



ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ХРОМАТОГРАФИИ В ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЕЩЕСТВ: СУЩНОСТЬ И ЕГО УСТРОЙСТВА

Тойлибаев Д.¹, Курбанова М.А.²

¹*Студент Ташкентского Государственного Медицинского Университета*

²*Доцент кафедры Медицинская химия Ташкентского государственного медицинского университета*

APPLICATION OF THE CHROMATOGRAPHY METHOD IN PHYSICOCHEMICAL RESEARCH OF SUBSTANCES: ESSENCE AND ITS DEVICES

Toyliboyev D.¹, Kurbanova M.A.²

¹*Student, Tashkent State Medical University*

²*Associate Professor, Department of Medical Chemistry, Tashkent State Medical University*

Аннотация: Хроматография представляет собой один из наиболее универсальных и высокоэффективных методов разделения и анализа сложных смесей. В основе метода лежит различие в распределении компонентов между подвижной и неподвижной фазами, что обеспечивает высокую селективность и точность анализа. В статье рассматриваются принципы работы основных видов хроматографии - тонкослойной, газовой и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Особое внимание уделено современным областям применения метода в химии, фармацевтике, пищевой промышленности и экологическом мониторинге. Приведены преимущества и ограничения хроматографических технологий, а также перспективы их развития.



Ключевые слова: хроматография; разделение смесей; неподвижная фаза; подвижная фаза; ТСХ; ГХ; ВЭЖХ; аналитические методы; идентификация веществ; химический анализ.

Abstract: Chromatography is one of the most versatile and highly effective methods for separating and analyzing complex mixtures. The method is based on the difference in component distribution between the mobile and stationary phases, ensuring high selectivity and analytical accuracy. This article examines the operating principles of the main types of chromatography—thin-layer, gas, and high-performance liquid chromatography. Particular attention is paid to modern applications of the method in chemistry, pharmaceuticals, the food industry, and environmental monitoring. The advantages and limitations of chromatographic technologies, as well as prospects for their development, are presented.

Key words: chromatography; separation of mixtures; stationary phase; mobile phase; TLC; GC; HPLC; analytical methods; substance identification; chemical analysis.

Современную химию как общность взаимосвязанных химических наук невозможно представить без открытия нашим соотечественником М.С. Цветом хроматографии. Это открытие, по экспертным оценкам, относится к двадцати величайшим открытиям XX в., которые в наибольшей степени преобразовали науку, а через неё повлияли на общий прогресс человечества [1].

На основе многочисленных хроматографических методов были решены аналитические и препаративные задачи, не имеющие альтернативных решений. Применение хроматографических методов способствовало открытию трансурановых элементов, а в области биохимического синтеза и



фармацевтических задач позволило осуществить разделение энантиомеров. Достаточно отметить, что хроматографическими методами выполняется более половины всех анализов в мире, результаты которых обеспечивают проведение исследований во многих областях химии, а также контроль за химико-технологическими процессами, позволяют предотвратить загрязнение окружающей среды токсичными веществами, гарантируют нам безопасность и высокое качество продуктов питания и лекарственных препаратов.

Более полный перечень областей применения хроматографических методов можно найти в [2]. Кроме того, здесь уместно вспомнить монографию, изданную к 100-летию юбилею открытия хроматографии [3]. В эту монографию включены статьи ведущих хроматографистов мира, отмеченных всевозможными премиями, включая Нобелевскую, за вклад в развитие хроматографических методов. Обобщая мысли, высказанные в этих статьях, её редакторы-составители приходят к заключению, что хроматография явилась «мостом в науке и технологиях - ключевой основой для новых больших достижений и открытий, которые ещё придут в науке XXI века».

Хроматография позволяет определить качественный и количественный состав органических веществ, в том числе летучих углеводородов и биологических жидкостей. Хроматографический анализ используется практически во всех сферах производства, в фармацевтике, медицине, а также для обеспечения социальной безопасности. Большое разнообразие и специфика метода обуславливает его широкое распространение. В статье мы рассмотрим особенности, историю возникновения, виды и сферы применения хроматографического разделения [4].

Метод хроматография основан на различной способности веществ к адсорбции, распределению или ионному обмену. В хроматографе происходит многократное повторение процессов сорбции и десорбции, что обеспечивает



эффективное разделение компонентов смеси. Подвижная фаза, проходя через неподвижную, увлекает за собой компоненты анализируемой смеси с различной скоростью, которая зависит от их физико-химических свойств.

Эффективность разделения в хроматографе определяется несколькими факторами: природой неподвижной фазы, составом подвижной фазы, температурой процесса, скоростью потока подвижной фазы и геометрическими параметрами хроматографической системы. Правильный выбор этих параметров позволяет достичь оптимального разделения даже для веществ с очень близкими свойствами [5].

В современном мире аналитические исследования веществ проводятся несколькими хроматографическими методами по природе взаимодействия сорбатов (определяемых компонентов) с подвижной и неподвижной фазами.

• **Распределительная хроматография** - разделение основано на различии в растворимости сорбатов в подвижной и неподвижной фазах или на различии в стабильности образующихся комплексов. Этот вид самый популярный. Большинство ГХ и ВЭЖХ систем работают с данным видом.

• **Адсорбционная хроматография** - разделение за счёт адсорбции основано на различии адсорбируемости компонентов смеси на данном адсорбенте. Примерами являются ТСХ, бумажная хроматография и газовая хроматография с насадочными, микронасадочными и капиллярными колонками заполненными сорбентами NaX, CaA, Al₂O₃ и т.д.

• **Ионообменная хроматография** - разделение основано на различии констант ионообменного равновесия. Примером являются ВЭЖХ системы для анализа анионов и катионов.

• **Эксклюзионная хроматография** - разделение основано на различии и проницаемости молекул разделяемых веществ в неподвижную фазу. Компоненты элюируются в порядке уменьшения их молекулярной массы. Примером являются ВЭЖХ системы для анализа полимеров.



• **Аффинная хроматография** - основана на биоспецифическом взаимодействии компонентов с аффинным лигандом. Как правило, это колоночная хроматография или ТСХ. Анализы в биологии и медицине для выделения ферментов, белков, сахаров, витаминов и прочее. [6].

В настоящее время используют следующие основные хроматографические методы анализа, представленные на рис. 1.



Рис.1. Методы хроматографического анализа [7].

Хроматограмма (Chromatogram) представляет собой графическое или иное представление сигнала детектора, концентрации веществ в элюате или другой количественной величины, используемой для измерения концентрации веществ в элюате, от времени или объёма подвижной фазы. В планарной (плоскостной) хроматографии хроматограммой называют также зафиксированную на бумаге (бумажная хроматография) или ТСХ-пластинке (тонкослойная хроматография) последовательность зон адсорбции веществ исходной (анализируемой) смеси.



Оптимальная хроматограмма представляет собой последовательность гауссовых пиков на базовой линии (рис. 2).

Базовая линия (Base line) – участок хроматограммы, соответствующий сигналу детектора от подвижной фазы, не содержащей разделяемых веществ.

Пик (Peak) – часть хроматограммы, регистрирующая отклик детектора во время элюирования из колонки одного или более компонентов. Пик отображает постепенное нарастание концентрации детектируемого вещества в элюате и последующее её уменьшение. В случае линейной изотермы сорбции кривая, описывающая пик, приближается к кривой гауссова распределения. Часть пика, на которой зарегистрировано возрастание концентрации вещества до максимума, называется фронтом пика, а часть, которая отвечает уменьшению концентрации вещества, называется тылом (тыльной частью) пика.

Основание пика (Peak base) - продолжение базовой линии, соединяющее начало и конец пика.

Площадь пика (S) (Peak area) – площадь хроматограммы, заключённая между кривой, описывающей пик, и его основанием.

Высота пика (H) (Height of the peak) – расстояние от максимума пика до его основания, измеренное параллельно оси отклика детектора.

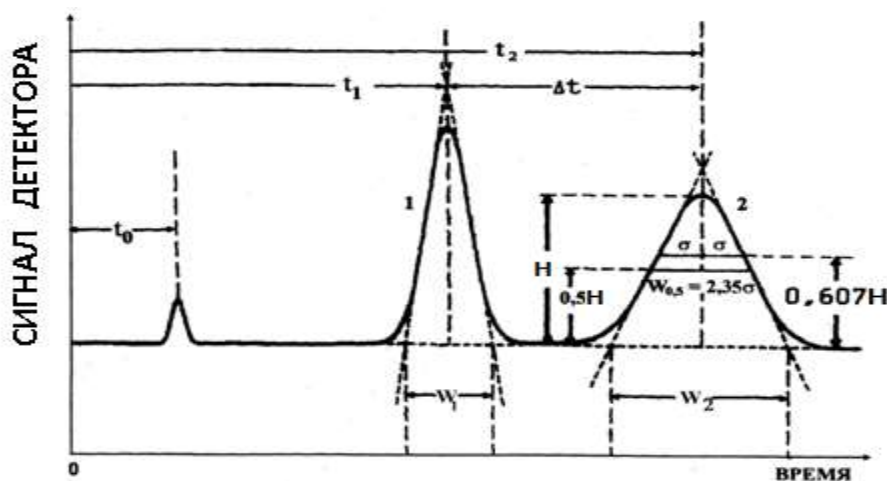


Рис.2. Хроматограмма и основные хроматографические параметры.



1 и 2 – пики соединений 1 и 2; t_1 и t_2 – соответствующие времена удерживания; t_0 – время удерживания несорбирующегося вещества; W_1 и W_2 – ширина пиков у основания; $W_{0,5}$ – ширина пика на половине его высоты, s – стандартное отклонение пика (предполагается гауссова форма пиков)

Зона адсорбции – часть хроматографической пластинки, содержащая адсорбированное определяемое вещество и визуализируемая в виде пятна (круглого или эллипсовидного) или полосы. [7-8].

В исследование физико-химического анализа веществ устройством хроматографии проводится по следующим схемам приведённом на рисунке 3.

Хроматографирование проводят на газовых (газожидкостных) хроматографах различной конструкции. На рис. 3 показана принципиальная блок-схема газового хроматографа. Газ-носитель (азот, гелий, аргон, водород) из баллона 1 через редуктор поступает под некоторым давлением в блок подготовки газов 2, с помощью которого измеряются давление и скорость потока газа-носителя. В испаритель 3, температура которого поддерживается достаточной для быстрого испарения смеси, с помощью микрошприца вводится анализируемая проба, которая испаряется и потоком газа-носителя увлекается в хроматографическую колонку 5, находящуюся в термостате 4, температура которого обычно несколько ниже, чем температура испарителя. После разделения смеси на зоны компонентов последние поступают в детектор 6, в котором генерируется электрический сигнал (тем больший, чем выше масса хроматографируемого компонента), усиливаемый усилителем 7 и преобразуемый регистратором 8 в виде записи хроматограммы на бумаге самописца.

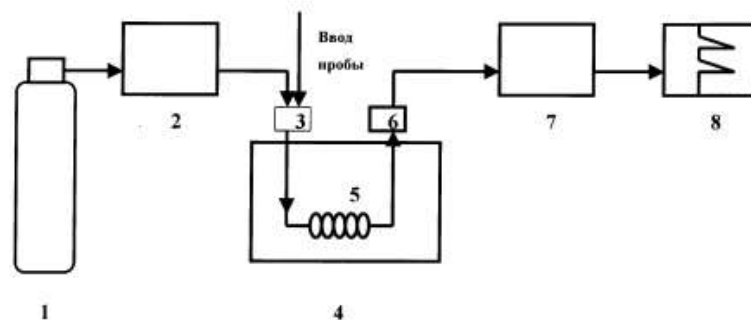


Рис. 3. Принципиальная блок-схема газового хроматографа: 1 - баллон с газом-носителем, 2 - блок подготовки газов, 3 - испаритель, 4 - термостат, 5 - хроматографическая колонка, 6 - детектор, 7 - усилитель, 8 - регистратор.

Анализируемая проба вводится в испаритель с помощью микрошприца, иглой которого прокалывается мембрана из термостойкой резины. В некоторых хроматографах предусмотрены дозаторы для ввода пробы. Объем вводимой пробы зависит от специфики используемой методики и для жидких проб составляет 0,1-1 мкл, для газообразных - 0,5-5 мл. При большем объеме пробы обычно понижается эффективность хроматографической колонки. Газохроматографические колонки представляют собой металлические или стеклянные трубки (прямые, изогнутые, спиральные) с внутренним диаметром 0,1-5 мм и длиной до нескольких метров. Они бывают двух типов - наполненные (насадочные) и капиллярные. Наполненные колонки - металлические (часто - из нержавеющей стали) или стеклянные трубки длиной 1-5 м, с внутренним диаметром 1,5-5 мм, обычно изогнутые в виде спирали. Эти трубки заполняются насадкой - частицами твердой основы с нанесенным на их поверхность тонким слоем жидкой НФ. Капиллярные колонки обычно представляют собой стеклянные (из кварцевого стекла) трубки, внутренняя поверхность которых покрыта тонким слоем жидкой НФ. Роль твердого носителя здесь играет внутренняя поверхность самой колонки. Длина капиллярных колонок может составлять от нескольких десятков до нескольких



сотен метров, внутренний диаметр -от 0,1 до 0,6 мм. Капиллярные колонки обеспечивают более высокую эффективность разделения 17 многокомпонентных смесей. Твердый носитель должен обладать высокой механической прочностью, химической инертностью, малой адсорбционной активностью. Растворение хроматографируемого вещества в жидкой НФ, покрывающей поверхность твердого носителя, не должно осложняться его адсорбцией на носителе. Оптимальный размер зерен носителя чаще всего колеблется в пределах 0,1-0,5 мм, его удельная поверхность может составлять 100-1000 м² /г. В качестве материалов для твердого носителя используют оксид кремния (в форме диатомита, кизельгура - это сферохромы, хроматоны, хезосорбы, целиты), оксид алюминия, фторуглероды (тефлон, полихром), полистирол, сополимеры стирола и дивинилбензола (полисорбы), а также стеклянные шарики, плавленый кварц, песок, графитированную сажу (карбохром), кристаллы хлорида натрия и т.д. [9].

В заключение надо отметить, что хроматографическое разделение это метод обладающий эффективностью благодаря протеканию процессов в реальном времени, возможности многократных испытаний, динамичности и допустимости наложения электрических, гравитационных и магнитных полей для более углубленного анализа. Хроматография представляет собой один из наиболее универсальных и высокоэффективных методов разделения и анализа сложных смесей. В основе метода лежит различие в распределении компонентов между подвижной и неподвижной фазами, что обеспечивает высокую селективность и точность анализа.

В последнее время хроматографический метод широко используется для подробного исследования физико-химических свойств некоторых веществ, а также для разделения составляющих смесей. Он востребован во многих сферах и позволяет получать точные результаты, если соблюдать технологию.



Литература

1. Davankov V.A., Yashin Ya.I. Sto let khromatografii [One hundred years of chromatography]. *Russian Chemical Bulletin*, 2003, vol. 73, no 7, pp.637–646. (In Russian)
2. Yashin Ya.I., Yashin A.Ya. Osnovnye tendentsii razvitiia khromatografii posle 110-letii so dnia eeotkrytiia M.S. Tsvetom [Major trends in chromatography after 110th anniversary of discovery by M.S. Tsvet]. *Sorption and chromatographic processes*, 2014, vol. 14, no 2, pp.203–213. (In Russian)
3. Chromatography: A Century of Discovery, 1900–2000. Eds C.W. Gehrke, R.L. Wixom, E. Bayer. New York, Elsevier, 2001.
4. <https://millab.ru/press-tsentr/articles/khromatografiya/>
5. <https://vicomp.ru/%D1%81%D1%82%D0%B0%D1%82%D1%8C%D0%B8/%D1%85%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%B3%D1%80%D0%B0%D1%84%D0%B8%D1%8F/>
6. <https://chromatograf.ru/2021/11/10/hromatografija-prostymi-slovami/>.
7. Министерство здравоохранения российской федерации. Общая фармакопейная статья. 2023г
8. <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-2-khromatograficheskie-metody-analiza/khromatografiya/>
9. Министерство образования Российской Федерации РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ НЕФТИ И ГАЗА им. И.М. ГУБКИНА ЗАВОРОТНЫЙ В.Л., КАЛАЧЕВА Н.А., ЗАЙЦЕВ Н.К. УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ по курсу «АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ» (Хроматография) (для студентов факультета химической технологии и экологии).