**Содержание**

1. Введение.
2. Возникновение и развитие хроматографии.
3. Классификация хроматографических методов.
4. Хроматография на твердой неподвижной фазе:

а) газовая (газо-адсорбционная) хроматография;

б) жидкостная (жидкостно-адсорбционная) хроматография.

5. Хроматография на жидкой неподвижной фазе:

а) газо-жидкостная хроматография;

б) гель-хроматография.

6. Заключение.

Как лучи спектра, в столбике углекислого кальция закономерно распределяются различные компоненты смеси пигментов, давая возможность своего качественного и количественного определения. Получаемый таким образом препарат я называю хроматограммой, а предлагаемую методику – хроматографической.

М. С. Цвет, 1906 г.

**Введение**

С необходимостью разделения и анализа смеси веществ приходится сталкиваться не только химику, но и многим другим специалистам.

В мощном арсенале химических и физико-химических методов разделения, анализа, исследования структуры и свойств индивидуальных химических соединений и их сложных смесей одно из ведущих мест занимает хроматография.

Хроматография – это физико-химический метод разделения и анализа смесей газов, паров, жидкостей или растворенных веществ и определения физико-химических свойств индивидуальных веществ, основанный на распределении разделяемых компонентов смесей между двумя фазами: подвижной и неподвижной. Вещества, составляющие неподвижную фазу, называются сорбентами. Неподвижная фаза может быть твердой и жидкой. Подвижная фаза – это поток жидкости или газа, фильтрующийся через слой сорбента. Подвижная фаза выполняет функции растворителя и носителя анализируемой смеси веществ, переведенной в газообразное или жидкое состояние.

Различают два вида сорбции: адсорбцию – поглощение веществ твердой поверхностью и абсорбцию – растворение газов и жидкостей в жидких растворителях.

**2. Возникновение и развитие хроматографии**

Возникновение хроматографии как научного метода связано с именем выдающегося русского ученого Михаила Семеновича Цвета (1872 - 1919), который в 1903 г. открыл хроматографию в ходе исследований механизма преобразования солнечной энергии в растительных пигментах. Это год и следует считать датой создания хроматографического метода.

М.С. Цвет пропускал раствор анализируемых веществ и подвижной фазы через столб адсорбента, находящегося в стеклянной трубке. В связи с этим его метод получил название колоночной хроматографии. В 1938 г. Н.А. Измайлов и М.С. Шрайбер предложили видоизменить метод Цвета и проводить разделение смеси веществ на пластинке, покрытой тонким слоем адсорбента. Так возникла тонкослойная хроматография, позволяющая проводить анализ с микроколичеством вещества.

В 1947 г. Т.Б. Гапон, Е.Н. Гапон и Ф.М. Шемякин впервые осуществили хроматографическое разделение смеси ионов в растворе, объяснив его наличием обменной реакции между ионами сорбента и ионами, содержащимися в растворе. Так было открыто еще одно направление хроматографии – ионообменная хроматография. В настоящее время ионообменная хроматография является одним из важнейших направлений хроматографического метода.

Е.Н. и Г.Б. Гапон в 1948 г. осуществили высказанную еще М.С. Цветом идею о возможности хроматографического разделения смеси веществ на основе различия в растворимости труднорастворимых осадков. Появилась осадочная хроматография.

В 1957 г. М. Голей предложил наносить сорбент на внутренние стенки капиллярной трубки – капиллярная хроматография. Этот вариант позволяет анализировать микроколичества многокомпонентных смесей.

В 60-х годах появилась возможность синтезировать как ионогенные, так и незаряженные гели, обладающие строго определенными размерами пор. Это позволило разработать вариант хроматографии, сущность которого заключается в разделении смеси веществ на основе различия их способности проникать в гель – гель-хроматография. Этот метод позволяет разделять смеси веществ, обладающих различной молекулярной массой.

В настоящее время хроматография получила существенное развитие. Сегодня разнообразные методы хроматографии, особенно в сочетании с другими физическими и физико-химическими методами, помогают научным сотрудникам и инженерам решать самые различные, часто очень сложные задачи в научных исследованиях и в технике.

**3. Классификация хроматографических методов**

Многообразие видоизменений и вариантов метода хроматографии требует их систематизации или классификации.

В основу классификации можно положить различные признаки, а именно:

1. агрегатное состояние фаз;
2. механизм разделения;
3. способ проведения процесса;
4. цель проведения процесса.

Классификация по агрегатному состоянию фаз:

газовая (подвижная фаза - газ), газожидкостная (подвижная фаза – газ, неподвижная фаза - жидкость), жидкостная (подвижная фаза - жидкость) хроматография.

Классификация по механизму разделения.

Адсорбционная хроматография основана на избирательной адсорбции (поглощении) отдельных компонентов анализируемой смеси соответствующими адсорбентами. Адсорбционная хроматография подразделяется на жидкостную (жидкостно-адсорбционная хроматография) и газовую (газо-адсорбционная хроматография).

Ионообменная хроматография основана на использовании ионообменных процессов, протекающих между подвижными ионами адсорбента и ионами электролита при пропускании раствора анализируемого вещества через колонку, заполненную ионообменным веществом (ионитом). Иониты представляют собой нерастворимые неорганические и органические высокомолекулярные соединения. В качестве ионитов применяют окись алюминия, пермутит, сульфоуголь и разнообразные синтетические органические ионообменные вещества – ионообменные смолы.

Осадочная хроматография основана на различной растворимости осадков, образуемых компонентами анализируемой смеси со специальными реактивами. Например, при пропускании раствора смеси солей Нg (II) и Pb через колонку с носителем, предварительно пропитанным раствором KI, образуются 2 окрашенных слоя: верхний, окрашенный в оранжево-красный цвет (HgI2), и нижний, окрашенный в желтый цвет (PbI2).

Классификация по способу проведения процесса.

Колоночная хроматография - вид хроматографии, в которой в качестве носителя для неподвижного растворителя используют колонку.

Бумажная хроматография – вид хроматографии, в которой в качестве носителя для неподвижного растворителя вместо колонки используют полоски или листы фильтровальной бумаги, не содержащей минеральных примесей. В этом случае каплю испытуемого раствора, например смесь растворов солей Fe (III) и Co (II), наносят на край полоски бумаги. Бумагу подвешивают в закрытой камере (рис.1), опустив ее край с нанесенной на него каплей испытуемого раствора в сосуд с подвижным растворителем, например с н-бутиловым спиртом. Подвижный растворитель, перемещаясь по бумаге, смачивает ее. При этом каждое содержащееся в анализируемой смеси вещество с присущей ему скоростью перемещается в том же направлении, что и растворитель. По окончании разделения ионов бумагу высушивают и затем опрыскивают реактивом, в данном случае раствором K4[Fe(CN)6], который образует окрашенные соединения с разделяемыми веществами (синее – с ионами железа, зеленое – с ионами кобальта). Образующиеся при этом зоны в виде окрашенных пятен позволяют установить наличие отдельных компонентов.

Бумажная хроматография в сочетании с применением органических реактивов позволяет провести качественный анализ сложных смесей катионов и анионов. На одной хроматограмме с помощью одного реактива можно обнаружить ряд веществ, так как для каждого вещества характерно не только соответствующее окрашивание, но и определенное место локализации на хроматограмме.

Тонкослойная хроматография – вид хроматографии по своему механизму разделения аналогичный бумажной хроматографии. Различие между ними заключается в том, что вместо листов бумаги разделение проводят на пластинках, покрытых тонким слоем сорбента, изготовленного из порошкообразной окиси алюминия, целлюлозы, цеолитов, силикагеля, кизельгура и т.п. и удерживающего неподвижный растворитель. Основное достоинство тонкослойной хроматографии заключается в несложности аппаратуры, простоте и большой скорости проведения эксперимента, достаточной четкости разделения смеси веществ и в возможности анализа ультрамикроколичеств вещества.

Классификация по цели проведения хроматографического процесса.

Наибольшее значение хроматография имеет как метод качественного и количественного анализа смесей веществ (аналитическая хроматография).

Препаративная хроматография – вид хроматографии, в котором разделение смеси веществ производится в препаративных целях, т.е. для получения более или менее значительных количеств веществ в чистом, свободном от примесей виде. Задачей препаративной хроматографии может быть также концентрирование и последующее выделение из смеси веществ, содержащихся в виде микропримесей к основному веществу.

Неаналитическая хроматография – вид хроматографии, который используется в качестве метода научного исследования. Ее применяют для исследования свойств систем, например растворов, кинетики химических процессов, свойств катализаторов и адсорбентов.

Итак, хроматография является универсальным методом анализа смесей веществ, получения веществ в чистом виде, а также методом исследования свойств систем.

**4. Хроматография на твердой неподвижной фазе**

**а)Газовая (газо-адсорбционная) хроматография**

Газовая хроматография – хроматографический метод, в котором подвижной фазой является газ. Газовая хроматография получила наибольшее применение для разделения, анализа и исследования веществ и их смесей, переходящих без разложения в парообразное состояние.

Одним из вариантов газовой хроматографии является газо-адсорбционная хроматография – это метод, в котором неподвижной фазой является твердый адсорбент.

В газовой хроматографии в качестве подвижной фазы (газа-носителя) используется инертный газ: гелий, азот, аргон, значительно реже водород и углекислый газ. Иногда газом-носителем служат пары легколетучих жидкостей.

Газохроматографический процесс обычно осуществляется в специальных приборах, называемых газовыми хроматографами (рис.3). В каждом из них имеется система подачи потока газа-носителя, система подготовки и ввода исследуемой смеси, хроматографическая колонка с системой регулирования ее температуры, анализирующая система (детектор) и система регистрации результатов разделения и анализа (регистратор).

Важное значение в газо-адсорбционной хроматографии имеет температура. Ее роль прежде всего заключается в изменении сорбционного равновесия в системе газ - твердое тело. От правильного подбора температуры колонки зависит, и степень разделения компонентов смеси, и эффективность колонки, и общая скорость анализа. Существует некоторый температурный интервал колонки, в котором хроматографический анализ оптимален. Обычно этот температурный интервал находится в области, близкой к температуре кипения определяемого химического соединения. Когда температуры кипения компонентов смеси сильно различаются между собой, применяют программирование температуры колонки.

Разделение в хроматографической колонке является важнейшей, но предварительной операцией всего процесса газохроматографического анализа. Вышедшие из колонки, как правило, бинарные смеси (газ-носитель – компонент) попадают в детектирующее устройство. Здесь происходит преобразование изменений концентраций компонентов во времени в электрический сигнал, регистрируемый при помощи специальной системы в виде кривой, называемой хроматограммой. Результаты всего опыта в значительной степени зависят от правильного выбора типа детектора, его конструкции. Существует несколько классификаций детекторов. Различают дифференциальные и интегральные детекторы. Дифференциальные детекторы регистрируют мгновенное значение одной из характеристик (концентрации или потока) во времени. Интегральные детекторы суммируют количество вещества за определенный промежуток времени. Также применяют разнообразные по принципу действия, чувствительности и назначению детекторы: термокондуктометрические, ионизационные, спектроскопические, масс-спектрометрические, кулонометрические и многие другие.

Применение газо-адсорбционной хроматографии

Газо-адсорбционная хроматография используется в химической и нефтехимической промышленности для анализа продуктов химического и нефтехимического синтеза, состава фракций нефти, определения чистоты реактивов и содержания ключевых продуктов на разных стадиях технологических процессов и т.п.

Анализ постоянных газов и легких углеводородов, включая изомеры, методом газовой хроматографии занимает 5 – 6 минут. Раньше, на традиционных газоанализаторах, этот анализ длился 5 – 6 часов. Все это привело к тому, что газовая хроматография стала широко использоваться не только в научно-исследовательских институтах и контрольно-измерительных лабораториях, но и вошла в системы комплексной автоматизации промышленных предприятий.

Сегодня газовая хроматография применяется и при поиске нефтяных и газовых месторождений, позволяя определять в отобранных из почв пробах содержание органических веществ, указывающих на близость нефтяных и газовых месторождений.

Газовая хроматография успешно применяется в криминалистике, где с ее помощью устанавливают идентичность образцов пятен крови, бензинов, масел, подделку дорогостоящих пищевых продуктов и т.п. Очень часто газовая хроматография применяется для определения содержания спирта в крови водителей автомобилей. Несколько капель крови из пальца достаточно, чтобы узнать, сколько, когда и какой спиртной напиток он выпил.

Газовая хроматография позволяет получать ценную и уникальную информацию о составе запахов пищевых продуктов, таких, как сыр, кофе, икра, коньяк и др. Иногда информация, получаемая газохроматографическим анализом, нас не радует. Например, нередко в пищевых продуктах обнаруживается излишнее количество пестицидов или фруктовый сок содержит трихлорэтилен, который вопреки запретам использовали для повышения степени извлечения каротина из фруктов и т.д. Но именно эта информация защищает здоровье человека.

Впрочем, нередки случаи, когда полученной информацией люди просто пренебрегают. В первую очередь это относится к курению. Детальный газохроматографический анализ давно установил, что дым сигарет и папирос содержит до 250 различных углеводородов и их производных, из которых около 50 обладают канцерогенным действием. Именно поэтому у курильщиков рак легких встречается в 10 раз чаще, но по-прежнему миллионы людей продолжают отравлять себя, своих коллег и родственников.

Газовая хроматография находит широкое применение в медицине для определения содержания многочисленных лекарственных препаратов, определения уровня жирных кислот, холестерина, стероидов и т.д. в организме больного. Такие анализы дают чрезвычайно важную информацию о состоянии здоровья человека, ходе его болезни, эффективности использования тех или иных лекарств.

Научные исследования в металлургии, микробиологии, биохимии, в разработке средств защиты растений и новых лекарственных препаратов, в создании новых полимеров, строительных материалов и во многих других самых различных областях практической деятельности человека невозможно себе представить без такого мощного аналитического метода, как газовая хроматография.

Газовая хроматография успешно используется для определения содержания полициклических ароматических соединений, опасных для здоровья человека, в воде и в воздухе, уровня бензина в воздухе помещений автозаправочных станций, состава выхлопных газов автомобилей в воздухе и т.д.

Этот метод широко используется как один из основных методов контроля чистоты окружающей среды.

Газовая хроматография занимает важное место в нашей жизни, обеспечивая нас колоссальным объемом информации. В народном хозяйстве и в научно-исследовательских организациях используется более 20 тыс. самых различных газовых хроматографов, которые являются незаменимыми помощниками при решении многих сложных задач, ежедневно возникающих перед исследователями и инженерами.

**б)Жидкостная (жидкостно-адсорбционная) хроматография**

Жидкостная хроматография представляет собой группу вариантов хроматографии, в которых подвижной фазой является жидкость.

Одним из вариантов жидкостной хроматографии является жидкостно-адсорбционная хроматография – это метод, в котором неподвижной фазой является твердый адсорбент.

Хотя жидкостная хроматография была открыта раньше газовой, она лишь во второй половине ХХ века вступила в период исключительно интенсивного развития. В настоящее время по степени разработки теории хроматографического процесса и техники инструментального оформления, по эффективности и скорости разделения она вряд ли уступает методу газохроматографического разделения. Однако каждый из этих двух основных видов хроматографии имеет свою преимущественную область применения. Если газовая хроматография пригодна главным образом для анализа, разделения и исследования химических веществ с молекулярной массой 500 – 600, то жидкостная хроматография может быть использована для веществ с молекулярной массой от нескольких сот до нескольких миллионов, включая предельно сложные макромолекулы полимеров, белков и нуклеиновых кислот. Вместе с тем противопоставление различных хроматографических методов по своей сути лишено здравого смысла, так как хроматографические методы удачно дополняют друг друга, и к самой задаче конкретного исследования надо подходить по-иному, а именно, какой хроматографический метод позволяет решить ее с большей скоростью, информативностью и с меньшими затратами.

Как и в газовой хроматографии, в современной жидкостной хроматографии применяют детекторы, позволяющие непрерывно фиксировать концентрацию определяемого вещества в потоке жидкости, вытекающей из колонки.

Единого универсального детектора для жидкостной хроматографии не существует. Поэтому в каждом конкретном случае следует подбирать наиболее подходящий детектор. Наибольшее распространение получили ультрафиолетовый, рефрактометрический, микроадсорбционный и транспортный пламенно-ионизационный детекторы.

Спектрометрические детекторы. Детекторы этого типа являются высокочувствительными селективными приборами, позволяющими определять в потоке жидкой фазы весьма малые концентрации веществ. Их показания мало зависят от колебаний температуры и других случайных изменений среды. Одна из важных особенностей спектрометрических детекторов заключается в прозрачности большинства применяющихся в жидкостно-адсорбционной хроматографии растворителей в рабочей области длин волн.

Чаще всего применяют поглощение в УФ, реже в ИК области. В УФ области применяют приборы, работающие в широком диапазоне – от 200 нм до видимой части спектра, либо на определенных длинах волн, чаще всего на 280 и 254 нм. В качестве источников излучения применяются ртутные лампы низкого давления (254 нм), среднего давления (280 нм) и соответствующие фильтры.

Микроадсорбционные детекторы. В основе действия микроадсорбционных детекторов лежит выделение теплоты при адсорбции вещества на адсорбенте, которым заполнена ячейка детектора. Измеряется, однако, не теплота, а температура адсорбента, до которой он нагревается в результате адсорбции.

Микроадсорбционный детектор – достаточно высокочувствительный инструмент. Его чувствительность зависит прежде всего от теплоты адсорбции.

Микроадсорбционные детекторы являются универсальными, пригодными для детектирования как органических, так и неорганических веществ. Однако на них трудно получить достаточно четкие хроматограммы, особенно при неполном разделении компонентов смеси.

1. **Хроматография на жидкой неподвижной фазе**

**а)Газо-жидкостная хроматография**

Газо-жидкостная хроматография – газохроматографический метод, в котором неподвижной фазой является малолетучая жидкость, нанесенная на твердый носитель.

Этот вид хроматографии используется для разделения газов и паров жидкостей.

Основное различие газо-жидкостной от газо-адсорбционной хроматографии заключается в том, что в первом случае метод основан на использовании процесса растворения и последующего испарения газа или пара из жидкой пленки, удерживаемой твердым инертным носителем; во втором случае процесс разделения основан на адсорбции и последующей десорбции газа или пара на поверхности твердого вещества – адсорбента.

Процесс хроматографирования схематически можно представить следующим образом. Смесь газов или паров летучих жидкостей вводят потоком газа-носителя в колонку, заполненную неподвижным инертным носителем, на котором распределена нелетучая жидкость (неподвижная фаза). Исследуемые газы и пары поглощаются этой жидкостью. Затем компоненты разделяемой смеси селективно вытесняются в определенном порядке из колонки.

В газо-жидкостной хроматографии применяется ряд детекторов, специфически реагирующих на любые органические вещества или же на органические вещества с определенной функциональной группой. К их числу относятся ионизационные детекторы, детекторы электронного захвата, термоионные, спектрофотометрические и некоторые другие детекторы.

Пламенно-ионизационный детектор (ПИД). Работа ПИД основана на том, что органические вещества, попадая в пламя водородной горелки, подвергаются ионизации, вследствие чего в камере детектора, являющейся одновременно ионизационной камерой, возникает ток ионизации, сила которого пропорциональна количеству заряженных частиц.

ПИД чувствителен только к органическим соединениям и не чувствителен или очень слабо чувствителен к таким газам, как воздух, оксидам серы и углерода, сероводороду, аммиаку, сероуглероду, парам воды и к ряду других неорганических соединений. Нечувствительность ПИД к воздуху позволяет применять его для определения загрязнений воздуха различными органическими веществами.

При работе с ПИД применяются 3 газа: газ-носитель (гелий или азот), водород и воздух. Все 3 газа должны обладать высокой степенью чистоты.

Аргоновый детектор. В аргоновом детекторе ионизация вызывается столкновением молекул определяемого вещества с метастабильными атомами аргона, образующимися в результате воздействия радиоактивного В-излучения.

Термоионный детектор. Принцип действия термоионного детектора состоит в том, что соли щелочных металлов, испаряясь в пламени горелки, селективно реагируют с соединениями, содержащими галогены или фосфор. В отсутствие таких соединений в ионизационной камере детектора устанавливается равновесие атомов щелочного металла. Присутствие атомов фосфора вследствие их реакции с атомами щелочного металла нарушает это равновесие и вызывает появление в камере ионного тока.

Так как термоионный детектор обладает наивысшей чувствительностью к фосфорсодержащим соединениям, он получил название фосфорного. Применяется этот детектор главным образом для анализа фосфорорганических пестицидов, инсектицидов и ряда биологически активных соединений.

**б)Гель-хроматография**

Гель-хроматография (гель-фильтрация) – метод разделения смесей веществ с различными молекулярными массами путем фильтрации анализируемого раствора через поперечно-сшитые ячеистые гели.

Разделение смеси веществ происходит в том случае, если размеры молекул этих веществ различны, а диаметр пор зерен геля постоянен и может пропускать лишь те молекулы, размеры которых меньше диаметра отверстий пор геля. При фильтровании раствора анализируемой смеси более мелкие молекулы, проникая в поры геля, задерживаются в растворителе, содержащимся в этих порах, и движутся вдоль слоя геля медленнее, чем крупные молекулы, не способные проникнуть в поры. Таким образом, гель-хроматография позволяет разделять смесь веществ в зависимости от размеров и молекулярной массы частиц этих веществ. Этот метод разделения достаточно прост, быстр и, что самое главное, он позволяет разделять смеси веществ в более мягких условиях, чем другие хроматографические методы.

Если гранулами геля заполнить колонку и затем налить в нее раствор различных веществ с разной молекулярной массой, то при движении раствора вдоль слоя геля в колонке будет происходить разделение этой смеси.

Начальный период опыта: нанесение раствора анализируемой смеси на слой геля в колонке. Второй этап – гель не препятствует диффузии молекул малого размера в поры, крупные же молекулы остаются в растворе, окружающем гранулы геля. При промывании слоя геля чистым растворителем крупные молекулы начинают двигаться со скоростью, близкой к скорости перемещения растворителя, в то время как мелкие молекулы должны сначала продиффундировать из внутренних пор геля в объем между зернами и вследствие этого задерживаются и вымываются растворителем позже. Происходит разделение смеси веществ согласно их молекулярной массе. Вымывание веществ из колонки происходит в порядке уменьшения их молекулярной массы.

Применение гель-хроматографии.

Основное назначение гель-хроматографии – разделение смесей высокомолекулярных соединений и определение молекулярномассового распределения полимеров.

Однако в равной степени гель-хроматография применяется для разделения смеси веществ средней молекулярной массы и даже низкомолекулярных соединений. В этом случае большое значение имеет то, что гель-хроматография позволяет вести разделение при комнатных температурах, что выгодно отличает ее от газо-жидкостной хроматографии, требующей нагревания для перевода анализируемых веществ в паровую фазу.

Разделение смеси веществ методом гель-хроматографии возможно и тогда, когда молекулярные массы анализируемых веществ очень близки или даже равны. В этом случае используется взаимодействие растворенных веществ с гелем. Это взаимодействие может оказаться столь значительным, что сводит на нет различия в размерах молекул. Если природа взаимодействия с гелем для разных веществ неодинакова, это различие можно использовать для разделения интересующей смеси.

Примером может служить применение гель-хроматографии для диагностики заболеваний щитовидной железы. Диагноз устанавливают по количеству иода, определенному в ходе анализа.

Приведенные примеры применения гель-хроматографии показывают ее широкие возможности для решения самых разнообразных аналитических задач.

**Заключение**

Как научный метод познания окружающего нас мира хроматография постоянно развивается и совершенствуется. Сегодня она применяется столь часто и столь широко в научных исследованиях, медицине, молекулярной биологии, биохимии, технике и народном хозяйстве, что очень трудно найти область знаний, в которой бы хроматография не использовалась.

Хроматография как метод исследования с ее исключительными возможностями является мощным фактором познания и преобразования усложняющегося мира в интересах создания приемлемых условий обитания человека на нашей планете.

**С П И С О К Л И Т Е Р А Т У Р Ы**

1. Айвазов Б.В. Введение в хроматографию. – М.: Высш.шк., 1983 – с. 8-18, 48-68, 88-233.
2. Крешков А.П. Основы аналитической химии. Теоретические основы. Качественный анализ, книга первая, изд.4-е, перераб. М., «Химия», 1976 – с. 119-125.
3. Сакодынский К.И., Орехов Б.И. Хроматография в науке и технике. – М.: Знание, 1982 – с. 3-20, 28-38, 58-59.