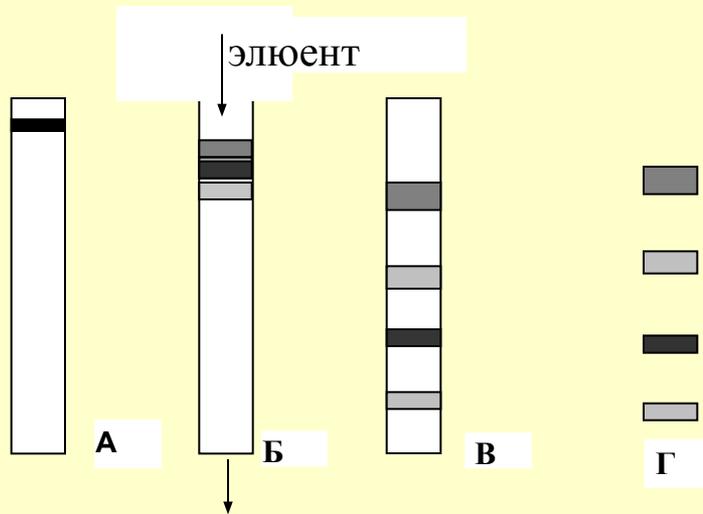
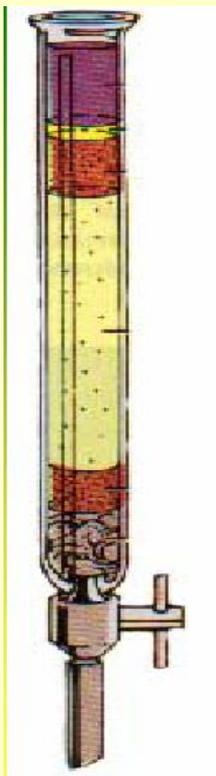


ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

План лекции

1. История и основные принципы хроматографии
2. Хроматография как метод анализа
3. Виды хроматографии

Михаил Семенович Цвет (1872 -1919)

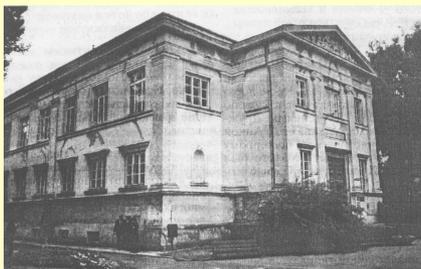
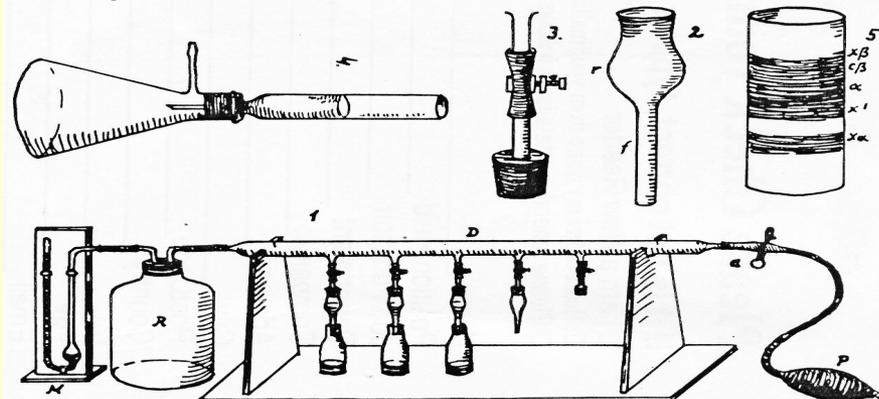


Разделение хлорофилла (1903)



Доктор С. Букин
М. Цвет

Аппаратура Цвета



Здесь была открыта хроматография

A photograph of a dark grey granite gravestone for Mikhail Semyonovich Tsvet. The stone is set on a light-colored concrete base and is surrounded by a black metal fence. A small bouquet of white flowers is placed on top of the stone. The background features a stone wall and a multi-story building with arched windows.

ЦВЕТЬ
МИХАИЛ
СЕМЕНОВИЧ
14. V. 1872 - 20. V. 1933

Эта знаменитая
ХРОМАТОГРАФИЯ
РАЗДЕЛЯЮЩЮЮ
МОЛЕКУЛЫ
ОБЪЕДИНЯЮЩЮЮ
ЛЮДЕЙ

История хроматографического анализа

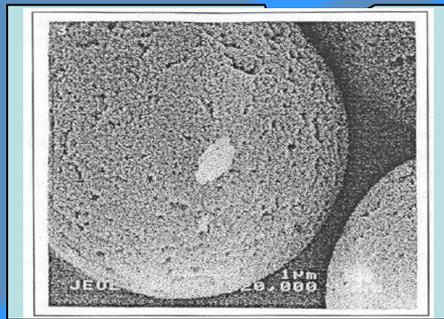
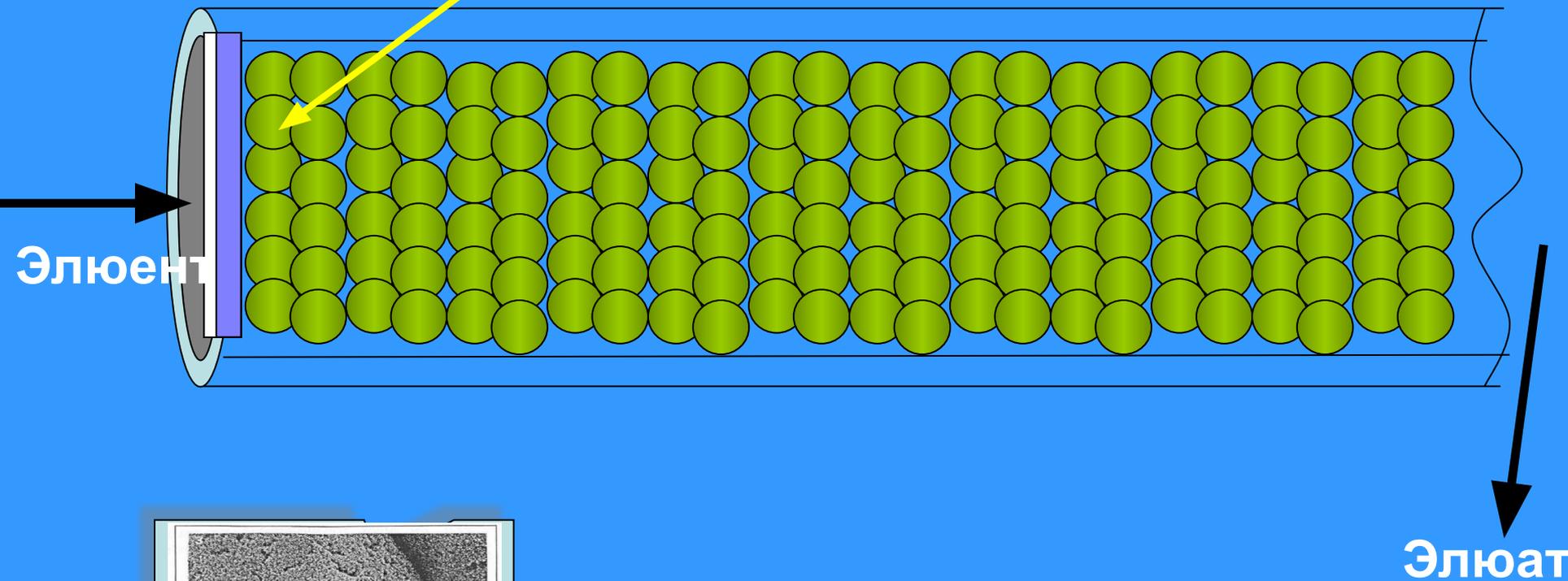
- 1903** – первый доклад М.С.Цвета о разделении хлорофилла;
- 1931** – признание приоритета Цвета как создателя хроматографии в целом и адсорбционно-хроматографического анализа в частности;
- 1937** - ионообменная хроматография (Г.Шваб, США);
- 1938** - тонкослойная хроматография (Н.А.Измайлов, М.С.Шрайбер, СССР);
- 1941** - жидкостная распределительная хроматография как метод анализа смесей аминокислот (А.Мартин, Р.Синдж, Англия);
- 1944** - бумажная хроматография (А.Мартин, Р.Синдж, Англия);
- 1945** - первые публикации по газоадсорбционной хроматографии;
- 1952** - А.Джеймс и А.Мартин создали газожидкостную хроматографию и предложили первую теорию разделения («теорию тарелок»);
- 1953** - построен и применен в анализе первый газовый хроматограф.

История хроматографического анализа (продолжение)

- 1956** - теория размывания хроматографических пиков (Я. Ван Деемтер, А.Клинкенберг, Голландия);
- 1956** - капиллярная газовая хроматография (М.Голэй, Франция);
- 1960-е годы** - массовый выпуск газовых хроматографов, препаративная хроматография, хромато-масс-спектрометрия;
- 1966-1971** - первые жидкостные хроматографы высокого давления (Ш. Хорват, США, Г.Киркланд, Англия). Развитие метода ВЭЖХ;
- 1975** - ионная хроматография (Х.Смолл, Т.Стивенс и В.Бауман, США);
- 1980–е годы** - флюидная (сверхкритическая) хроматография;
- 1990-е годы** – базы данных и системы компьютерной идентификации для хроматографического анализа.

Процесс разделения

Сорбат



Сорбент



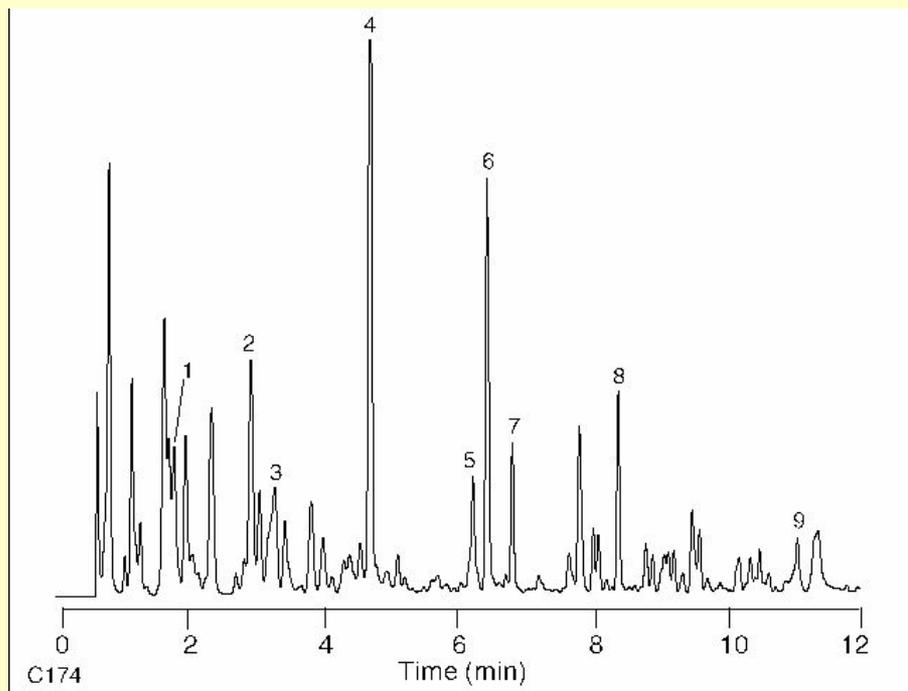
Хроматографическое разделение основано на различии скоростей перемещения разных компонентов пробы через слой сорбента.

Скорости движения компонентов в хроматографии теоретически не должны зависеть ни от концентрации сорбата, ни от состава пробы (природы и концентрации других компонентов).

На практике эти положения иногда не выполняются, особенно при высокой концентрации компонентов и при вводе в колонку большой массы пробы. Это ведет к ошибочным результатам анализа.

Хроматограмма бензина

(метод ГЖХ, режим программирования температуры)



1. 3-метилпентан

2. бензол

3. изооктан

4. толуол

5. этилбензол

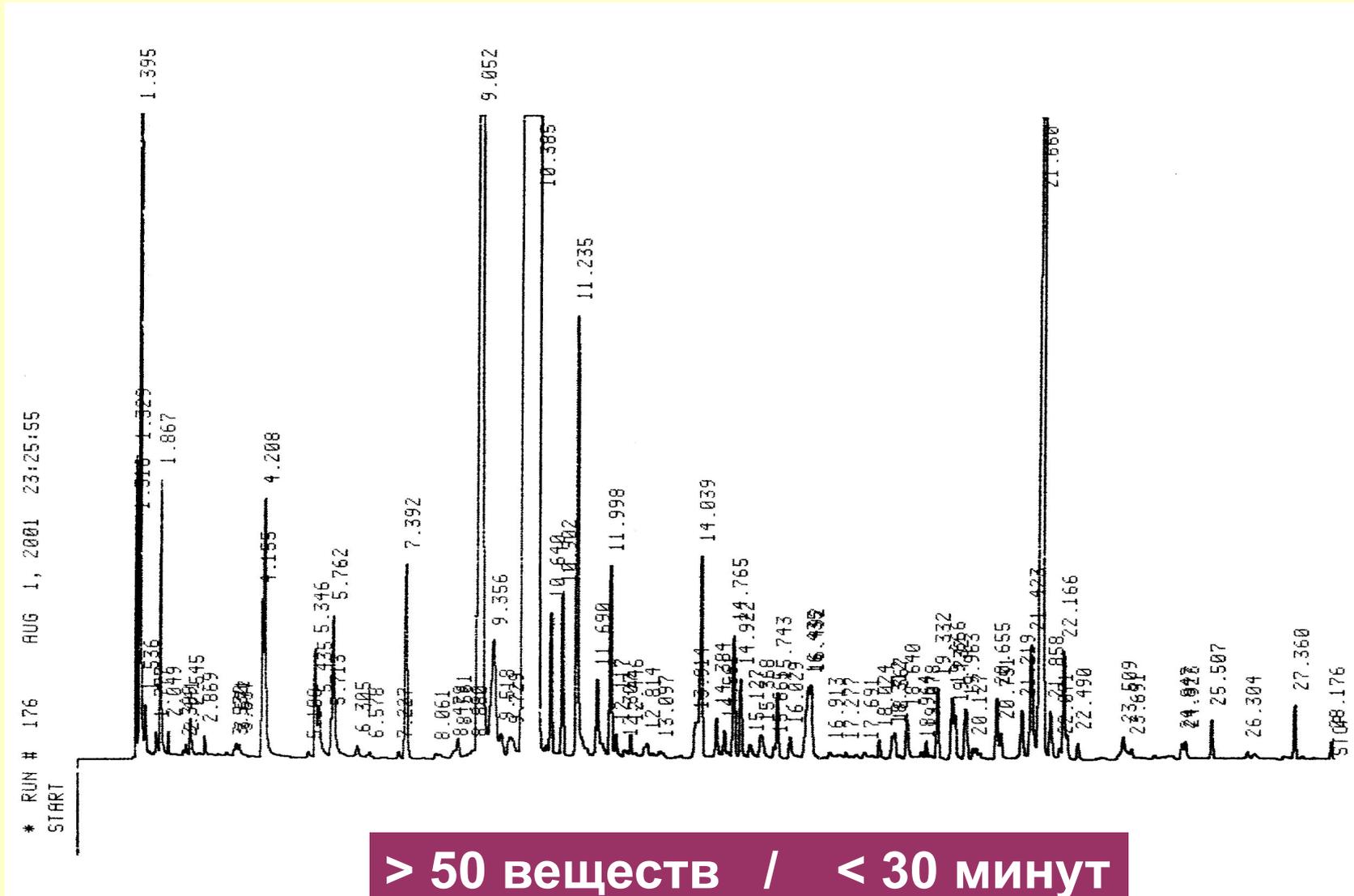
6. *m*- и *p*-ксилолы

7. *o*-ксилол

8. 1,2,4-триметилбензол

9. нафталин

Хроматограмма апельсинового сока (метод ВЭЖХ, режим градиентного элюирования)



> 50 веществ / < 30 минут

Хроматография – это метод разделения и анализа смесей, основанный на многократном перераспределении компонентов смеси между двумя фазами при прохождении подвижной фазы (ПФ) через неподвижную (НФ).

Понятие «хроматография» гораздо шире, чем «хроматографический анализ». Хроматография является не только методом анализа, но и лежит в основе многих природных явлений и промышленных технологий, она позволяет вести глубокую очистку веществ (препаративные методы) и исследовать их свойства (например, измерять характеристики поверхности).

Основные области применения хроматографического анализа

- нефтехимия и химическая промышленность;
- контроль состояния окружающей среды;
- анализ пищевых продуктов и лекарственных препаратов;
- клинический анализ;
- научные исследования.

Основные преимущества хроматографии как аналитического метода

- Высочайшая селективность
- Воспроизводимость результатов
- Многокомпонентность анализа
- Низкие пределы обнаружения (*0.1 мкг/л*)
- Широкий диапазон линейности (*1-1000 мкг/л*)
- Малый расход пробы (*< 1 мл*)
- Экспрессность анализа
- Простота эксплуатации и возможность полной автоматизации

Особенности хроматографического анализа

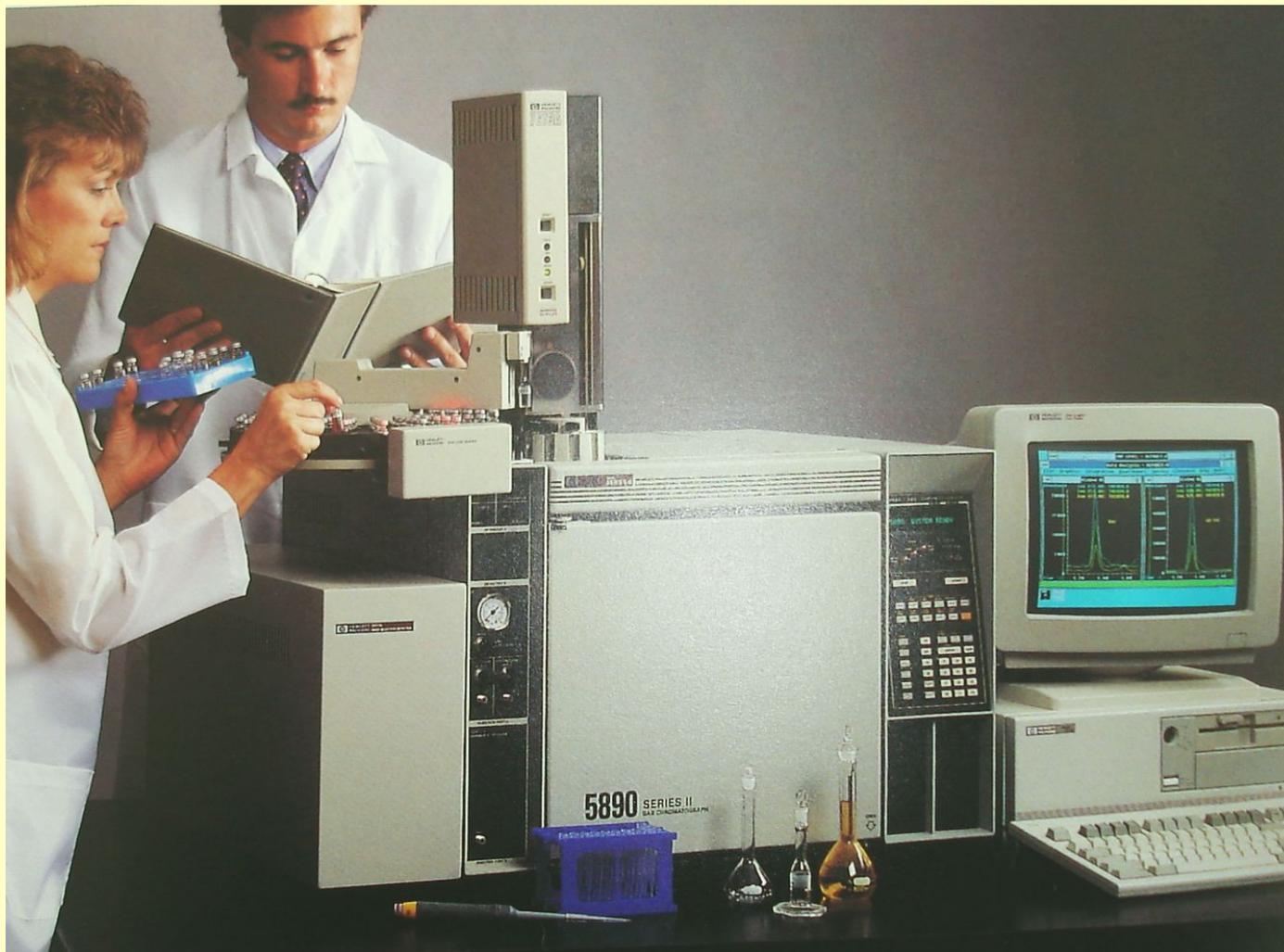
- 1. Гибридный метод** (разделение, идентификация и количественное определение компонентов проводятся одновременно, на одном приборе).
- 2. Универсальность**
- 3. Информативность.**
- 4. Переменная чувствительность**
- 5. Проблематичность концентрирования и непрерывного контроля состава объекта.**
- 6. Незавершенность разработки теоретических основ метода, ведущая к эмпирическому подбору условий разделения смеси.**

Сегодня газовые хроматографы - самые распространенные аналитические приборы.

Число продаж \approx 30 000 приборов / год

Объем мирового рынка $>$ \$ 1 000 000 000 / год

Наиболее известные фирмы: Perkin-Elmer, Hewlett Packard, Agilent, Shimadzu, Carlo Erba, Fisons, “Цвет”, “Кристалл” и др.



В контрольно-аналитической лаборатории.

Газовый хроматограф HP 5890 (фирма Хьюлетт-Паккард)

Классификация хроматографических методов

Признак	Виды
По агрегатному состоянию фаз	Газовая хроматография, жидкостная, флюидная и др.
По механизму межфазного распределения	распределительная, адсорбционная, ионообменная и др.
По способу проведения	колоночная, планарная (ТСХ, БХ)
По способу перемещения сорбата	элюентная, вытеснительная, фронтальная
По целям и задачам	аналитическая, препаративная

Так, метод Цвета – жидкостная адсорбционная колоночная элюентная препаративная хроматография.

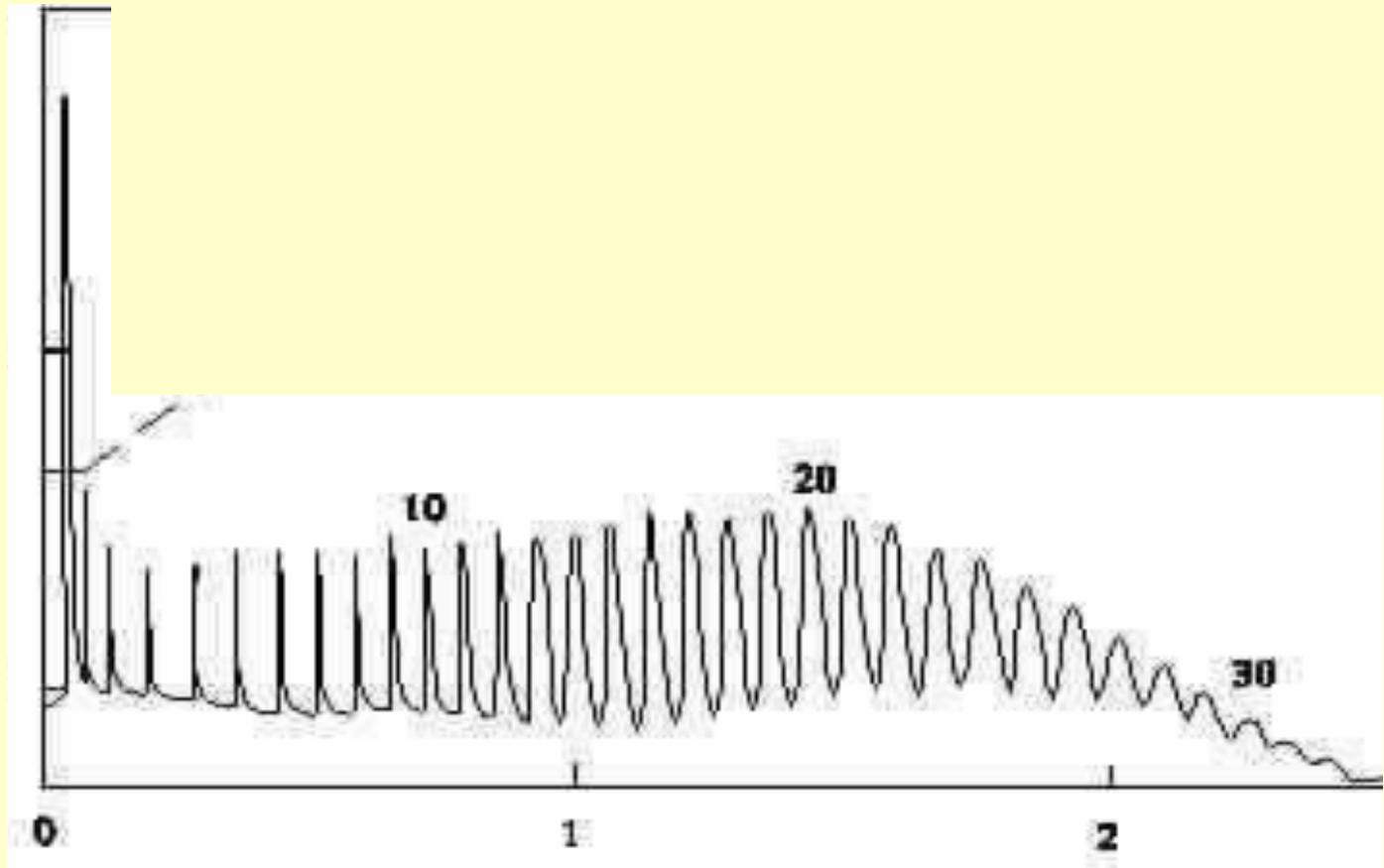
ВИДЫ ХРОМАТОГРАФИИ

1) Классификация по фазовым состояниям

ПФ	НФ	Общее название	Варианты
Газ	Твердая	Газовая хроматография	Газоадсорбционная (ГАХ)
	Жидкая		Газожидкостная (ГЖХ)
Жидкость	Твердая	Жидкостная хроматография	Жидкостно-адсорбционная
	Жидкая		Жидкость-жидкостная
Флюид	Твердая	Флюидная хроматография	Флюидно-адсорбционная
	Жидкая		Флюидно-жидкостная

Флюидная хроматография: разделение олигомеров полистирола

Сигна
л
детек
тора



Время,

часы **Подвижная фаза: субкритический пентан**

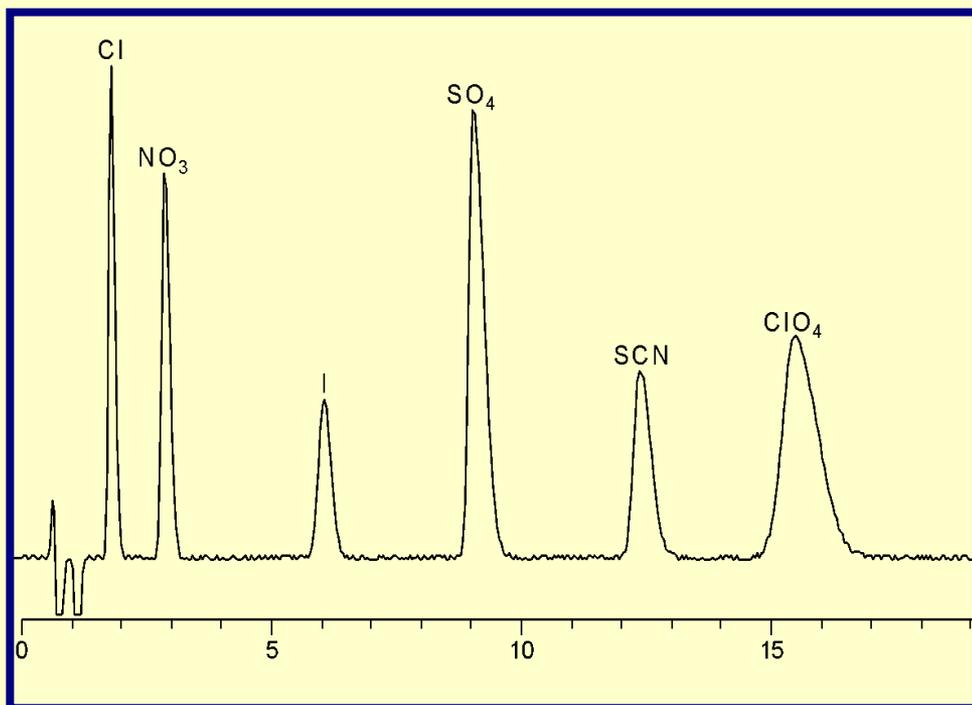
ВИДЫ ХРОМАТОГРАФИИ

2) Классификация по механизму межфазного распределения сорбата

Механизм	Вариант	Значение
Физическая адсорбция	Адсорбционная	+++
Образование химических связей (водородных и др.)	Хемосорбционная	+
Ионный обмен	Ионообменная, ионная	++
Осаждение и растворение осадка	Осадочная	+
Проникновение в поры (разделение по размеру молекул)	Молекулярно-ситовая (эксклюзионная)	++
Растворение в НЖФ (экстракция)	Распределительная	+++++

Ионная хроматография

- **Весьма эффективный метод определения любых ионов.**
- **Лучший метод определения неорганических анионов.**
- **Чувствительность - 1-10 нг/мл (без дополнительного концентрирования).**



**Анионообменник Силасорб-S
с нанесенным 6,10-ионеном.
Колонка: 50x3 мм.**

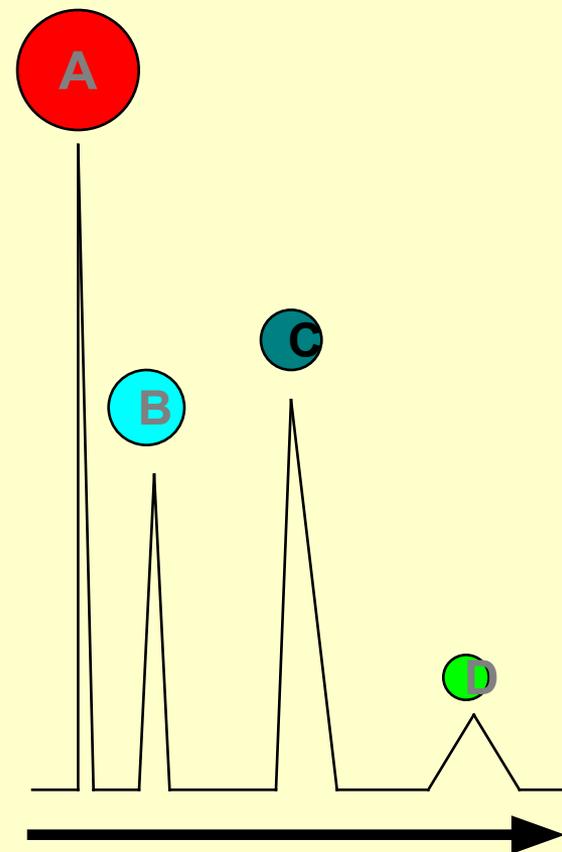
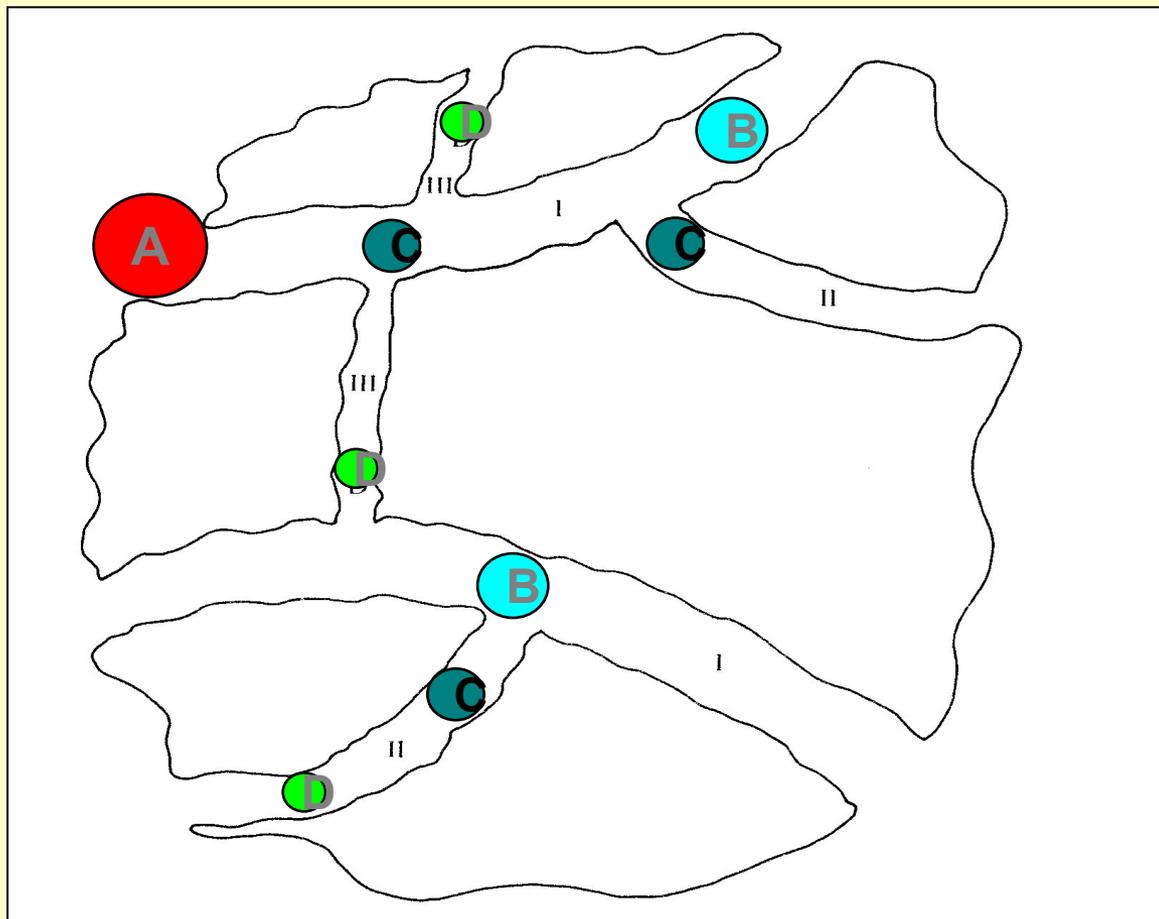
**Элюент: 0.3 мМ гидрофталат
калия. Расход 1.0 мл/мин.**

УФ-детектор ($\lambda=254$ нм).

Схема ионного хроматографа



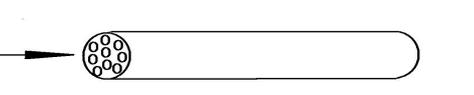
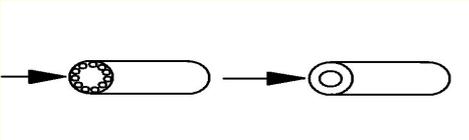
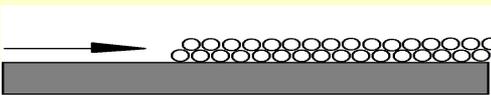
Механизм эксклюзионной хроматографии



**Разделение смеси полипептидов разного размера
на колонке с молекулярными ситами**

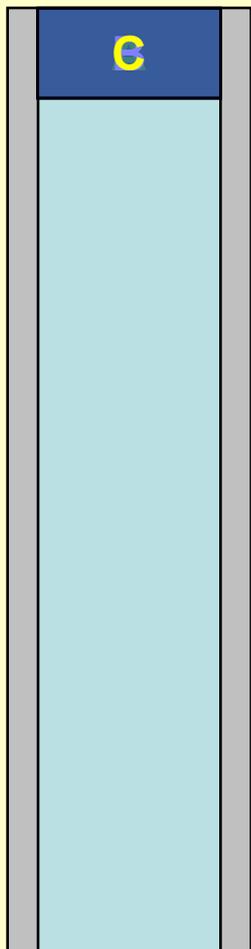
ВИДЫ ХРОМАТОГРАФИИ

3) Классификация по способу проведения хроматографического процесса

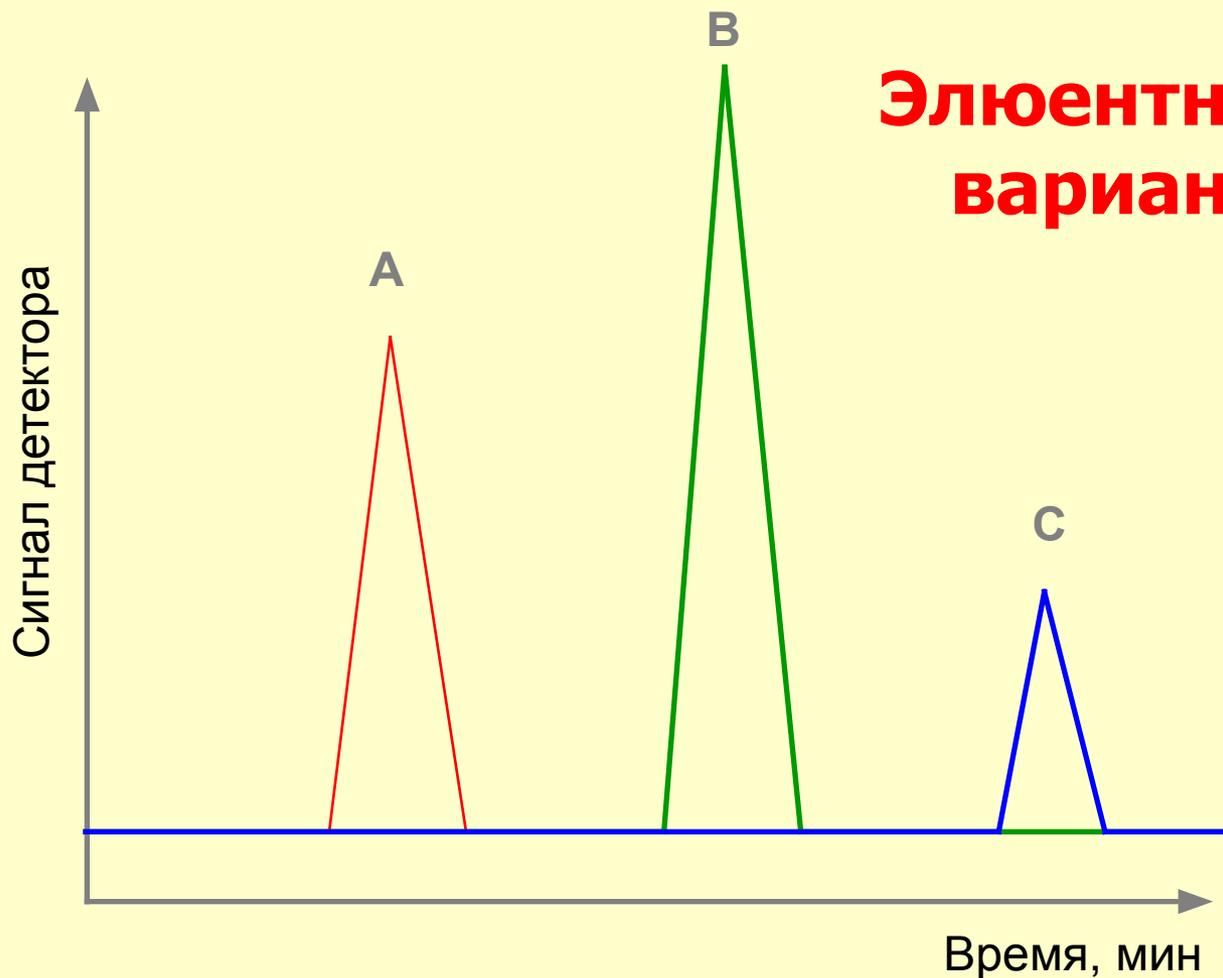
Характер процесса	Схема	Общее название	Вариант
В цилиндрическом слое сорбента		Колоночная	Хроматография на насадочных колонках
В пленке на внутренней стенке капилляра			Капиллярная (в т.ч. на поликапиллярных колонках)
В плоском слое сорбента		Планарная	Бумажная (БХ) и тонкослойная (ТСХ)

ВИДЫ ХРОМАТОГРАФИИ

Элюент

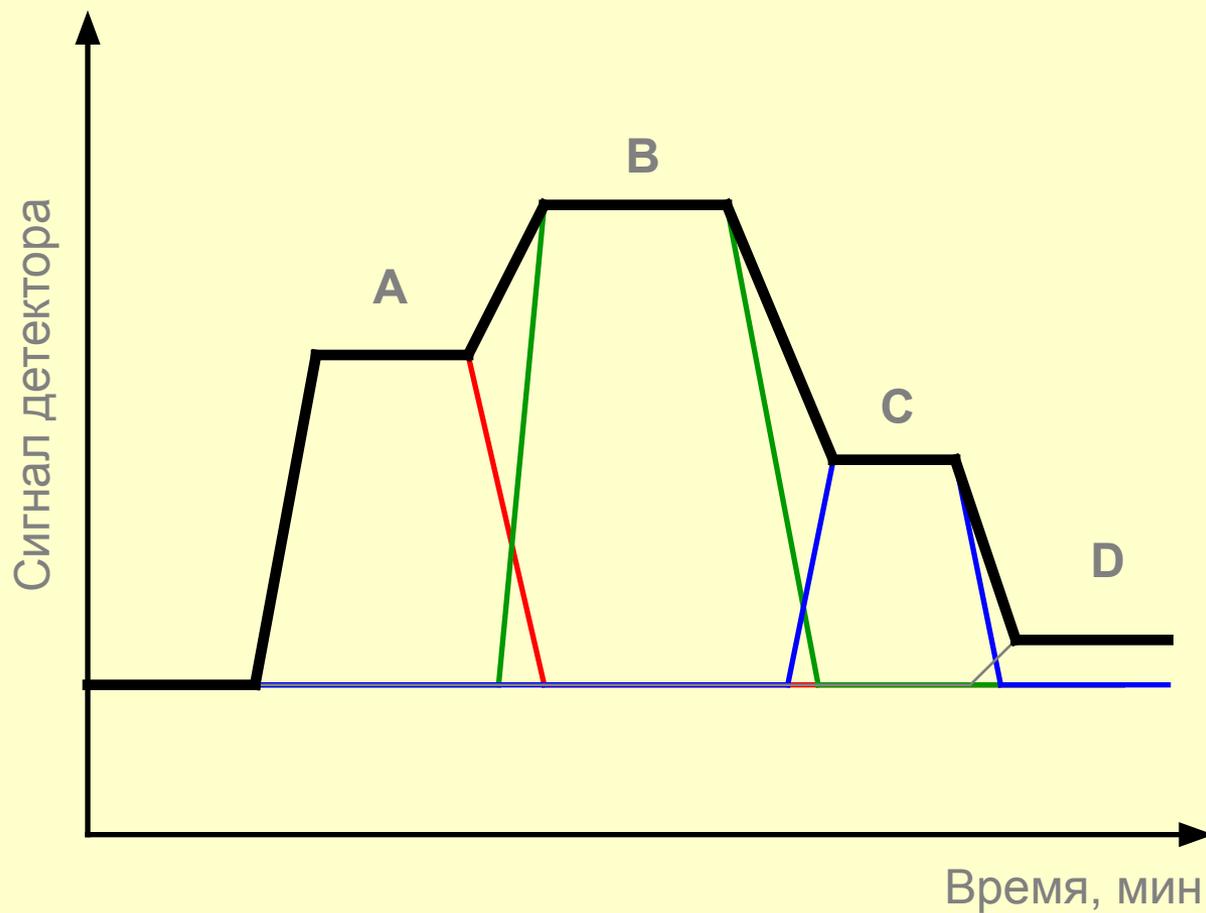
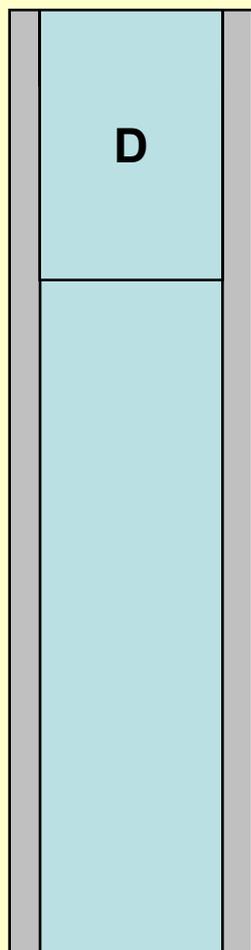


4) Классификация по способу перемещения сорбата



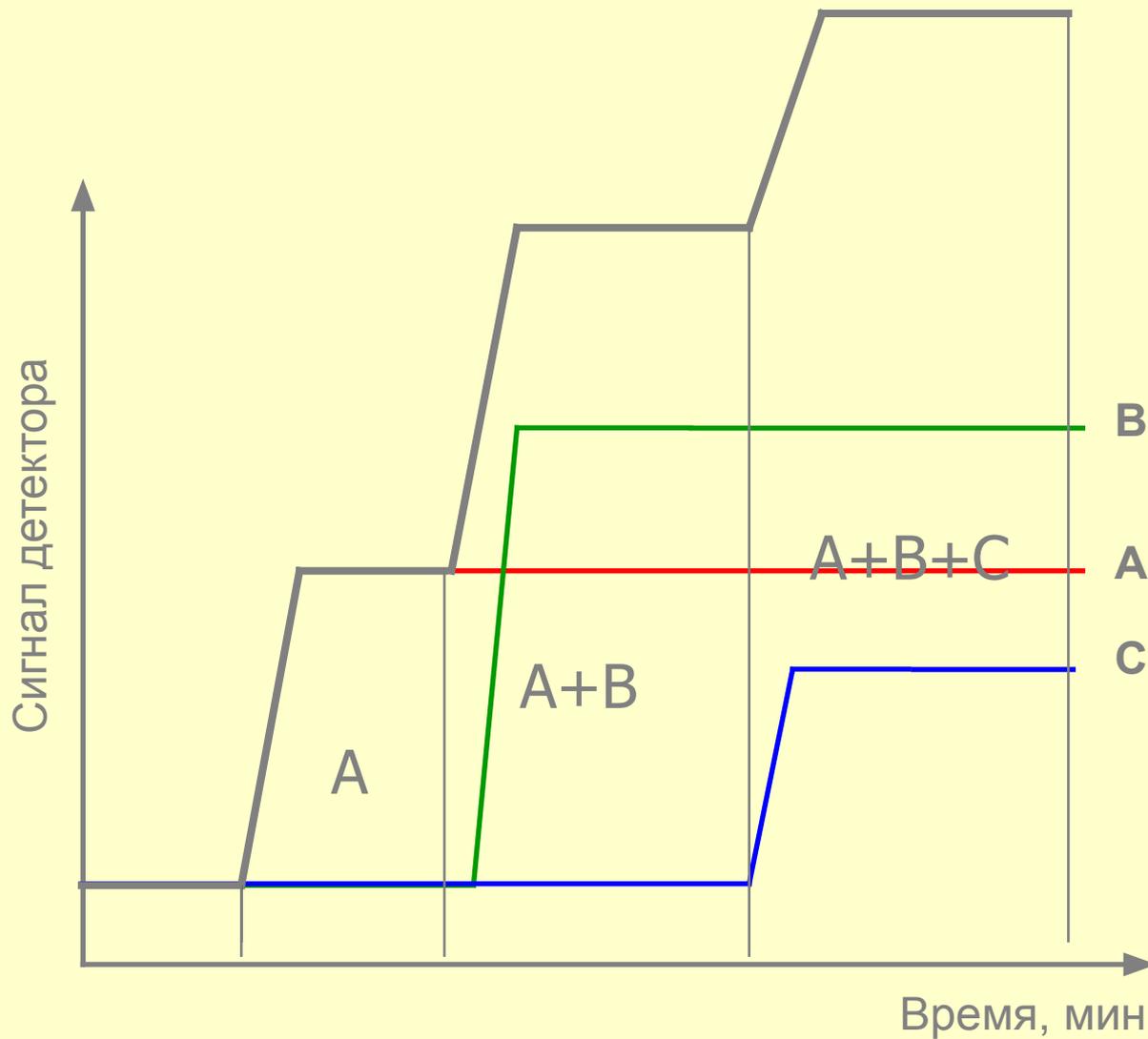
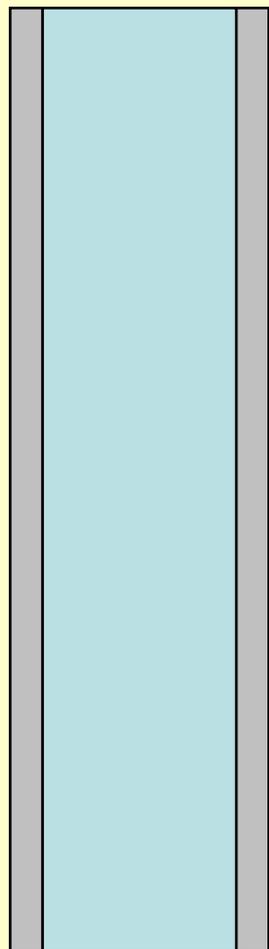
Вещество D
(реагент)

Вытеснительный вариант



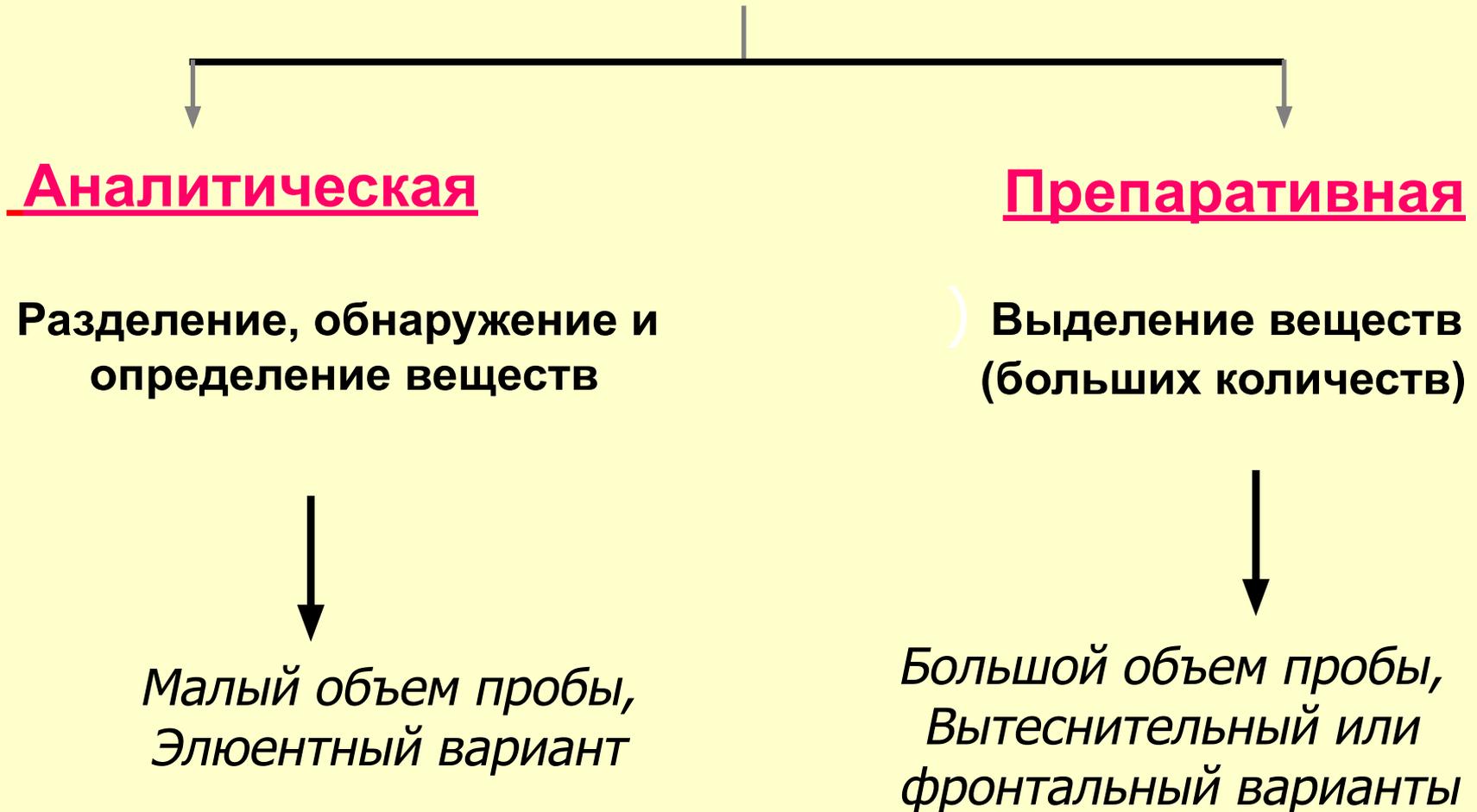
Раствор
пробы

Фронтальный вариант



ВИДЫ ХРОМАТОГРАФИИ

5) Классификация по целям и задачам



Аналитические и препаративные колонки

5-25 см



Дополнительная литература

Аналитическая химия. Проблемы и подходы. В 2 т. Под ред. Р.Кельнера и др. – М.: Мир, 2004. («европейский учебник»).

Айвазов Б.В. Введение в хроматографию – М.: Высшая школа, 1983.

Сакодынский К.И. и др. Аналитическая хроматография. М.: Мир, 1993.

Гольдберг К.А., Вигдергауз М.С. Введение в газовую хроматографию. М.: Химия, 1990.

Хайвер К. Высокоэффективная жидкостная хроматография. М.: 1993.

Столяров В.В., Савинов И.М., Виттенберг А.Г. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии. М.: Химия, 2003.

Айвазов Б.В. Практическое руководство по газовой хроматографии. М.: Высшая школа, 1977.