до 600 газовых хроматографов.

Тысячи газовых, жидкостных и ионных хроматографов эксплуатируются в лабораториях Госсанэпиднадзора, экологических центрах, токсикологических лабораториях, и так далее.

Велико значение хроматографических методов в геологоразведке, в частности, в поиске газоносных и нефтеносных регионов как на суше, так и в морях, месторождений полезных ископаемых. Все чаще используется