**8 занятие.**

**Газовая хроматография** — физико-химический метод разделения веществ, основанный на распределении компонентов анализируемой [смеси](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%BC%D0%B5%D1%81%D1%8C_%28%D1%85%D0%B8%D0%BC%D0%B8%D1%8F%29) между двумя несмешивающимися и движущимися относительно друг друга фазами, где в качестве подвижной фазы выступает газ (газ-носитель), а в качестве неподвижной фазы - твердый [сорбент](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%BE%D1%80%D0%B1%D0%B5%D0%BD%D1%82%D1%8B) или жидкость, нанесенная на инертный твердый носитель или внутренние стенки колонки.

В зависимости от типа используемой неподвижной фазы газовую хроматографию подразделяют на [газоадсорбционную](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B0%D0%B7%D0%BE-%D1%82%D0%B2%D1%91%D1%80%D0%B4%D0%BE%D1%84%D0%B0%D0%B7%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%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%22%20%5Co%20%22%D0%93%D0%B0%D0%B7%D0%BE-%D1%82%D0%B2%D1%91%D1%80%D0%B4%D0%BE%D1%84%D0%B0%D0%B7%D0%BD%D0%B0%D1%8F%20%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) (в зарубежной научной литературе ее принято обозначать как газотвердофазная) и газожидкостную хроматографию. В первом случае неподвижной фазой является твёрдый носитель ([силикагель](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%B8%D0%BB%D0%B8%D0%BA%D0%B0%D0%B3%D0%B5%D0%BB%D1%8C), [уголь](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D1%80%D0%B5%D0%B2%D0%B5%D1%81%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D1%83%D0%B3%D0%BE%D0%BB%D1%8C), [оксид алюминия](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D0%BA%D1%81%D0%B8%D0%B4_%D0%B0%D0%BB%D1%8E%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%B8%D1%8F)), во втором — жидкость, нанесённая на поверхность инертного носителя.

Газо-жидкостная [хроматография](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A5%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%B3%D1%80%D0%B0%D1%84%D0%B8%D1%8F) — разделение [газовой](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B0%D0%B7) смеси вследствие различной растворимости компонентов пробы в жидкости или различной стабильности образующихся комплексов. Неподвижной фазой служит жидкость, нанесенная на инертный носитель, подвижной — газ.

Разделение основано на различиях в летучести и растворимости (или адсорбируемости) компонентов разделяемой смеси.

Этот метод можно использовать для анализа газообразных, жидких и твёрдых веществ с молекулярной массой меньше 400, которые должны удовлетворять определённым требованиям, главные из которых — летучесть, термостабильность, инертность, лёгкость получения. Этим требованиям в полной мере удовлетворяют, как правило, органические вещества, поэтому газовую хроматографию широко используют как серийный метод [анализа](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D0%B0%D0%BB%D0%B8%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B0%D1%8F_%D1%85%D0%B8%D0%BC%D0%B8%D1%8F) органических соединений.

Главным прибором для этого метода исследований является газовый [***хроматограф***](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A5%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%B3%D1%80%D0%B0%D1%84):



|  |
| --- |
| *Схема газового хроматографа* |
| 1 — источник газа-носителя (подвижной фазы)2 — регулятор расхода газа носителя3 — устройство ввода пробы4 — хроматографическая колонка в [термостате](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B5%D1%80%D0%BC%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%B0%D1%82)5 — детектор6 — электронный усилитель7 — регистрирующий прибор (самописец, [компьютер](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BE%D0%BC%D0%BF%D1%8C%D1%8E%D1%82%D0%B5%D1%80))8 — расходомер |

### ***Источник газа-носителя.***

Чаще всего это — 40 литровый [баллон](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%B2%D1%8B%D0%B9_%D0%B1%D0%B0%D0%BB%D0%BB%D0%BE%D0%BD) со сжатым или сжиженным [газом](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B0%D0%B7), который обычно находится под большим давлением (до 150 [атмосфер](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D1%82%D0%BC%D0%BE%D1%81%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%B0_%28%D0%B5%D0%B4%D0%B8%D0%BD%D0%B8%D1%86%D0%B0_%D0%B8%D0%B7%D0%BC%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F%29)), посредством [редуктора](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B5%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%80_%28%D0%B3%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%B2%D1%8B%D0%B9%29) давление на выходе снижают до рабочего давления хроматографа (обычно хроматографы работают под давлением от 4 до 10 [атмосфер](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D1%82%D0%BC%D0%BE%D1%81%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%B0_%28%D0%B5%D0%B4%D0%B8%D0%BD%D0%B8%D1%86%D0%B0_%D0%B8%D0%B7%D0%BC%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F%29)). Чаще всего при хроматографии используют [гелий](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BB%D0%B8%D0%B9), реже [аргон](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D1%80%D0%B3%D0%BE%D0%BD) и [азот](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%B7%D0%BE%D1%82), ещё реже [водород](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B4) и другие газы.

В случае использования в качестве газа-носителя [водорода](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B4) или [азота](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%B7%D0%BE%D1%82) источниками газа помимо баллонов могут служить [генераторы водорода](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%93%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D1%80%D0%B0%D1%82%D0%BE%D1%80_%D0%B2%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B4%D0%B0&action=edit&redlink=1) или [азота](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%93%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D1%80%D0%B0%D1%82%D0%BE%D1%80_%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D1%82%D0%B0&action=edit&redlink=1) соответственно.

Цветовая [маркировка баллонов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D0%BA%D1%80%D0%B0%D1%81%D0%BA%D0%B0_%D0%B8_%D0%BC%D0%B0%D1%80%D0%BA%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%BA%D0%B0_%D0%B1%D0%B0%D0%BB%D0%BB%D0%BE%D0%BD%D0%BE%D0%B2_%D1%81_%D0%B3%D0%B0%D0%B7%D0%B0%D0%BC%D0%B8), содержащих различные газы.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **аз** | **Окраска баллона** | **Цвет надписи с названием газа** |
| [Азот](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%B7%D0%BE%D1%82) | Чёрный | Жёлтый |
| [Водород](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B4) | Тёмно-зелёный | Красный |
| [Гелий](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BB%D0%B8%D0%B9) | Коричневый | Белый |
| [Аргон](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D1%80%D0%B3%D0%BE%D0%BD) (техн.) | Чёрный | Синий |
| [Аргон](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D1%80%D0%B3%D0%BE%D0%BD) (чист.) | Серый | Зелёный |
| [Кислород](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B4) | Голубой | Чёрный |
| Горючие газы | Красный | Белый |

### ***Регулятор расхода газа.*** Предназначение этого компонента газового хроматографа — контроль расхода газа в системе, а также поддержка необходимого [давления](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%B0%D0%B2%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5) газа на входе в систему. Обычно в качестве регулятора расхода газа используются [редуктор](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%B2%D1%8B%D0%B9_%D1%80%D0%B5%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%80) или [дроссель](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B8%D0%B4%D1%80%D0%B0%D0%B2%D0%BB%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D0%B4%D1%80%D0%BE%D1%81%D1%81%D0%B5%D0%BB%D1%8C).

### ***Устройство ввода пробы.*** Предназначено для подачи пробы анализируемой смеси в хроматографическую колонку.

В том случае, если хроматограф предназначен для анализа жидких проб, устройство ввода проб совмещается с испарителем.

Проба вводится в испаритель при помощи микрошприца путём прокалывания эластичной прокладки. Испаритель обычно нагрет до температуры, превышающей температуру самой колонки на 50 °C. Объём вводимой пробы от 0,1 до нескольких [микролитров](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%9C%D0%B8%D0%BA%D1%80%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D1%82%D1%80&action=edit&redlink=1)

В случае газообразных образцов, проба может вводиться 2 способами:

1. Проба вводится в испаритель при помощи газового шприца (специальный газоуплотненный хроматографический шприц для вкола газообразных проб в испаритель обычно объёмом 1 мл) путём прокалывания эластичной прокладки.
2. Включение в газовую схему «газового крана» вместо или перед испарителем. Газовый кран имеет 2 положения: «отбор пробы» и «анализ». В положении «отбор пробы» газ-носитель поступает напрямую в колонку, в это же время петля подключена одним концом к штуцеру отбора пробы, а вторым соединена со штуцером сброса пробы (атмосферой). При повороте газового крана в режим «анализ» происходит переключение потоков газов: теперь газ-носитель идет в колонку через пробоотборную петлю (обычно используют петли объёмом 1 или 2 мл) осуществляя таким образом ввод пробы в колонку, в это же время штуцер отбора пробы соединяется с атмосферой минуя пробоотборную петлю.

### ***Хроматографические колонки.***

Под колонкой подразумевается сосуд, [длина](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%BB%D0%B8%D0%BD%D0%B0) которого значительно больше [диаметра](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%B8%D0%B0%D0%BC%D0%B5%D1%82%D1%80). Для газовой хроматографии используют 2 типа колонок — капиллярные и насадочные. Насадочные колонки имеют внешний диаметр от 2 до 4 мм и длину от 1-го метра до 4-х метров. Внутренний диаметр капиллярных колонок (ID — inner diameter) — 0,15-0,53 [мм](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B8%D0%BB%D0%BB%D0%B8%D0%BC%D0%B5%D1%82%D1%80), а длина — 15-100 [м](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D1%80). Материалом для изготовления колонок служит [стекло](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D1%82%D0%B5%D0%BA%D0%BB%D0%BE), [нержавеющая сталь](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D0%B5%D1%80%D0%B6%D0%B0%D0%B2%D0%B5%D1%8E%D1%89%D0%B0%D1%8F_%D1%81%D1%82%D0%B0%D0%BB%D1%8C), [медь](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D0%B4%D1%8C), иногда [фторопласт](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D1%82%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%BF%D0%BB%D0%B0%D1%81%D1%82). В последнее время наибольшее распространение получили капиллярные колонки изготовленные из плавленного [кварца](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%B2%D0%B0%D1%80%D1%86), с нанесенной внутри неподвижной фазой. Длина подобных колонок может достигать сотен и даже тысяч метров, хотя чаще используются колонки длиной 30-60 [м](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D1%80).

Крайне важно плотное наполнение колонок неподвижной фазой, а также обеспечение постоянства [температуры](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B5%D0%BC%D0%BF%D0%B5%D1%80%D0%B0%D1%82%D1%83%D1%80%D0%B0) колонки в течение всего процесса хроматографирования. [Точность](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%BE%D1%87%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%8C) поддержания температуры должна составлять 0,05-0,1 °C. Для точного регулирования и поддержания температуры используют [термостаты](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B5%D1%80%D0%BC%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%B0%D1%82).

### ***Детекторы.***

Детекторы предназначены для непрерывного измерения концентрации веществ на выходе из хроматографической колонки. Принцип действия детектора должен быть основан на измерении такого свойства аналитического компонента, которым не обладает подвижная фаза.

В газовой хроматографии используют следующие виды детекторов:

* [пламенно-ионизационный детектор](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%BB%D0%B0%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%BE-%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B8%D0%B7%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D0%B4%D0%B5%D1%82%D0%B5%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%80)
* [детектор по теплопроводности (катарометр)](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%B0%D1%82%D0%B0%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D1%82%D1%80)
* [детектор электронного захвата](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%B5%D1%82%D0%B5%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%80_%D1%8D%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%80%D0%BE%D0%BD%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE_%D0%B7%D0%B0%D1%85%D0%B2%D0%B0%D1%82%D0%B0)
* [пламенно-фотометрический детектор](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%9F%D0%BB%D0%B0%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%BE-%D1%84%D0%BE%D1%82%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D1%82%D1%80%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D0%B4%D0%B5%D1%82%D0%B5%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%80&action=edit&redlink=1)
* [термоионный детектор](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%A2%D0%B5%D1%80%D0%BC%D0%BE%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D0%B4%D0%B5%D1%82%D0%B5%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%80&action=edit&redlink=1)
* [фотоионизационный детектор](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%A4%D0%BE%D1%82%D0%BE%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B8%D0%B7%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D0%B4%D0%B5%D1%82%D0%B5%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%80&action=edit&redlink=1)
* [масс-спектрометр](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B0%D1%81%D1%81-%D1%81%D0%BF%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D1%82%D1%80)
* [ИК-фурье спектрометр](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%98%D0%9A-%D1%84%D1%83%D1%80%D1%8C%D0%B5_%D1%81%D0%BF%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D1%82%D1%80&action=edit&redlink=1)

**Газо-твёрдофазная хроматография** — вид [газовой хроматографии](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D1%8F_%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). Другое название — **газоадсорбционная хроматография**.

Газо-твёрдофазная хроматография это [метод разделения](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4_%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B4%D0%B5%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F) летучих компонентов, при котором подвижной фазой ([элюентом](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D0%BB%D1%8E%D0%B5%D0%BD%D1%82)) служит поток [инертного газа](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%98%D0%BD%D0%B5%D1%80%D1%82%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D0%B3%D0%B0%D0%B7)-носителя ([водород](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B4), [гелий](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BB%D0%B8%D0%B9), [азот](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%B7%D0%BE%D1%82), [аргон](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D1%80%D0%B3%D0%BE%D0%BD), [углекислый газ](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A3%D0%B3%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D1%8B%D0%B9_%D0%B3%D0%B0%D0%B7)), а неподвижной — частицы твёрдого тела ([адсорбенты](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%B4%D1%81%D0%BE%D1%80%D0%B1%D0%B5%D0%BD%D1%82) с высокой удельной поверхностью (10—1000 м2г-1) — [активные угли](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BA%D1%82%D0%B8%D0%B2%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D1%83%D0%B3%D0%BE%D0%BB%D1%8C), [силикагели](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%B8%D0%BB%D0%B8%D0%BA%D0%B0%D0%B3%D0%B5%D0%BB%D1%8C), [пористое стекло](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%BE%D1%80%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%BE%D0%B5_%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BA%D0%BB%D0%BE), [оксид алюминия](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D0%BA%D1%81%D0%B8%D0%B4_%D0%B0%D0%BB%D1%8E%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%B8%D1%8F)). Газ-носитель не реагирует с неподвижной фазой и разделяемыми веществами. Распределение веществ между неподвижной и подвижной фазами определяется процессами сорбции-десорбции

Применяется для [анализа](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D0%B0%D0%BB%D0%B8%D0%B7) и препаративного разделения газовых и жидких [смесей](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%BC%D0%B5%D1%81%D1%8C_%28%D1%85%D0%B8%D0%BC%D0%B8%D1%8F%29), а также летучих [твёрдых тел](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B2%D1%91%D1%80%D0%B4%D0%BE%D0%B5_%D1%82%D0%B5%D0%BB%D0%BE) при проведении [физико-химических исследований](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%B8%D0%B7%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B0%D1%8F_%D1%85%D0%B8%D0%BC%D0%B8%D1%8F). Для проведения анализа [жидкости](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%96%D0%B8%D0%B4%D0%BA%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%8C) и твёрдые вещества переводят в [парообразное состояние](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%B0%D1%80) в испарителе, нагретом до высокой температуры. В случае анализа твёрдых нелетучих или термически нестабильных веществ анализируют [газообразные](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B0%D0%B7) продукты их термического распада (пиролиз, [пиролитическая хроматография](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%9F%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B0%D1%8F_%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&action=edit&redlink=1)) или предварительно модифицируют смеси, получая летучие и термически стабильные производные (например, с помощью триметилсилилхлорида)

Газо-твёрдофазная хроматография используется для качественного и количественного анализа смесей и индивидуальных веществ. Для количественного анализа используют либо внешний стандарт, т.е. калибруют прибор с известным количеством вещества, либо внутренний стандарт , т.е. добавляют в смесь известное количество вещества сходной природы с близким временем удерживания.

В фармацевтическом анализе газоадсорбционная хроматография используется редко. Более широко применяется **ГЖХ**, так как она более универсальна. Преимуществом этого метода является возможность в широких пределах варьировать свойствами жидкой фазы и тем самым добиваться разделения даже очень близких по свойствам веществ.

Сущность метода ГЖХ заключается в том, что анализируемые вещества в парообразном состоянии с потоком газа-носителя проходят через колонку с неподвижной жидкой фазой, нанесенной на твердый носитель. По мере продвижения по колонке вещества постоянно перераспределяются между фазами вследствие многократного повторения процессов сорбции-десорбции и разделяются из-за разницы в коэффициентах распределения. Затем разделенные вещества элюируются из хроматографической колонки потоком газа-носителя, регистрируются детектором и фиксируются на хроматограмме в виде пиков. Первым из колонки элюируется вещество с низким коэффициентом распределения, то есть хуже растворимое в жидкой фазе и более летучее при данной температуре. Соединение с высоким коэффициентом распределения, то есть лучше растворимое и менее летучее, задерживается колонкой и мигрирует медленнее. Выходящие из колонки вещества вместе с газом-носителем поступают, как было отмечено выше, в детектор, который реагирует на изменение какоголибо физического свойства проходящей через него газовой смеси.

Сигнал детектора преобразуется в электрический, который после усиления передается регистрирующему прибору, например потенциометру. Зависимость величины сигнала детектора от времени называется хроматограммой. Такая хроматограмма имеет следующий вид. Отдельное вещество проявляется на хроматограмме в виде пика.



Хроматографический пик и его параметры:

А – ввод пробы;

АВ – время удерживания;

СDE – хроматографический пик;

АС – базовая линия;

h – высота пика;

μ2 -μ1 (μ0,5) – ширина хроматографического пика на половине его высоты

Как видно из рисунка, хроматограмма имеет базовую линию. Она соответствует тому промежутку времени, в течение которого детектор регистрирует сигнал только от подвижной фазы. Хроматографический пик – кривая, описывающая постепенное увеличение концентрации вещества на выходе из колонки и постепенное ее уменьшение. Основными параметрами пика являются время удерживания, высота и ширина пика на половине его высоты, площадь пика. Время появления максимума пика на хроматограмме называется временем удерживания.

Анализ методом ГЖХ проводится с помощью специального прибора – газового хроматографа.

Главным узлом хроматографа является ***газохроматографическая колонка***. Она представляет собой прямую, спиральную или U-образную трубку, изготовленную из нержавеющей стали или стекла с внутренним диаметром от 2 до 4 мм. Наиболее часто используются колонки длиной 1–5 метра, заполненные твердым носителем с нанесенной жидкой фазой. Такие колонки называют ***насадочными***.



Газохроматографические колонки

В современных приборах используются капиллярные колонки, в которых неподвижная жидкая фаза наносится на внутреннюю поверхность капилляров. Капиллярные колонки изготавливаются из кварца или металла и имеют форму спирали. Внутренний диаметр таких колонок составляет 0,2–0,5 мм. Благодаря отсутствию твердого носителя значительно увеличивается скорость потока газа. Это, в свою очередь, приводит к сокращению продолжительности анализа. Высокая скорость потока газа позволяет использовать колонки огромной длины от 5 до 100 метров. Вследствие этого значительно увеличивается эффективность и разрешающая способность колонок. Если насадочные колонки можно использовать для разделения смесей, содержащих не более 10–20 компонентов, то в капиллярных колонках их число может достигать несколько сотен.

В качестве неподвижной фазы в ГЖХ применяют различные жидкости. По полярности их делят на три категории:

– неполярные (сквален – высокомолекулярный насыщенный углеводород; апиезоны – сложные смеси углеводородов, полиалкилсилоксаны – силиконовые полимеры);

– умеренно полярные (сложные эфиры двух- или трехосновных кислот: себациновой, фталевой, лимонной, фосфорной );

– сильно полярные (полиэтиленгликоли, полиэфиры – сложные зфиры двухосновных кислот и двухатомных спиртов, например неопентилгликольсукцинат).

Применяемые жидкости должны удовлетворять таким требованиям, как низкая летучесть при рабочей температуре колонки, термическая устойчивость, химическая инертность, невысокая вязкость, способность растворять хроматографируемые вещества.

Жидкая фаза наносится в виде тонкой пленки на твердый носитель, в качестве которого чаще всего используют диатомиты, состоящие главным образом из диоксида кремния. Они выпускаются под названием хромосорб, сферохром, целит и т.д. Носители изготавливают также из полимеров (тефлон, полистирол) или мельчайших стеклянных шариков. Такие носители используют для анализа сильнополярных или очень агрессивных веществ. Важной характеристикой носителя является размер частиц. Оптимальный размер частиц составляет от 125 до 150 мкм.

Твердые носители должны быть химически инертными, каталитически неактивными, механически прочными, термостабильными и не должны обладать адсорбционной активностью.

Анализируемая проба проходит через разделительную колонку в виде газа или пара. Поэтому температура, как рабочий параметр процесса, играет в газовой хроматографии большую роль, чем в других хроматографических методах. С увеличением температуры сокращается время проведения анализа, так как ускоряется процесс десорбции веществ и соответственно снижается время удерживания их на колонке. С другой стороны, увеличение температуры может вызвать разложение термолабильных соединений. Таким образом, температура колонки должна быть оптимальной. Она определяется, прежде всего, летучестью пробы и может достигать 350° С. Рабочая температура колонки должна быть постоянной, поскольку при ее колебаниях изменяется время удерживания веществ. Постоянство температуры обеспечивается с помощью термостатирующих устройств.

Для анализа смесей с широким диапазоном температур кипения компонентов применяют газовую хроматографию с программированием температуры, когда во время разделения температура колонки периодически или непрерывно повышается. Программирование температуры позволяет получить четко выраженные пики компонентов и сократить время анализа. В качестве детекторов чаще применяют пламенно-ионизационный детектор (ПИД) благодаря его высокой чувствительности к большинству органических соединений.

Применяются также детекторы других типов – детектор по теплопроводности (катарометр), термоионный, электронно-захватный, массспектрометрический и др.

**КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ ГЖХ**

Время от момента ввода пробы в колонку до момента регистрации максимума пика называется временем удерживания. Время удерживания зависит от природы вещества, поэтому может служить его качественной характеристикой. Однако на величину времени удерживания, кроме природы вещества, влияют различные экспериментальные параметры, такие как колебания температуры колонки, давления и скорости газа-носителя, плотность упаковки колонки, масса неподвижной жидкой фазы и другие. Вследствие этого идентификацию веществ анализируемого образца проводят либо методом сравнения со стандартными образцами (СО), либо методом относительных удерживаний.

Метод веществ-свидетелей заключается в том, что в одинаковых условиях последовательно хроматографируют анализируемый образец и СО. Совпадение времен удерживания компонентов анализируемого образца и СО является доказательством их идентичности.

При отсутствии стандартных образцов идентификацию компонентов проводят методом относительных удерживаний. Относительное удерживание мало зависит от параметров колонки, за исключением температуры, поэтому эта величина более или менее постоянная и лучше воспроизводится в отличие от абсолютной величины времени удерживания. Для определения относительного удерживания хроматографируют анализируемый образец, к которому добавлено определенное количество вещества сравнения, называемого внутренним стандартом. В качестве внутреннего стандарта используют постороннее соединение, отсутствующее в анализируемом образце и хорошо отделяющееся от всех других компонентов пробы. После хроматографирования смеси анализируемого образца и вещества сравнения вычисляют относительное удерживание (τ) по формуле:

τ = tR/ tRср

где tR и tRср – время удерживания анализируемого вещества и вещества сравнения соответственно.

В некоторых случаях веществом сравнения служит одно из изучаемых веществ смеси. Время удерживания такого вещества принимают за единицу. По отношению к нему выражаются параметры удерживания остальных веществ. Например, относительное время удерживания второго и третьего компонентов по отношению к первому, принятому за вещество сравнения, определяют следующим образом:

τ2 = tR2/ tR1 τ3 = tR3/ tR1

**КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ ГЖХ**

Так как площадь хроматографического пика прямо пропорциональна концентрации вещества, количественный анализ проводят по площади пика. Площади пиков на хроматограмме определяют с помощью планиметра или умножением высоты пика на его полуширину. В современных приборах площади пика вычисляют с помощью электронного интегратора, а для обработки хроматографической информации используют персональный компьютер с установленным программным обеспечением. Существуют несколько методов количественного определения:

– метод нормализации площадей;

– метод абсолютной калибровки;

– метод внутреннего стандарта;

– метод сравнения со стандартным образцом.

Самый простой метод – это метод нормализации площадей. Он основан на допущении, что все компоненты пробы выходят из колонки и регистрируются детектором. Тогда сумма площадей всех пиков принимается за 100 %: ∑ Sn = 100 %. Содержание i-ого компонента в % рассчитывают по формуле:

Х = Si x 100% / ∑ Sn

Метод абсолютной калибровки основан на использовании линейной зависимости между площадью пика и массой вещества. Готовят растворы СО различных концентраций, снимают хроматограммы и строят график зависимости площади пика от концентрации СО. Калибровочный график представляет собой прямую, проходящую через начало координат. Затем измеряют площадь пика на хроматограмме испытуемого образца (Sх) и по графику определяют его концентрацию (Cх).



Калибровочный график

Менее трудоемким и наиболее точным является метод сравнения со стандартным образцом (СО). Точность метода составляет 2–3 %. Готовят испытуемый раствор вещества и раствор его СО, попеременно хроматографируют и измеряют площади пиков. Так как площади пиков прямо пропорциональны концентрациям веществ, получают систему уравнений:

*Scо = Ccо*

*Sx = Cx*

Находят отношение площадей пиков стандартного и испытуемого образцов, которое, как видно из уравнения, прямо пропорционально отношению их концентраций.

*Scо / Sx = Ccо/ Cx*

Из уравнения вычисляют содержание определяемого вещества:

*Cx = Sx x Ccо/ Scо*

Если необходимо повысить точность анализа, то используют метод внутреннего стандарта. Внутренний стандарт – это постороннее соединение, отсутствующее в анализируемой смеси, но структурно похожее на определяемое соединение.

Достоинства метода ГЖХ

– быстрота проведения анализа (10–30 мин.);

– четкость разделения компонентов;

– высокая чувствительность метода, зависящая от применяемого детектора (если ПИД, то чувствительность достигает 10−9 г);

– высокая степень автоматизации разделения и обработки полученной информации.