

## ГАЗОВА ХРОМАТОГРАФІЯ У СУЧАСНОМУ СВІТІ

Одне з важливих завдань сучасної хроматографії – надійний і точний аналіз органічних речовин, часто близьких по будові та властивостям. Без цього неможливе проведення хімічних, фізико-хімічних, біохімічних і медичних досліджень, на цьому значною мірою базуються криміналістична експертиза, екологічні методи аналізу довкілля, а також хімічна, нафтова, газова, харчова, медична галузі промисловості та багато інших галузей народного господарства.

*One of important tasks of modern chromatography is a reliable and exact analysis of organic substances often near on a structure and properties. Without it impossible realization of chemical, physical and chemical, biochemical and medical researches, thereon are largely based criminalistics examination, ecological methods of analysis of environment, and also chemical, petroleum, gas, food, medical industries of industry and many other industries of national economy.*

Ключові слова: хроматографічний аналіз; хроматографічне розділення; адсорбент; адсорбційна хроматографія; іонообмінна хроматографія; рідинна хроматографія; витіснювальний і елюентний аналіз; гель-фільтраційна і молекулярно-ситова хроматографія; полум'яно-іонізаційний детектор; елюент; насадні та капілярні колонки.

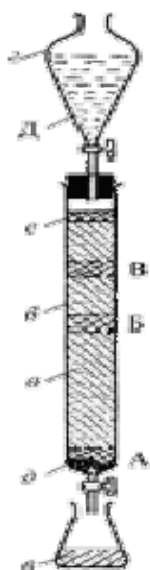


Рис. 1. Хроматографічне розділення пігментів хлорофілу М.С. Цветом: а – адсорбент; б – колонка; у – приймач; г – ділильна воронка; д – вата

### Вступ та постановка завдання

Хроматографічний аналіз – один із найбільш чутливих методів газової хроматографії, уперше запропонований російським ученим М. С. Цветом на початку ХХ ст.. Без його застосування на сучасному етапі не обходяться як синтетики, так і хіміки, що працюють в інших галузях.

Розділення М. С. Цвет проводив в колонці, показаній на мал. 1. Суміш речовин А, Б і В – природних пігментів, що спочатку знаходяться в зоні е, – розділяється при додаванні відповідного розчинника Д (елюент) на окремі зони.

Хроматографія заснована на розподілі однієї з декількох речовин між двома, фазами (наприклад, між твердим тілом і газом, між двома рідинами та ін.), причому одна з фаз постійно переміщується, тобто є пересувною.

Така фаза, наприклад газ або рідина, увесь час просувається, порушуючи рівновагу. При цьому чим краще та або інша речовина сорбується (поглинається) або розчиняється в нерухомій фазі, тим швидкість її руху менша, і, навпаки, чим менше сорбується з'єднання, тобто має меншу спорідненість до нерухомої фази, тим швидкість переміщення більша. У результаті, як показано на рис. 2, якщо спочатку ми маємо суміш з'єднань, то поступово усі вони, що підштовхуються рухливою фазою, рухаються до «фінішу» з різними швидкостями і врешті-решт розділяються.

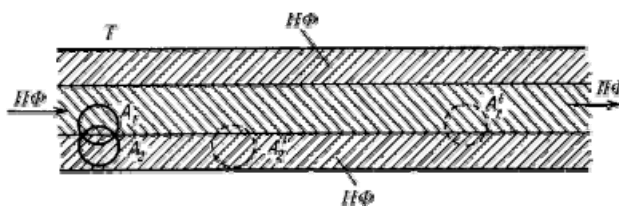


Рис. 2. Основний принцип хроматографічного розділення: НФ – шар нерухомої фази, що покриває внутрішню поверхню капілярної трубки Т, через яку тече рухома фаза (ПФ). Компонент А1 суміші, що розділяється, має велику спорідненість до рухомої фази, а компонент А2 – до нерухомої фази. А'1 і А'2 – положення зон тих самих компонентів через проміжок часу, за який відбувалося хроматографічне розділення в напрямі, вказаному стрілкою

Зразок суміші речовини вводять шприцом в шар нерухомої фази, а потім різні сполуки, що входять до складу суміші, разом з рухомою фазою (елюент) рухаються уздовж шару, що підганяються цією фазою. Швидкість переміщення залежить від величини взаємодії (спорідненість) компонентів в нерухомій і рухомій фазі внаслідок чого досягається розділення компонентів.

Після розділення необхідно ідентифікувати усі компоненти і оцінити їх кількісно. Така загальна схема хроматографії. Слід зазначити, що цей сучасний метод дозволяє впродовж декількох хвилин визначити вміст десятків і сотень різних сполук в суміші, причому навіть в незначних, «слідових» кількостях ~10-8 %.

### Результати дослідження

Розглянемо детальніше хроматографічний спосіб аналізу.

Хроматографічні системи можна розділити за наступними принципами: агрегатний стан рухомої та нерухомої фаз; геометричні характеристики системи; механізм взаємодії між речовиною, що розділяється, і фазами.

В якості рухомої фази використовується газ або рідина. В якості нерухомої, або стаціонарної, фази застосовуються тверді речовини або рідини.

За розташуванням фаз хроматографічні системи підрозділяють на дві групи: площинні та стовбчикові.

Останні, у свою чергу, розділяються на:

- насадочні, заповнені зернистим твердим матеріалом (дрібні кульки), або являються розділовим середовищем, або носієм, що служить, нерухою рідкою фазою;
- капілярні, внутрішні стінки яких покриті плівкою нерухомої рідини або шаром твердого адсорбенту (поглинач).

Взаємодія між речовиною, що розділяється, і фазами хроматографічної системи може здійснюватися або на поверхні фази, або в об'ємі. У першому випадку хроматографія називається адсорбційною, в другому – розподільною.

Механізми розділення молекул в хроматографічних системах найчастіше зводяться до наступних:

- нерухома фаза фізично поглинає (сорбує) речовини, що розділяються;
- нерухома фаза хімічно взаємодіє з речовинами, що розділяються;
- нерухома фаза розчиняє речовини, що розділяються, з розчину в розчиннику, що не змішується;
- нерухома фаза має пористу структуру, що ускладнює дифузію молекул речовин, що розділяються, в цій фазі.

Хроматографія нині представлена складними інструментальними системами. Схема процесу хроматографування, по суті, дуже проста і показана на рис. 3. Далі приблизно в такій послідовності буде розглянуто принцип роботи хроматографа.

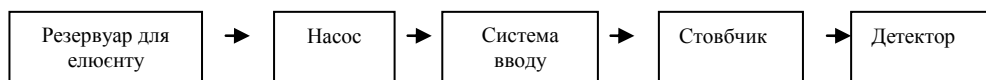


Рис. 3 Схема процесу хроматографування

Основні види хроматографії

До основних видів хроматографії відносять адсорбційну, іонообмінну, рідинну, гель-фільтраційну і афінну хроматографію та ін.

**Адсорбційна хроматографія.** В цьому випадку розділення речовин здійснюється за рахунок вибіркової (селективної) адсорбції речовин на нерухомій фазі. Така селективна адсорбція обумовлена спорідненістю того або іншого з'єднання до твердого адсорбенту (нерухомій фазі), а воно, у свою чергу, визначається полярними взаємодіями їх молекул. Тому часто хроматографію такого типу використовують при аналізі з'єднань, властивості яких визначаються числом і типом полярних груп. До адсорбційної хроматографії зараховують іонообмінну, рідинну, паперову, тонкошарову і газо-адсорбційну хроматографію.

**Іонообмінна хроматографія.** В якості нерухомої фази використовують іонообмінні смоли (рис. 4) як в колонках, так і у виді тонкого шару на пластинці або папері. Розділення зазвичай проводять у водних середовищах, тому цей метод використовується головним чином в неорганічній хімії, хоча застосовуються і змішані розчинники. Рушійною силою розділення в цьому випадку є різна спорідненість іонів розчину, що розділяються, до іонообмінних центрів протилежної полярності в нерухомій фазі. Рідинна хроматографія. В цьому випадку нерухою фазою служить рідина. Найбільш поширеним випадком є адсорбційний варіант рідинної колоночної хроматографії. Приклад розділення природних пігментів представлений на рис. 5.

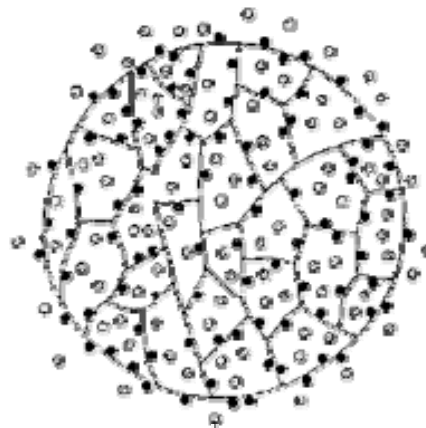


Рис. 4. Зображення структури частки іонообмінної смоли: – заряджені функціональні групи, ковалентно пов'язані з нитками решітки; – протоіони, що вільно переміщуються, протилежно заряджені, електростатично пов'язані з часткою смоли, здатні зазнавати обмін з іншими іонами

**Гель-фільтраційна, або молекулярно-ситова, хроматографія.** Принцип розділення в таких системах дещо інший, ніж в попередніх випадках. Нерухою фазою є матеріали, зазвичай гелі, із суворо контрольованого пористістю, внаслідок чого одні компоненти суміші відповідно до розміру і форми молекул можуть проникати між частками гелю, а інші не можуть. Найчастіше цей вид хроматографії використовується для розділення високомолекулярних з'єднань. Один з варіантів застосування цього методу – визначення молекулярних мас речовин, що розділяються, часто необхідних для хімічних досліджень (рис. 6).

**Афінна хроматографія.** Цей вид хроматографії заснований на взаємодії між речовиною, з одного боку, здатною реагувати із з'єднанням, що виділяється, а з іншого – пов'язаним з твердим носієм нерухомої фази. Така речовина має спорідненість до з'єднання, що виділяється, і називається афінним лігандом.

Найчастіше цей метод знаходить застосування у біохімічному аналізі.

Звичайно, число способів хроматографування не обмежується переліченими вище. Часто хроматографію поєднують з іншими фізико-хімічними методами, наприклад з мас-спектрометрією, але в цій

статті стоїть завдання познайомити читача лише із загальними принципами хроматографії. Тому далі розглянемо обробку результатів хроматографування.

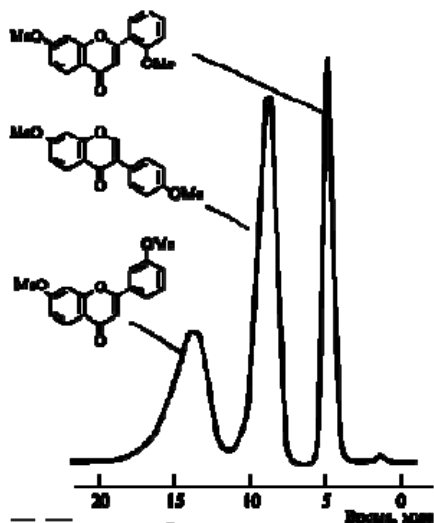


Рис. 5. Хроматографічне розділення природних пігментів (флавонів та ізофлавонів)

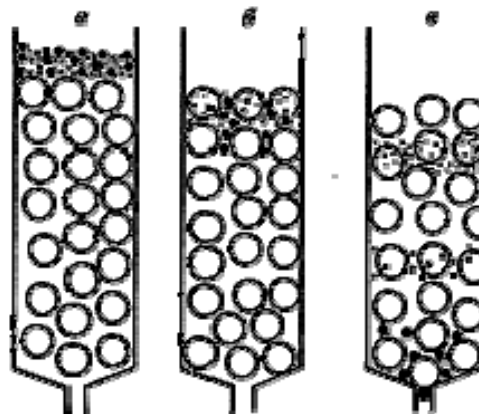


Рис. 6. Схема розділення методом гелі-хроматографії: а – початок розділення, б – розділення, в – кінець розділення

### Методи прояву хроматограм

Проявом називається процес перенесення речовин, що розділяються, рухомою фазою. Прояв можна здійснити трьома основними способами: фронтальним аналізом, витісненням і елююванням. Найширше використовується елюювання. Тому детальніше зупинимося на ньому.

Елюентний аналіз. Рухому фазу для переміщення розчиненої речовини пропускають через хроматографічну систему. Розділення відбувається за рахунок різної спорідненості компонентів суміші до нерухої фази і, отже, за рахунок різних швидкостей їх переміщення. Пробу малого об'єму вводять в хроматографічну систему. У результаті зони з компонентами поступово будуть утворювати окремі ділянки, розділені чистим елюентом. Завдяки високій ефективності розділення метод отримав найбільш широке поширення і значною мірою витіснив інші варіанти розділення. Тому далі розглянемо теорію і апаратне оформлення цього методу.

Хроматографічні процеси часто зручно розглядати як серії екстракційних процесів, при цьому можуть бути розділені речовини з дуже близькими властивостями, так як в ході хроматографічних процесів швидко і одночасно відбуваються сотні і навіть тисячі циклів екстракції.

Для оцінки ефективності хроматографічних процесів, виходячи з теоретичного уявлення про дистиляцію (по аналогії з розділенням нафти на колонах ректифікацій, де теоретична тарілка відповідає частині колони ректифікації, в якій пара і рідина знаходяться в рівновазі), вводять поняття «Висота, еквівалентна теоретичній тарілці» (ВЕТТ). Хроматографічна колонка, таким чином, розглядається як набір гіпотетичних шарів (тарілок). Під ВЕТТ зазвичай мають на увазі таку товщину шару, яка потрібна для того, щоб суміш, що поступила з попереднього шару, прийшла в рівновагу з середньою концентрацією речовини в рухомій фазі цього шару. Її можна описати наступною формулою:

$$\text{ВЕТТ} = L/N \quad (1)$$

де  $L$  – довжина колонки,  $N$  – число теоретичних тарілок.

ВЕТТ є сумарною характеристикою розділення речовин. Проте розділити компоненти суміші важливо, але недостатньо. Необхідно ідентифікувати кожен компонент і визначити його кількість в пробі. Зазвичай це здійснюють за допомогою обробки хроматограм – залежності інтенсивності сигналу, пропорційного концентрації речовини, від часу розділення. Деякі приклади хроматограм показані на рис. 7, 8.

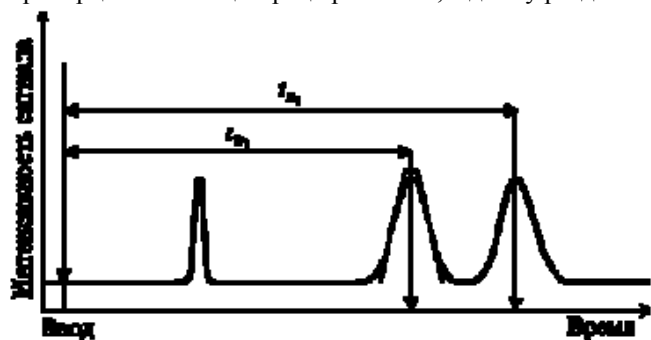


Рис. 7 Приклад хроматограми:  
 $t_r$  – час утримання (індекси 1 та 2 відповідають першому і другому компонентам які аналізують)

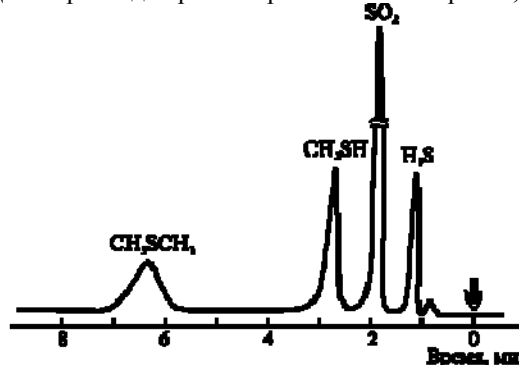


Рис. 8 Хроматограма суміші  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{SH}$  і  $(\text{CH}_3)_2\text{S}$

Час від моменту введення проби в колонку до моменту реєстрації максимуму піку називається часом утримування ( $t_R$ ). У оптимальних умовах він не залежить від кількості введеної проби і з урахуванням геометричних параметрів колонки визначається будовою того або іншого з'єднання, тобто є якісною характеристикою компонентів. Кількісний зміст компоненту характеризується величиною піку, точніше його площею. Підрахунок площі піку зазвичай здійснюють автоматично за допомогою приладу інтегратора, який фіксує і час утримування, і площу піку.

Робота хроматографа. Схема установки найбільш простого газового хроматографа приведена на рис. 9. Вона складається з газового балона, що містить рухомих інертну фазу (газ-носії), найчастіше гелій, азот, аргон та ін. За допомогою редуктора, що зменшує тиск газу до необхідного, газ-носії поступає в колонку, що є трубкою, заповненою сорбентом або іншим хроматографічним матеріалом, що грає роль нерухомих фази.

В хроматографічній колонці відбувається розділення сумішей. Поблизу від введення газу в колонку встановлюють пристрій для введення проби. Найчастіше вводять пробу за допомогою шприца. Аналізована суміш розділяється в колонці та поступає в детектор – прилад, що перетворює результати розділення у форму, зручну для реєстрації.

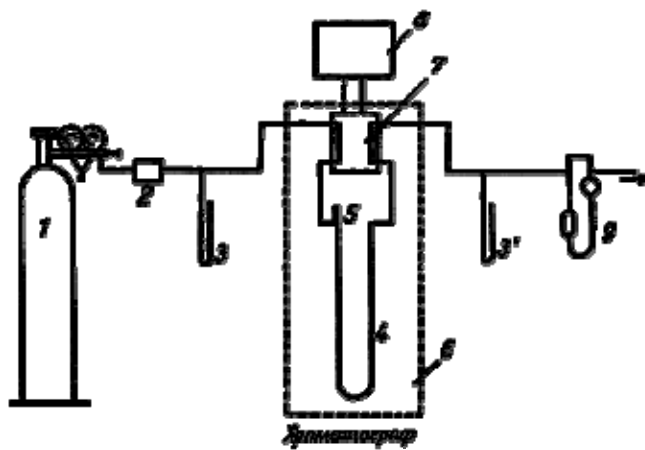


Рис. 9. Схема роботи газового хроматографа: 1 – балон високого тиску з газом-носієм; 2 – стабілізатор потоку; 3 і 3' – манометри; 4 – хроматографічна колонка; 5 – пристрій для введення проби; 6 – термостат; 7 – детектор; 8 – самописець; 9 – витратомір

### Висновки

Одним з найбільш використовуваних детекторів є катарометр, принцип дії якого заснований на вимірі теплоємності різних тіл.

Інший поширений детектор – полум'яно-іонізаційний. Він набагато чутливіший, ніж катарометр, але вимагає подання не лише газу-носія, але і водню. Газ-носії, що виходить з колонки, містить елюент, змішується з воднем і проходить у форсунку пальника детектора. Полум'я іонізує молекули елюенту, внаслідок чого електричний опір між електродами зменшується, а струм збільшується.

У рідинній хроматографії застосовуються детектори (у видимій, УФ- і ІК-областях) спектрофотометрії, а також рефрактометричні детектори, засновані на вимірі показників заломлення розчинів.

Такі у загальних рисах ази хроматографічного аналізу. Звичайно, в цьому матеріалі приведені тільки загальні принципи хроматографії, а часто вони просто позначені. На справді методи газохроматографічного аналізу більш значні. Головна мета цієї статті, на мою думку, звернути увагу науковців до цього методу.

### Література

1. Жуховицкий А.А. Газовая хроматография / Жуховицкий А.А., Туркельтауб Н.М. – М.: Гостоптехиздат, 1962. – 240 с.
2. Жидкостная колоночная хроматография / З.Дейла, К.Мацека, Я.Янака – М.: Мир, 1972. – 124с.
3. Физико-химическое применение газовой хроматографии [Сакодынский К.И., Киселев А.В., Йогансен А.В. и др.] – М.: Химия, 1973/– 254 с.
4. Газовая хроматография в химии полимеров / Березкин В.Г., Алишоев В.Р., Немировская И.Б. – М.: Наука, 1972/– 287 с.
5. Морозов А.А. Хроматография в неорганическом анализе / Морозов А.А. – М.: Высш. шк., 1972. – 233 с.
6. Березкин В.Г. Количественная тонкослойная хроматография / Березкин В.Г., Бочков А.С. – М.: Наука, 1980/– 183 с.
7. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. / Кирхнер Ю. – М.: Мир, 1981. – Т.1 – 615 с., Т. 2 – 523 с.
8. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам. / Под ред. О.Микеш. – М.: Высш. шк., 1982. – 783 с.
9. Экстракционная хроматография / Под ред. Т.Браун, Г.Герсини. – М.: Мир, 1978. – 627 с.
10. Хроматографический анализ окружающей среды / Под ред. Р.Гроба – М.: Мир, 1979 – 606 с.

Надійшла 4.4.2011 р.