

Хроматографические методы анализа и их применение для контроля качества лекарственных средств

Лекция 5

**по курсу «Анализ и контроль
качества лекарственных
средств»**

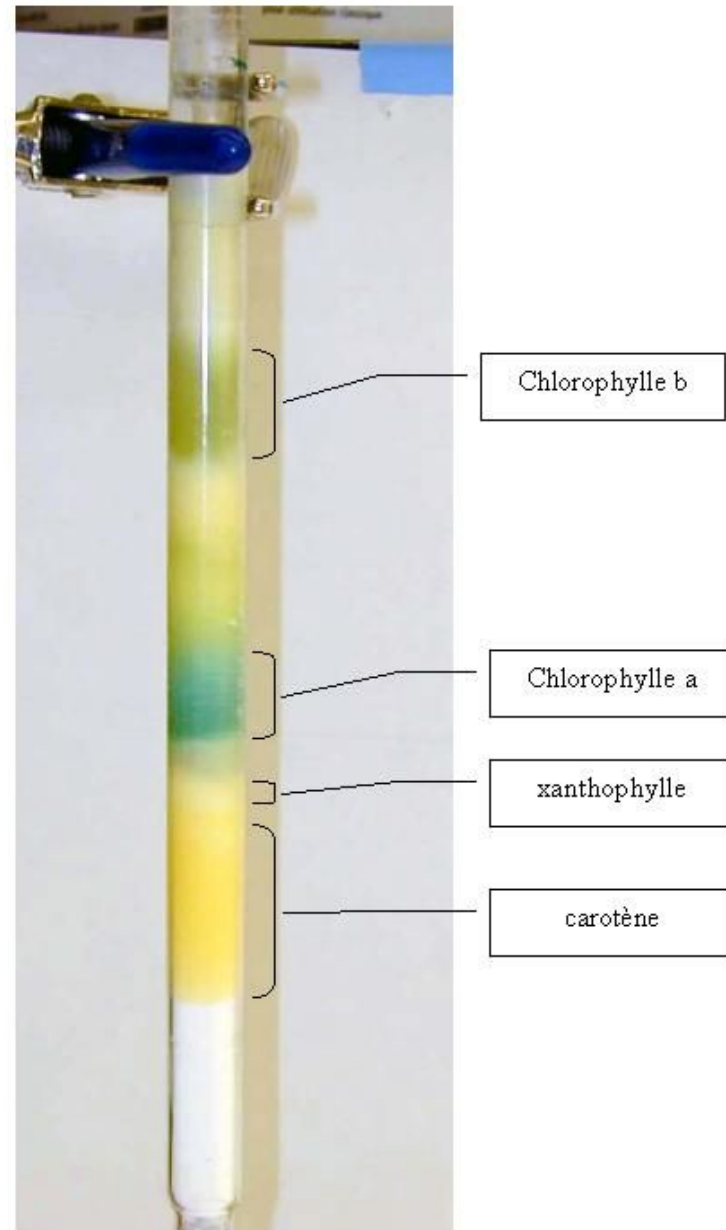
ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Хроматографические методы анализа – гибридные методы анализа, основанные на разделении анализируемых веществ с последующей детекцией разделенных соединений.

Электрофорез - это метод разделения на основе электрокинетического явления перемещения частиц дисперсной фазы (коллоидных или белковых растворов) в жидкой или газообразной среде под действием внешнего электрического поля с последующей детекцией.



- Цвет Михаил Семенович
- (1872 – 1919)



La chlorophylle *a* est *bleu-vert* et la chlorophylle *b* est *jaune verte*.
La xanthophylle a une *couleur jaune*
La carotène, une *couleur orange jaune*

«О новой категории адсорбционных явлений и о применении их к биохимическому анализу» — доклад на заседании биологического отделения Варшавского общества естествоиспытателей

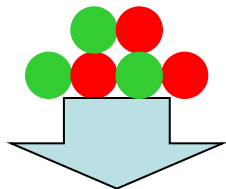
(21.03.1903)

- «При фильтрации смешанного раствора через столб адсорбента пигменты... расслаиваются в виде отдельных, различно окрашенных зон. Подобно световым лучам в спектре, различные компоненты сложного пигмента закономерно распределяются друг за другом в столбе адсорбента и становятся доступными качественному определению. Такой расцветенный препарат я назвал **хроматограммой**, а соответствующий метод анализа **хроматографическим методом**».
- Работы М.С.Цвета послужили фундаментом для развития остальных видов хроматографии для разделения как окрашенных, так и неокрашенных соединений, осуществляемых в любых средах.
- *Труды Варшавского общества естествоиспытателей. Отд. биологии. 1903. Т. 14. С. 1-20*

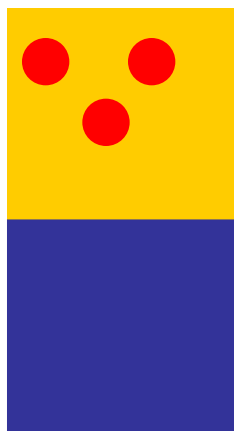
Хроматография как отрасль науки

- **Хроматография [гр. chrōmatos – цвет + graphō – пишу]** — метод разделения, анализа и физико-химических исследований веществ, основанный на перемещении зоны вещества вдоль слоя сорбента в потоке подвижной фазы с многократным повторением сорбционных и десорбционных актов. При этом разделяемые вещества распределяются между двумя несмешивающимися фазами (в зависимости от их относительной растворимости в каждой фазе): подвижной и неподвижной.
- Хроматография изучает термодинамику состояния двухфазных систем газ-жидкость, жидкость-жидкость, жидкость-твердое тело, сверхкритическое и жидкокристаллическое состояние веществ, исследует природу межмолекулярных взаимодействий, кинетику процессов внутреннего и межфазного массообмена, процессы комплексообразования, ассоциации и образования соединений включения, стереохимию органических соединений и многое другое.

Принцип хроматографического разделения веществ



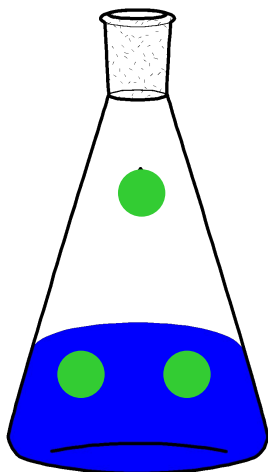
Молекулы разделяемых веществ



Неподвижная фаза

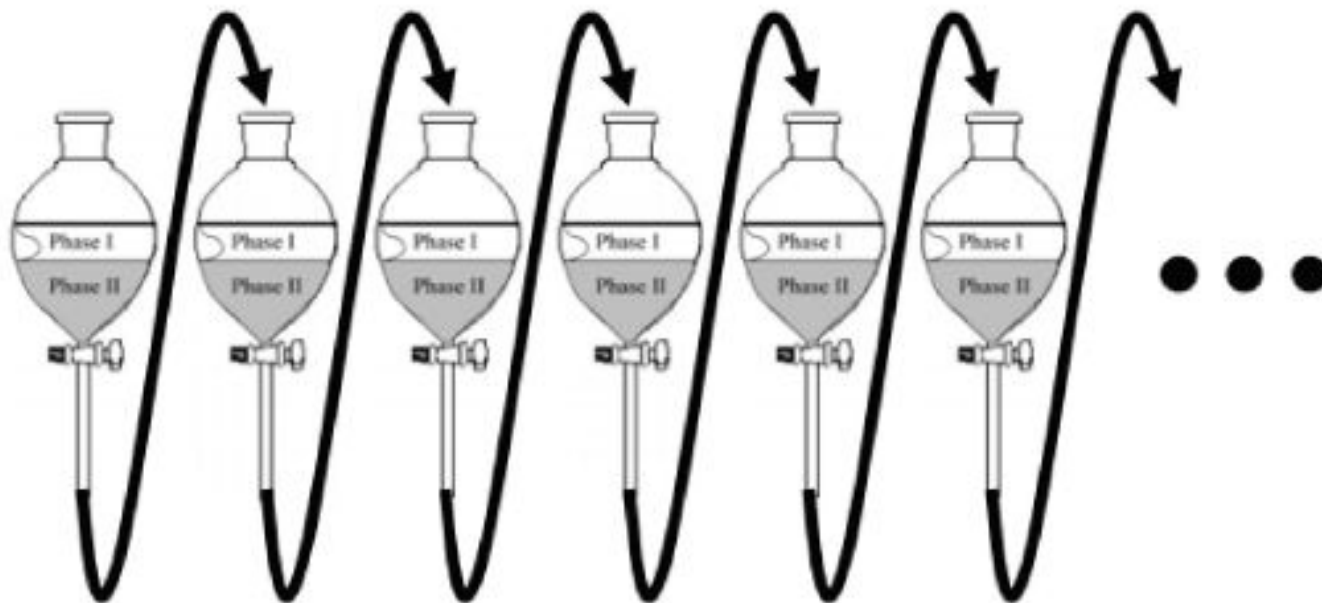
Подвижная фаза

Эффект разделения основывается на том, что соединения проходят расстояние, на котором происходит разделение, с некоторой, присущей этому соединению задержкой



Хроматографический процесс состоит из целого ряда сорбции и десорбции, а также растворения и элюирования, которые каждый раз приводят к новому равновесному состоянию

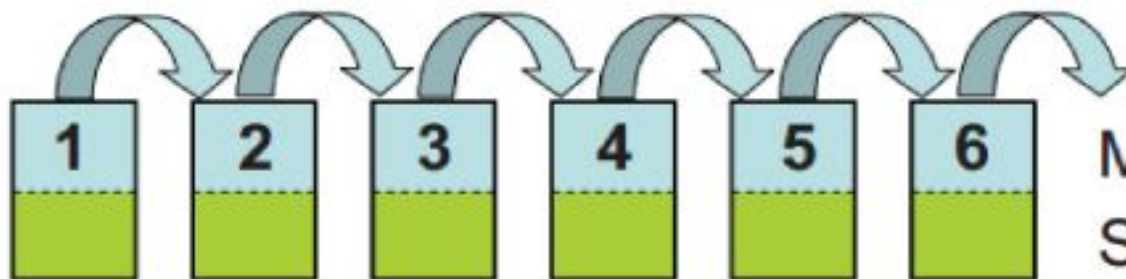
ПРИНЦИП ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ



...

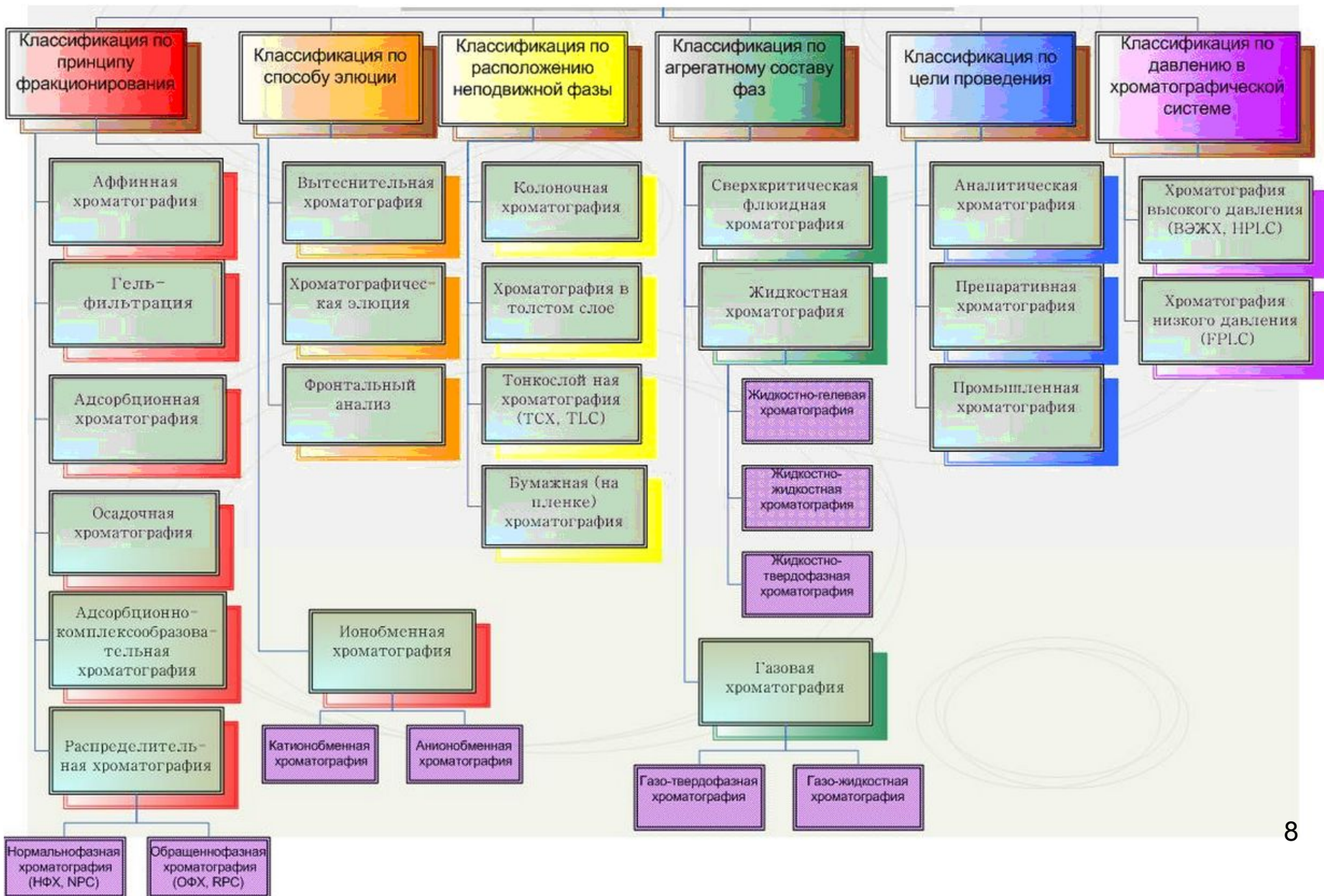


Trennstufenmodell



Transport
Mobile Phase
Stationäre Phase

Общая классификация хроматографических методов анализа



Классификация по механизму разделения

- 1. Адсорбционная хроматография (адсорбционно-комплексобразовательная или лигандообменная)
- 2. Распределительная хроматография
- 3. Гель-хроматография (эксклюзионная)
- 4. Ионо-обменная хроматография
- 5. Аффинная хроматография (за счет образования прочного комплекса только одним из разделяемых компонентов с привитой специфической группой неподвижной фазы)
- 6. Осадочная хроматография

По механизму взаимодействия разделяемых соединений с неподвижной фазой

Механизм процесса разделения	Название варианта
размер и форма молекул	эксклюзивная
физическая адсорбция	сорбционная
растворение	распределительная
ионообмен	ионообменная
образование водородной связи, проявления химического сродства и др.	хемосорбционная
образование координационных связей	лигандообменная
образование прочного комплекса с привитой группой	аффинная

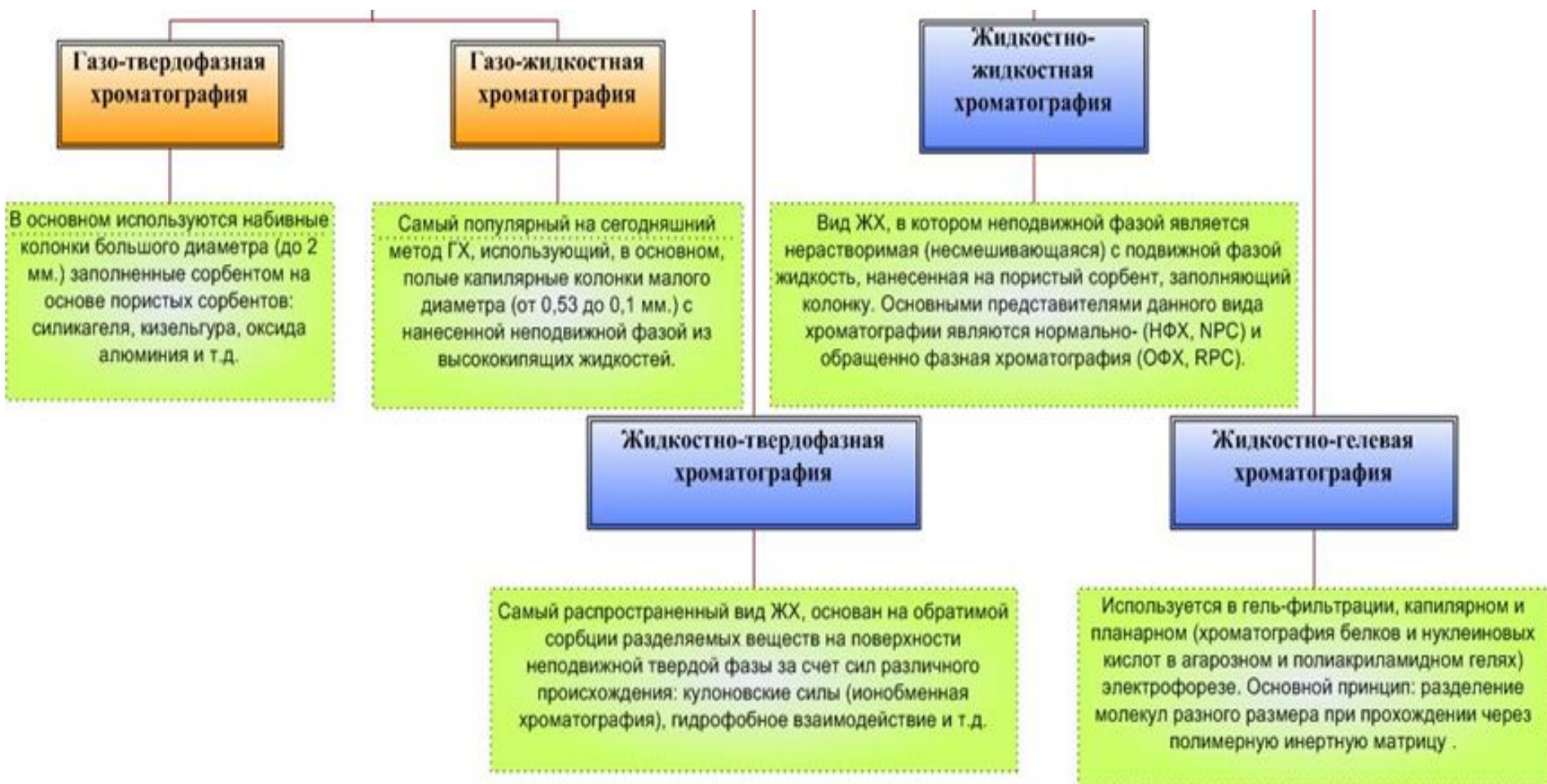
По агрегатному состоянию фаз

- 1. **Газовая**
- 1.1. Газо-твёрдофазная
- 1.2. Газо-жидко-твёрдофазная
- 1.3. Газо-жидкостная
- 2. **Жидкостная**
- 2.1. Жидкость-жидкостная
- 2.2. Жидкостно-твёрдофазная
- 2.3. Жидкостно-гелевая
- 3. **Сверх-критическая флюидная**



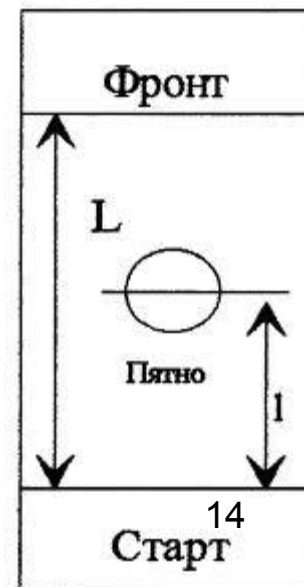
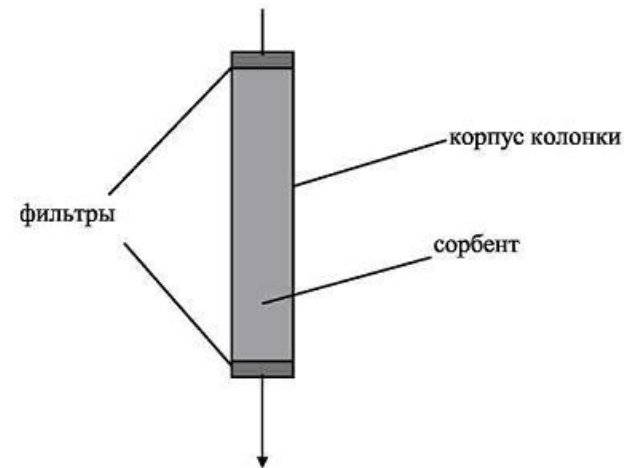
- *См. продолжение на следующем слайде*

Продолжение



По расположению неподвижной фазы

- 1. Колоночная
 - 1.1. Высокого давления
 - 1.2. Низкого давления
- 2. Планарная
 - 2.1. Тонкослойная хроматография
 - 2.2. Бумажная хроматография

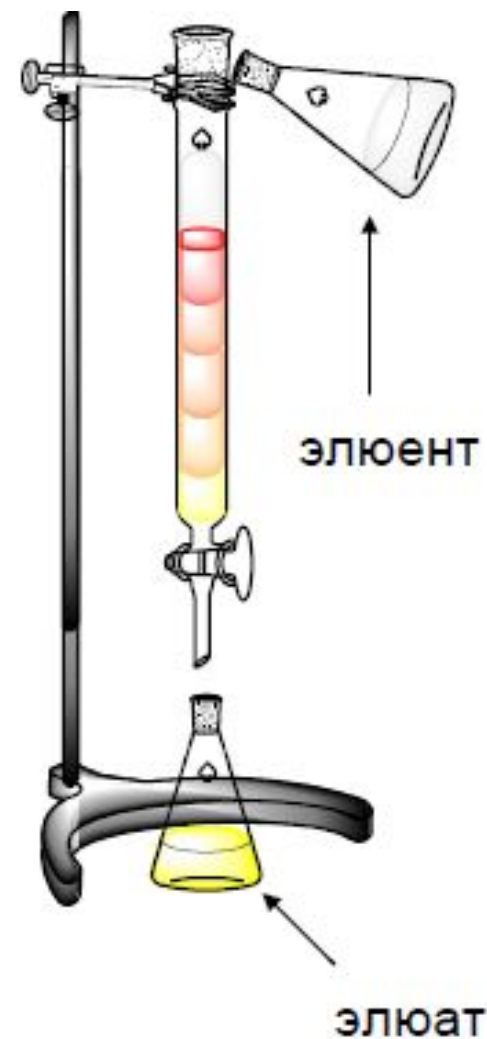
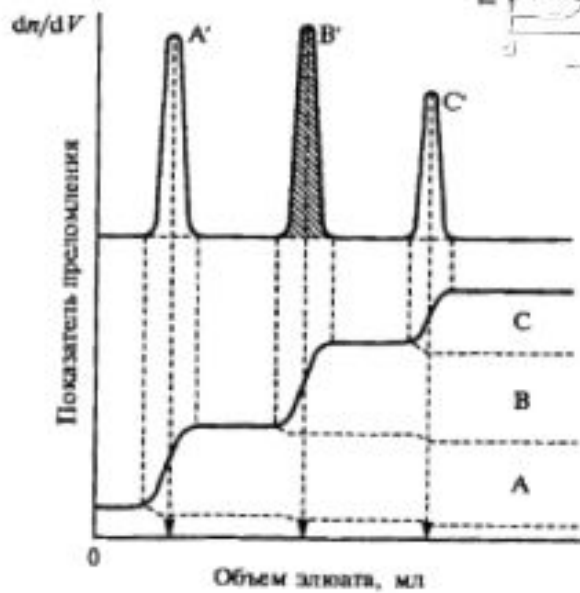
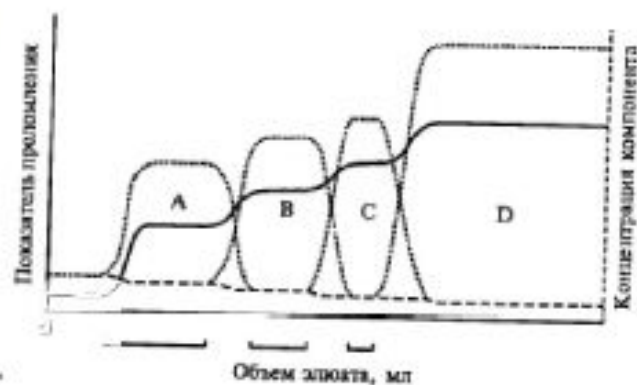
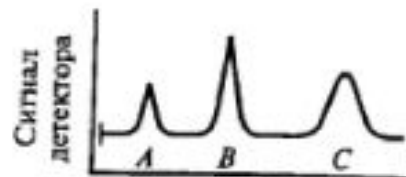


По способу проведения

Способ проведения процесса разделения	Название варианта
в цилиндрическом слое сорбента	колоночная хроматография
в пленке жидкости или тонком слое адсорбента, размещенном на внутренней стенке капилляра	капиллярная хроматография
в пленке жидкости, содержащейся в полоске бумаги	бумажная хроматография
в слое сорбента на плоской поверхности	тонкослойная хроматография

по способу получения хроматограмм

- элюентная
- вытеснительная
- фронтальная



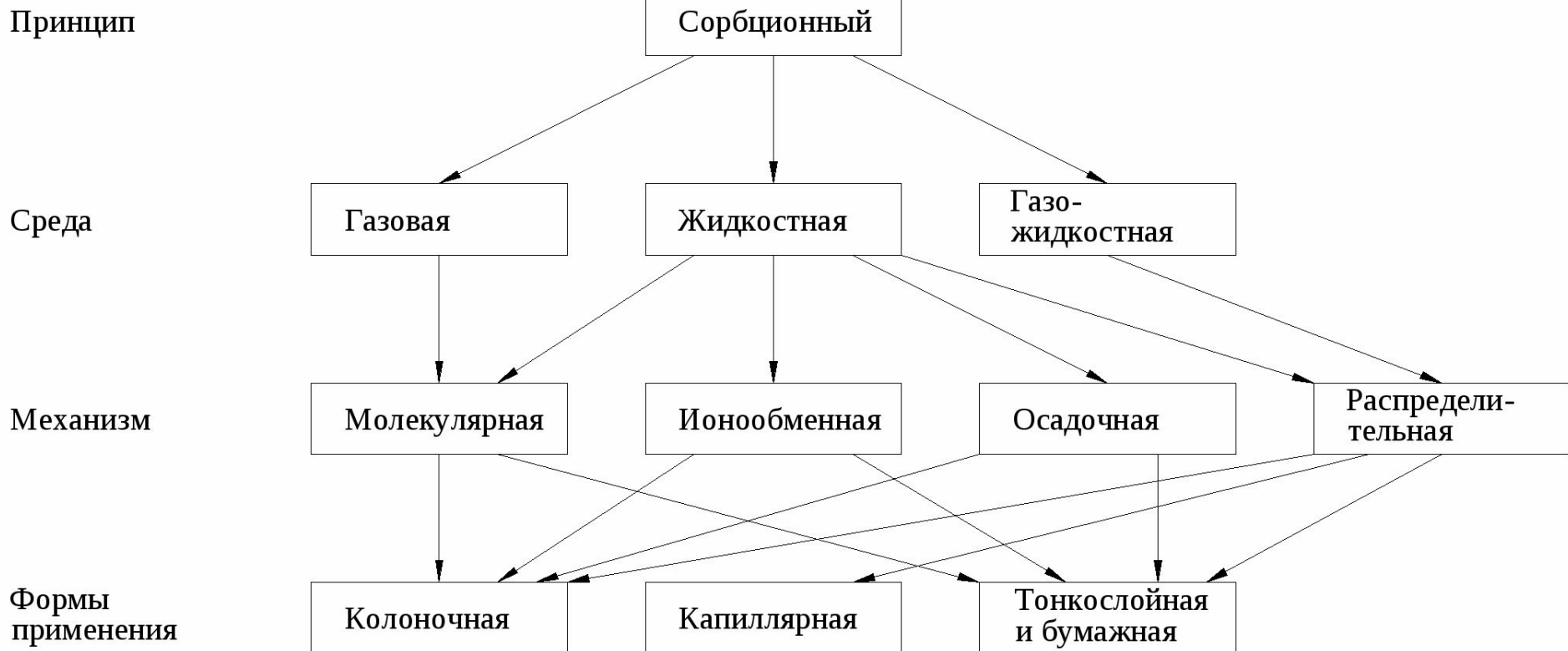
Механизм процесса разделения	Схема	Название варианта
По размеру молекул		Ситовая хроматография
За счет физической адсорбции или растворения		Молекулярная хроматография
За счет ионного обмена		Ионообменная хроматография
За счет водородной связи, химического сродства и др.		Хемосорбционная хроматография

а

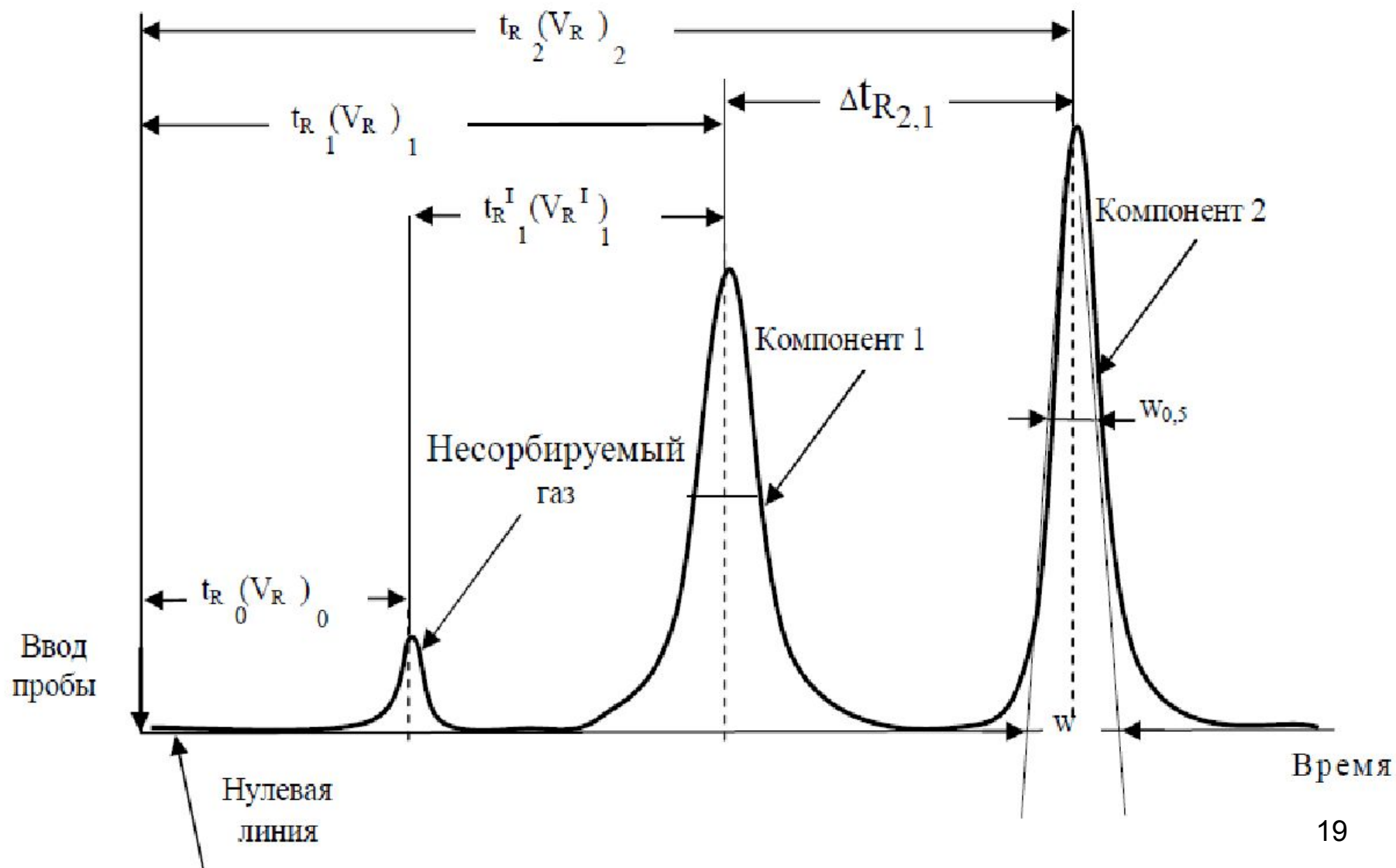
Характер процесса	Схема	Название варианта
В цилиндрическом слое сорбента		Колоночная хроматография
В слое сорбента на плоской поверхности		Планарная хроматография
В пленке жидкости или слое сорбента, размещенном на внутренней стенке трубки		Капиллярная хроматография
В полях электрических, магнитных, центробежных и других сил		Хроматография в полях сил

б

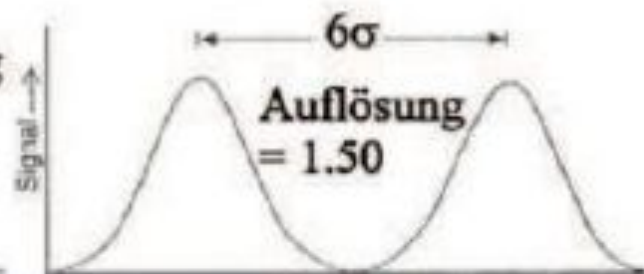
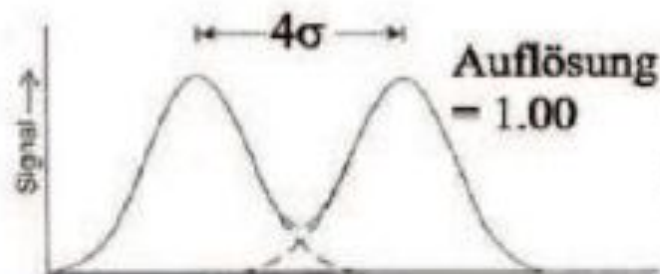
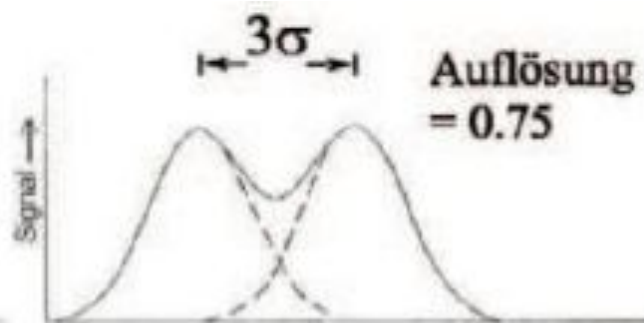
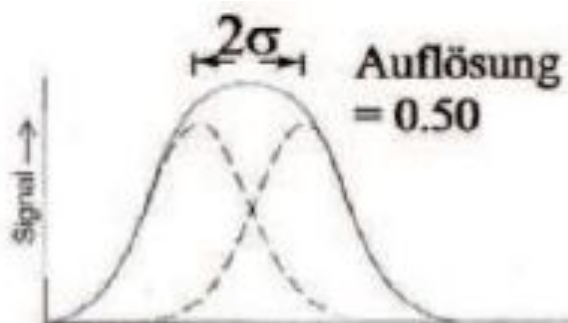
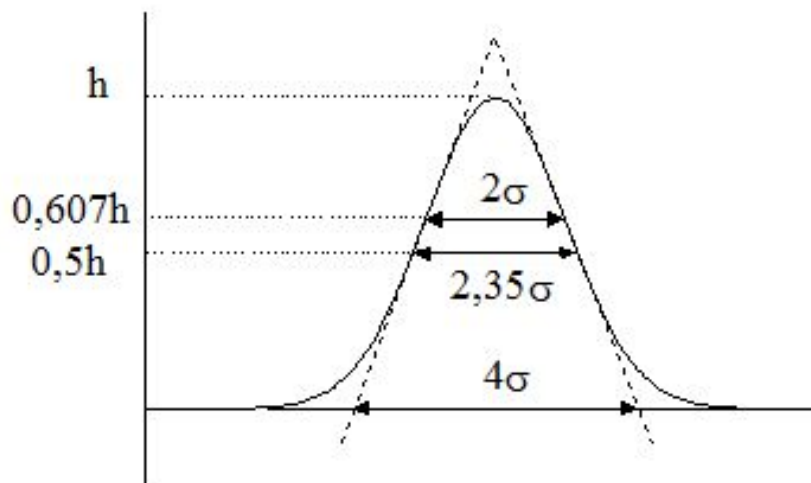
Классификация хроматографических методов (по К.В. Чмутову)



Хроматограмма



Хроматографический пик



Хроматографические параметры

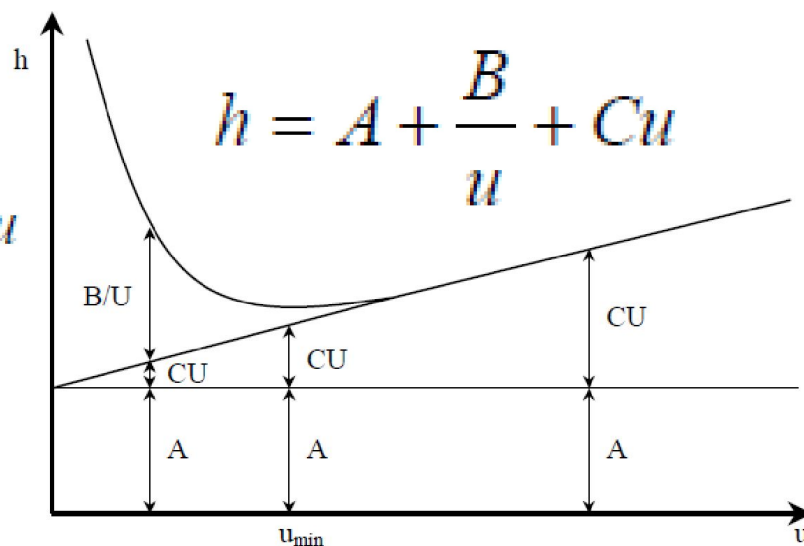
- **А. Параметры удерживания:**
- 1. Время удерживания (t_r), исправленное время удерживания (t_r'), время удерживания несорбируемого компонента (t_0), относительное время удерживания ($t_{\text{отн}} = t_{r1}/t_{r2}$).
- 2. Объем удерживания (V_R) $V_R = t_R \cdot F_{\text{об}}$
- исправленный (приведенный) объем удерживания (V_r'), относительный объем удерживания, удельный объем удерживания (V_g^T)
- 3. Коэффициент емкости $k' = (t_r - t_0)/t_0$
- 4. Коэффициент распределения K или D

$$D = C_s / C_0$$

Теории хроматографического разделения

- 1. Диффузионно-массообменная теория (Дж. ван Деемтер)
A – вихревая диффузия, B/u – диффузия в газовой фазе, Cu – диффузия в неподвижной фазе

$$h = 2\lambda d_p + \frac{2\gamma D_g}{u} + \frac{8}{\pi} \frac{k}{(1+k)^2} \frac{d_f^2}{D_l} u$$

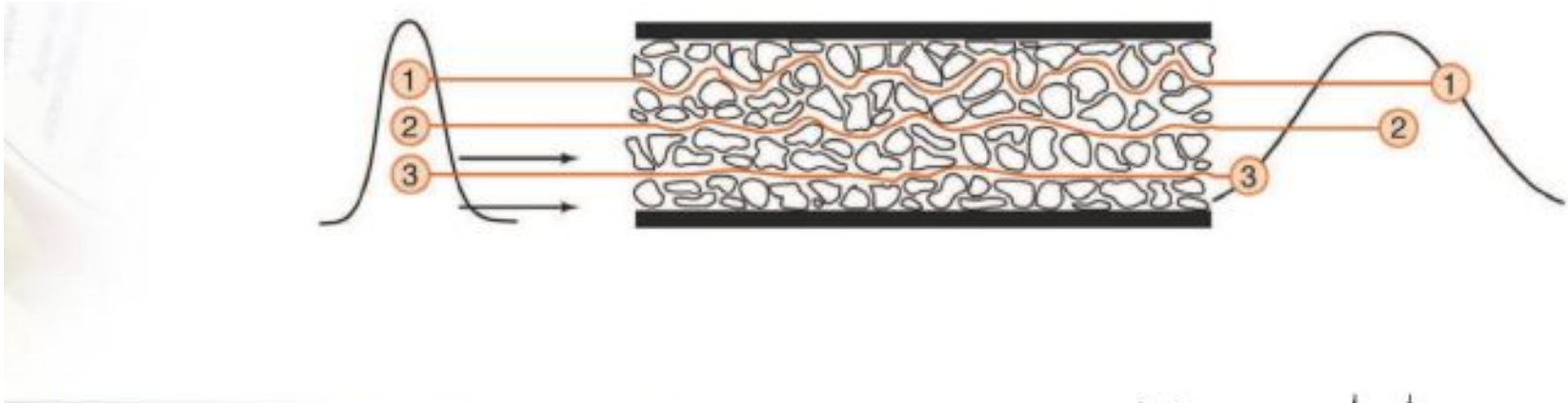


$$H = A + \frac{B}{u} + Cu$$

The equation is shown with a red circle around A , a blue circle around $\frac{B}{u}$, and a green circle around Cu . A green arrow points to the right.

- A – вихревая диффузия
- B – молекулярная диффузия
- C – сопротивление массопереносу

Коэффициент уравнения А (вихревая диффузия)

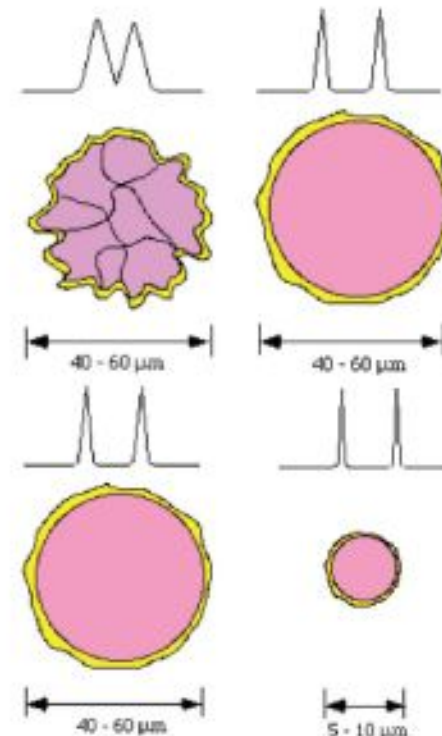


Двигаясь по сорбенту, молекулы
проходят разный путь

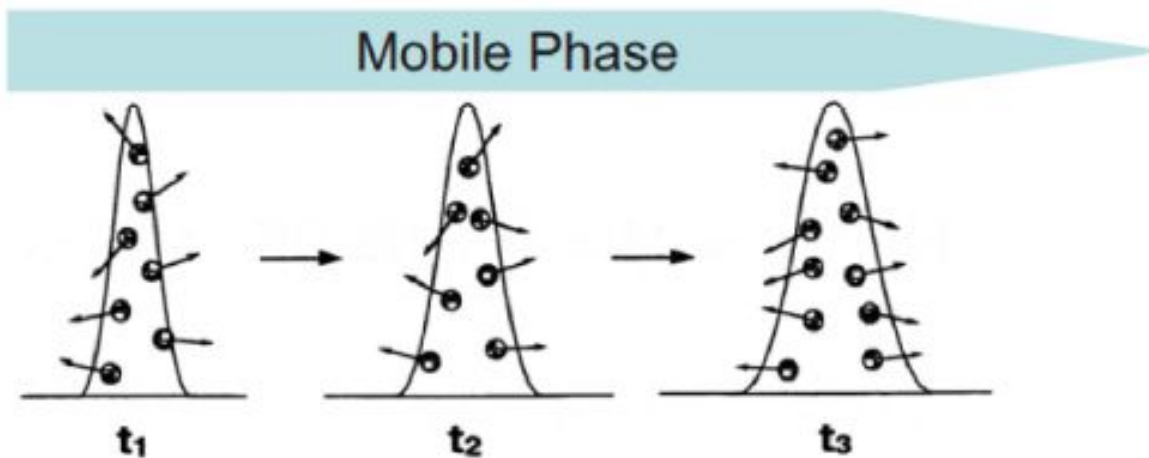
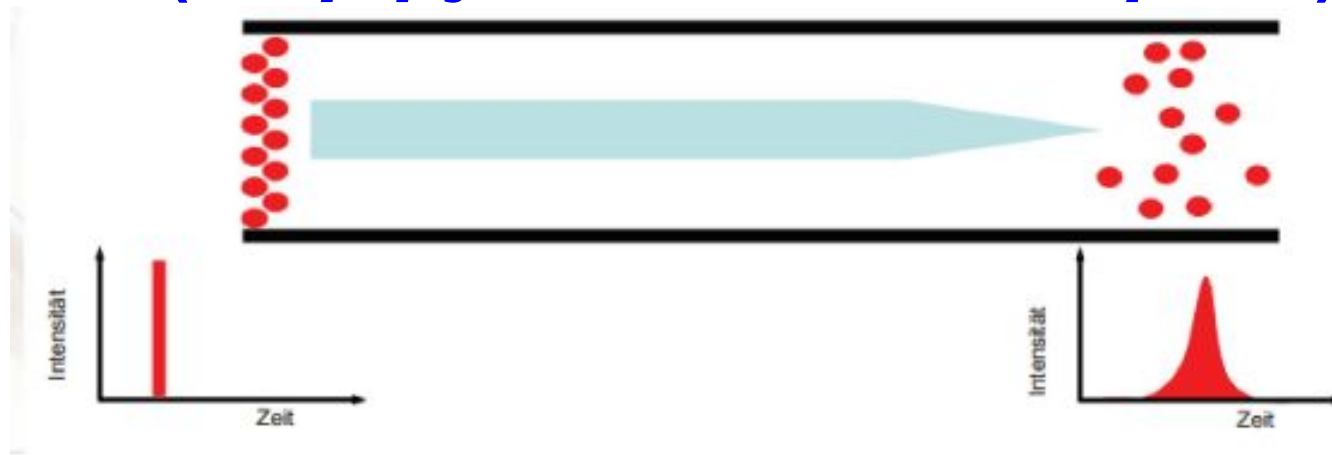


уширение пика

Лучше всего использовать мелкие частицы
сорбента сферической формы (проблема
– большое давление)



Коэффициент уравнения В (диффузия в газовой фазе)

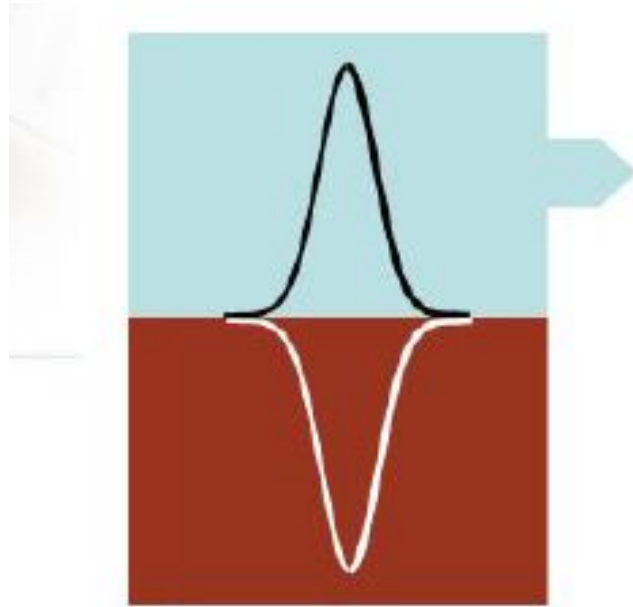


диффузия против градиента концентрации

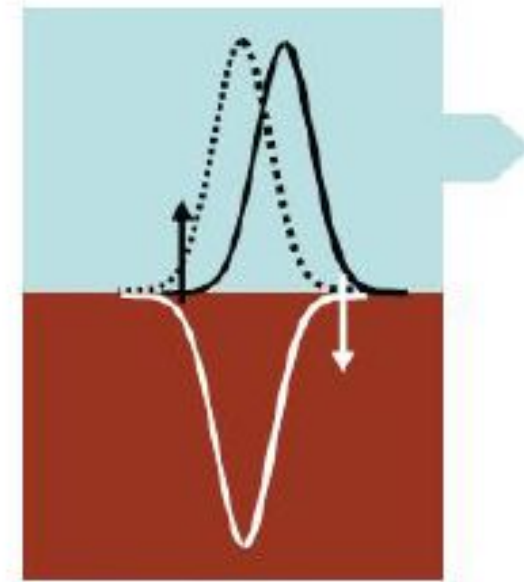
$$J = -D \frac{\partial C}{\partial x}$$

1-ый закон Фика

Коэффициент уравнения С (*диффузия в неподвижной фазе – сопротивление массопереносу*)

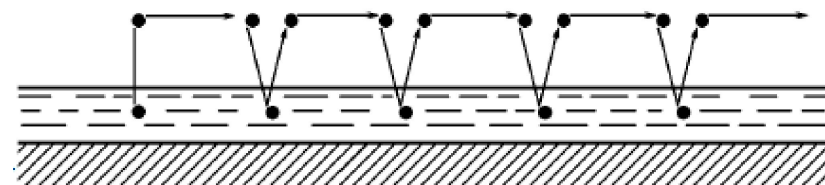
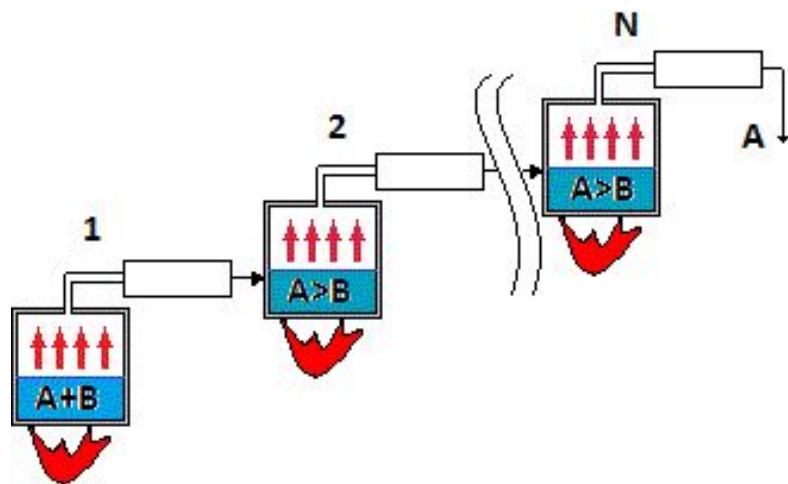


Massentransport
mit ∞ Geschwindigkeit



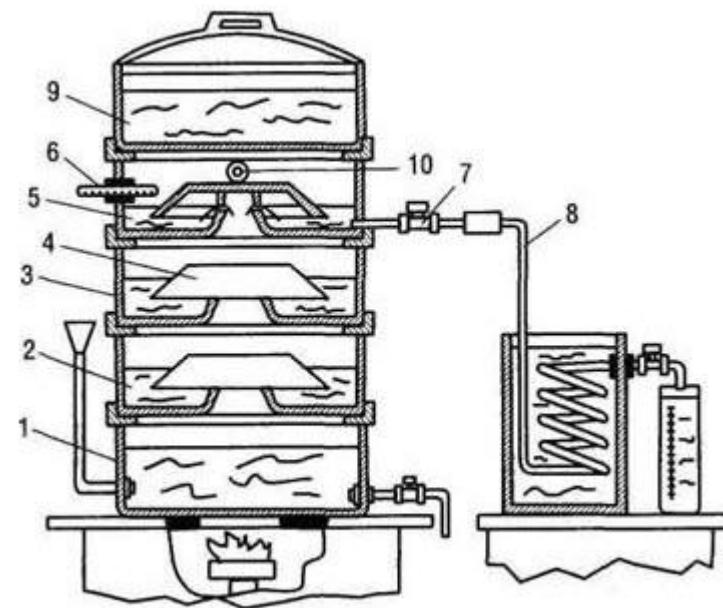
Verzögerter
Massentransport

2. Теория эквивалентных теоретических тарелок (А. Мартин)

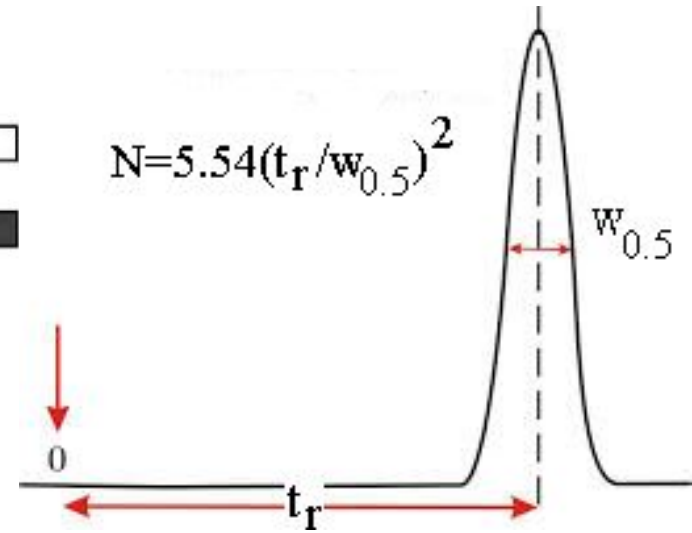
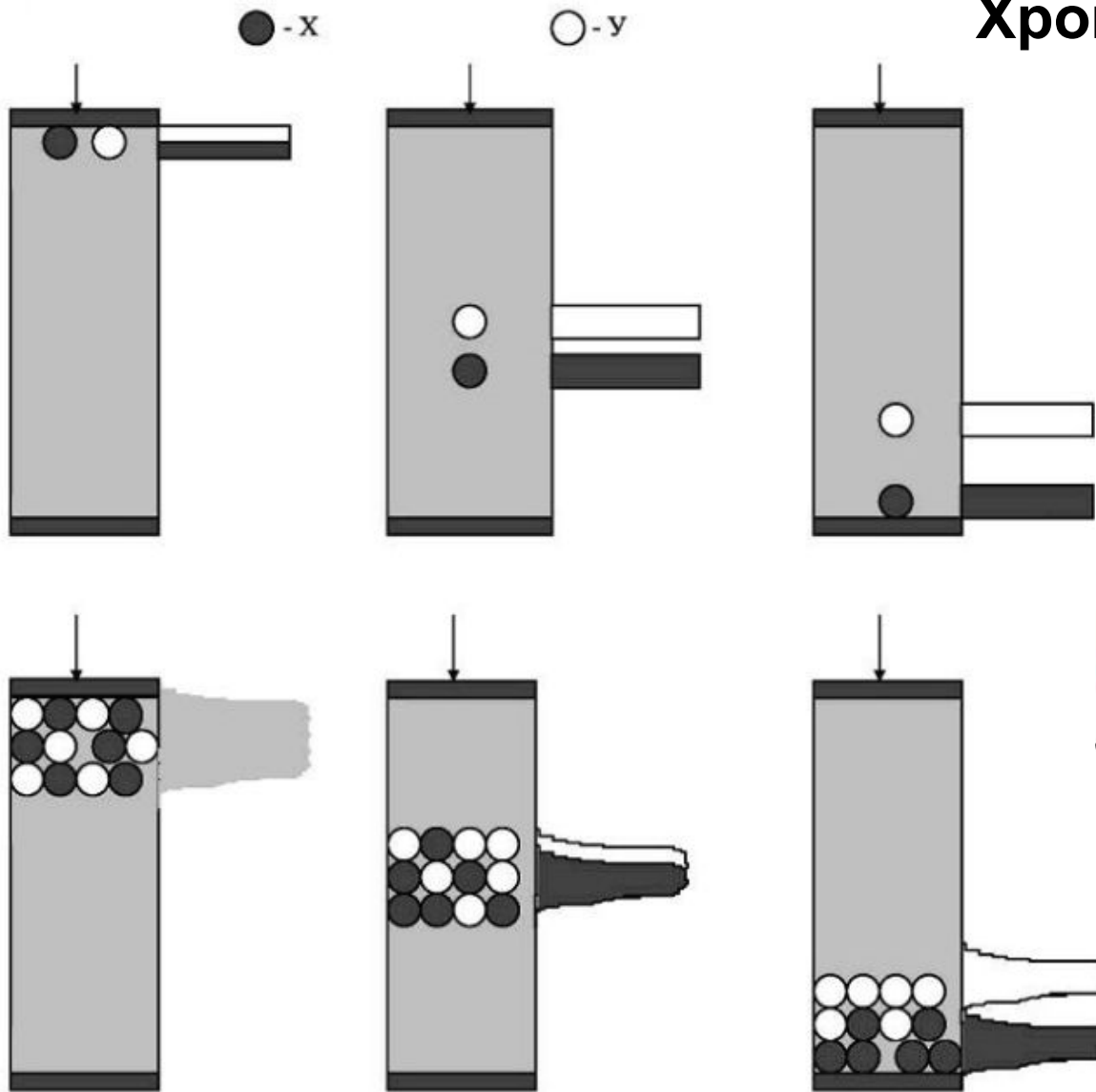


$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{w_{0,5}} \right)^2$$

$$H = \frac{L}{N}$$



Хроматографическое разделение



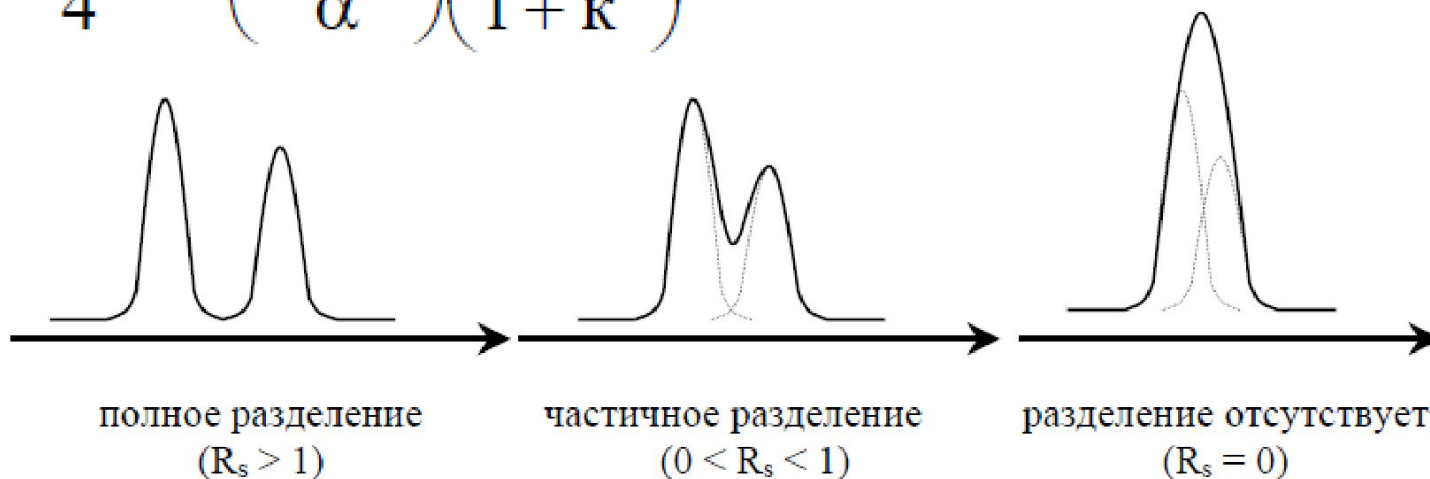
Хроматографические параметры

- **В. Параметры селективности:**
- 1. Коэффициент разделения (α)
- 2. Разрешение ($R_s = 2(t_{r2} - t_{r1})/(w_1 + w_2)$)

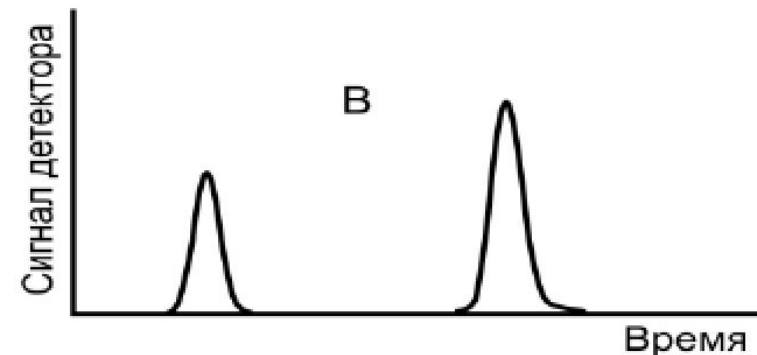
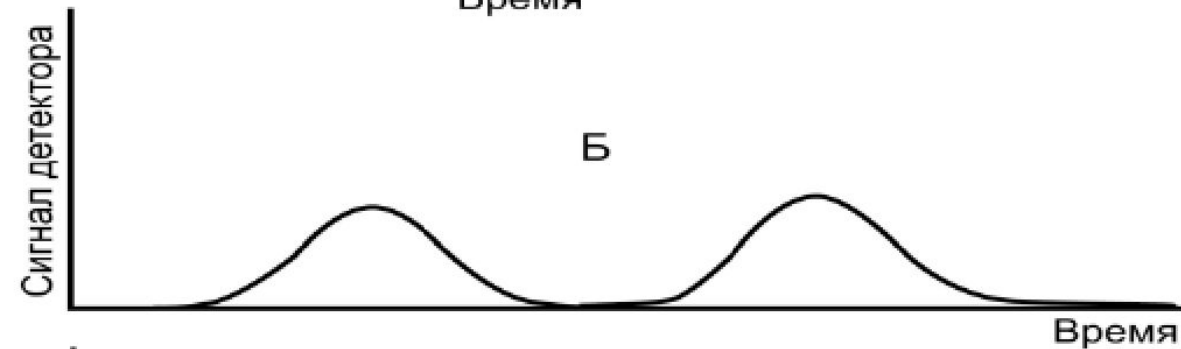
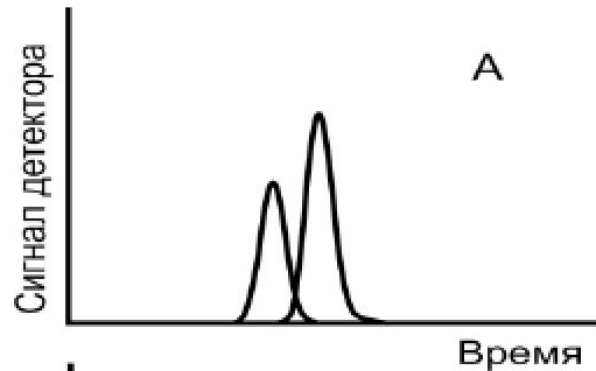
$$\alpha = t_{R'(2)} / t_{R'(1)} = k_1 / k_2 = D_2 / D_1$$

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{\kappa^I}{1 + \kappa^I} \right)$$

$$N = 16 R_s^2 \left(\frac{\kappa^I + 1}{\kappa^I} \right)^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2$$



Селективность и эффективность хроматографического разделения



А – низкая селективность, высокая эффективность

Б – высокая селективность, низкая эффективность

В – высокие селективность и эффективность разделения

Разрешение колонки

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{1}{2}(w_{b1} + w_{b2})}$$



насколько разделены пики

фактор удерживания

$$k = \frac{t_R}{t_m}$$



насколько сильно удерживается компонент неподвижной фазой

коэффициент селективности

$$\alpha = \frac{t_{R1}}{t_{R2}} = \frac{k_2}{k_1}$$

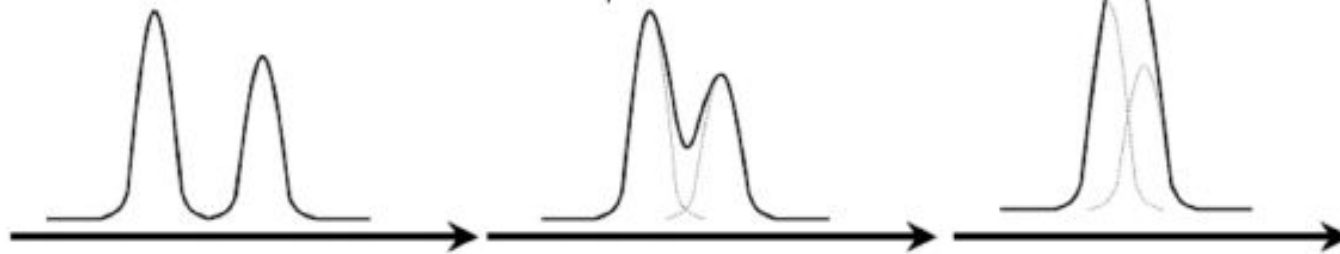


характеризует селективность колонки

$$R_s = \frac{1}{2} \sqrt{N} \frac{\alpha - 1}{\alpha} \frac{k_2}{1 + k_2}$$



чем выше k , α и N , тем лучше разрешены пики



полное разделение
($R_s > 1$)

частичное разделение
($0 < R_s < 1$)

разделение отсутствует
($R_s = 0$)

Газовая хроматография

- Метод разделения, в котором подвижной фазой является газ-носитель, а неподвижной – твердая фаза либо жидкость, нанесенная на твердый носитель или стенки капилляра.
- **1. Газо-твёрдофазная** (газо-адсорбционная)
- **2. Газо-жидко-твёрдофазная** (газо-жидкостная на насадочных колонках)
- **3. Газо-жидкостная**
- *Различают изотермическую ГХ и ГХ с программированием температуры*

Газовая хроматография

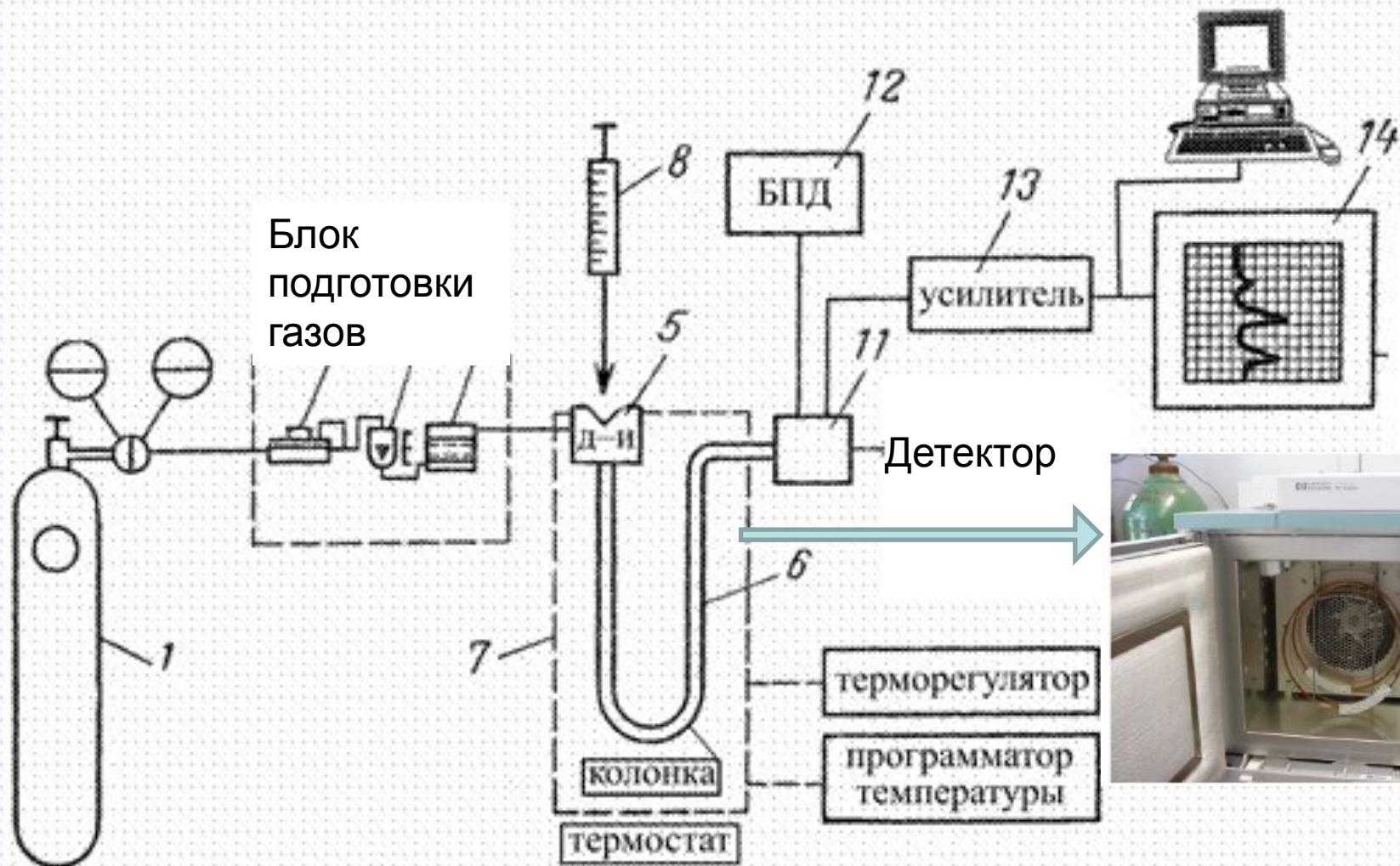
- **Достоинства:**

- 1. Высокая эффективность
- 2. Высокая чувствительность (при использовании МС-детекции – до 10^{-14} г).
- 3. Экспрессность
- 4. Малый объем образца
- 5. Высокая точность анализа
- 6. Доступность оборудования
- 7. Основной метод анализа летучих веществ

- **Недостатки:**

- 1. Сложность анализа нелетучих (в т.ч. ионов) и термолабильных веществ
- 2. Сложность оборудования

Принципиальная схема газового хроматографа





Подвижная фаза (газ-носитель)

N_2

Газ-носитель	Характеристика свойств
азот	<i>преимущества</i> - высокая вязкость, обуславливающая низкие коэффициенты диффузии веществ в газовой фазе и, как следствие, малое размывание пиков; простота очистки; низкая стоимость; безопасность в работе
	<i>недостатки</i> - низкая теплопроводность, близкая к легким углеводородам, обуславливающая низкую чувствительность детектора по теплопроводности и необходимость использования более дорогостоящих детекторов (пламенно-ионизационного и электроно-захватного)
водород	<i>преимущества</i> - высокая теплопроводность (обеспечивает высокую чувствительность детектора по теплопроводности); легко получается в чистом виде электролизом
	<i>недостатки</i> - низкая вязкость, и как следствие значительная диффузия, и размывание зон разделяемых веществ; взрывоопасность при утечке
гелий	<i>преимущества</i> - теплопроводность близкая к водороду; безопасность в работе
	<i>недостатки</i> - высокая стоимость, обусловленная трудностями получения и очистки
аргон	<i>преимущества</i> - доступный, не очень дорогой; используется для обеспечения работы ионизационных детекторов
	<i>недостатки</i> - низкая теплопроводность

H_2

He

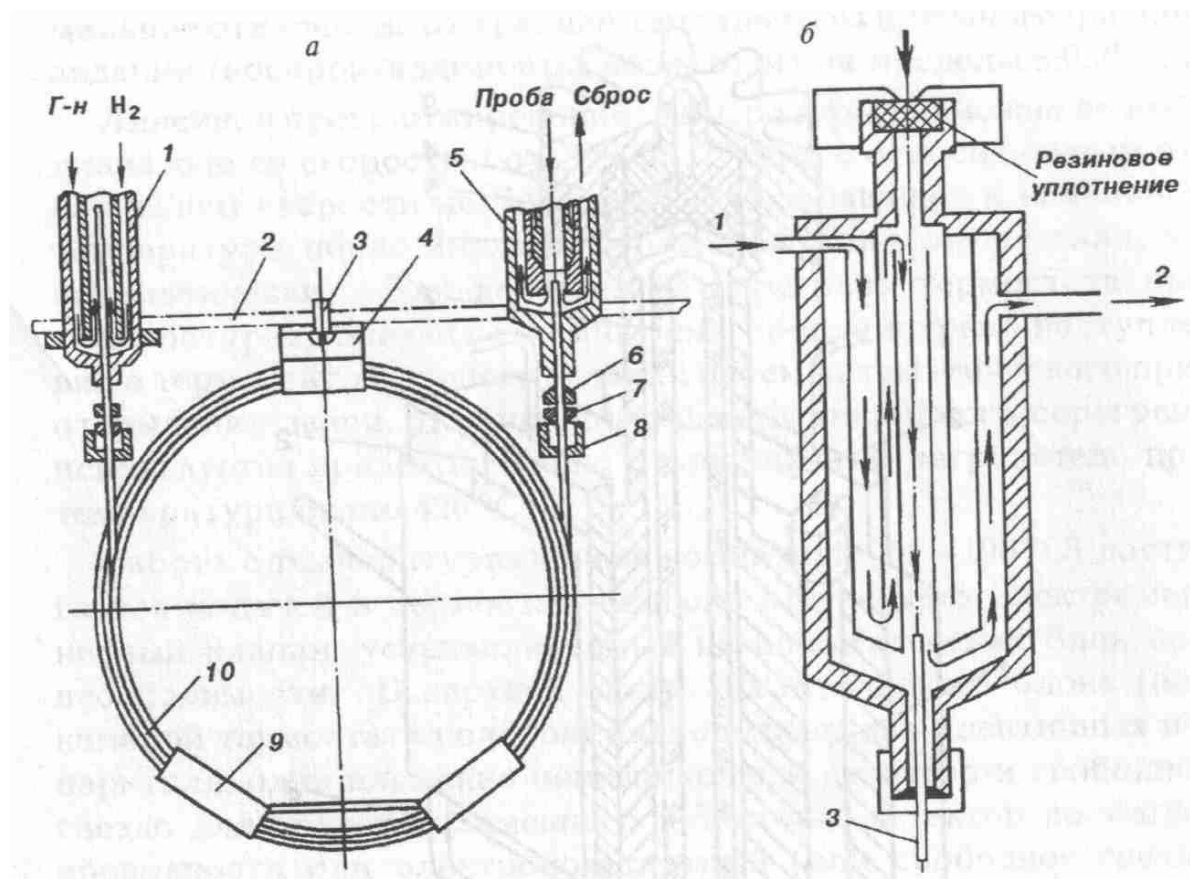
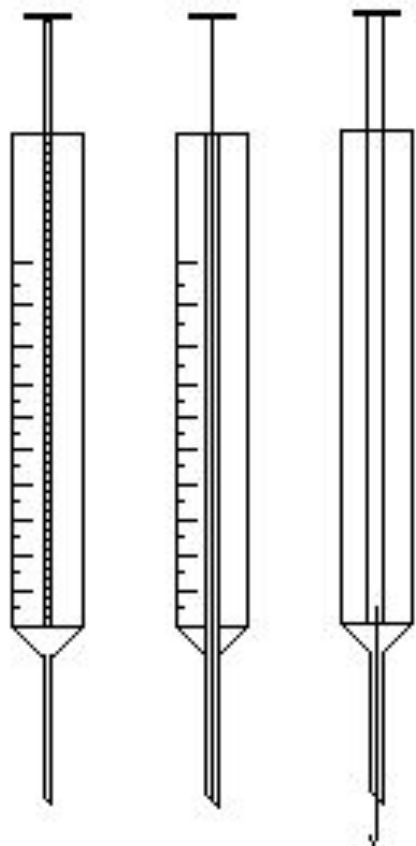
Ar

- газ-носитель должен обеспечить максимально высокую чувствительность детектора;
- газ-носитель должен характеризоваться химической инертностью;
- газ-носитель должен иметь достаточно высокую степень чистоты (99,9 - 99,99 % основного компонента);
- газ-носитель должен обеспечивать эффективность разделения (мин. размывание пиков);
- газ-носитель должен быть взрывобезопасен;
- газ-носитель должен быть достаточно недорогим

Газ-носитель

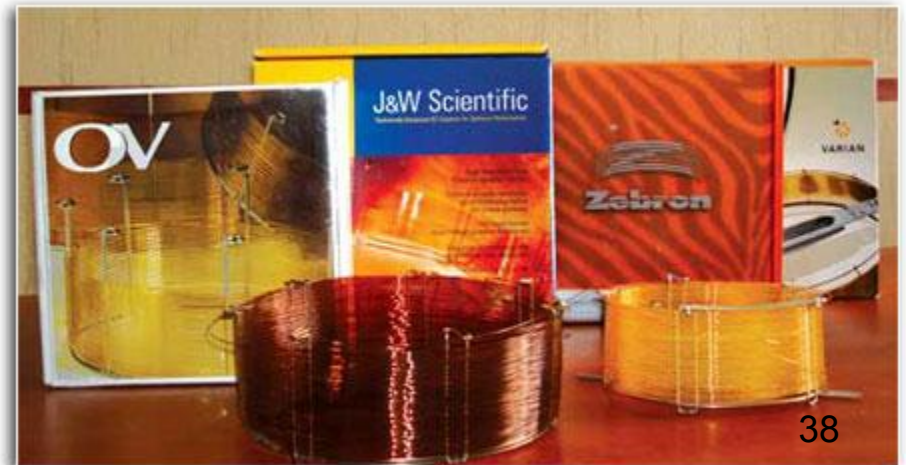
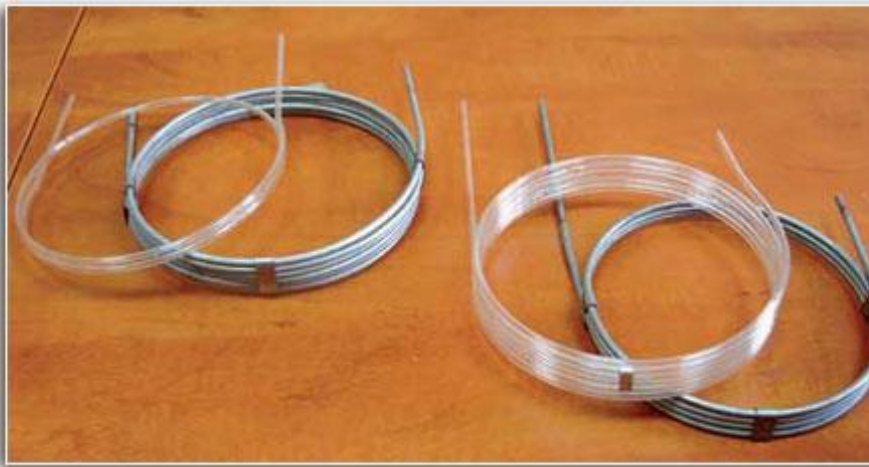


Ввод пробы

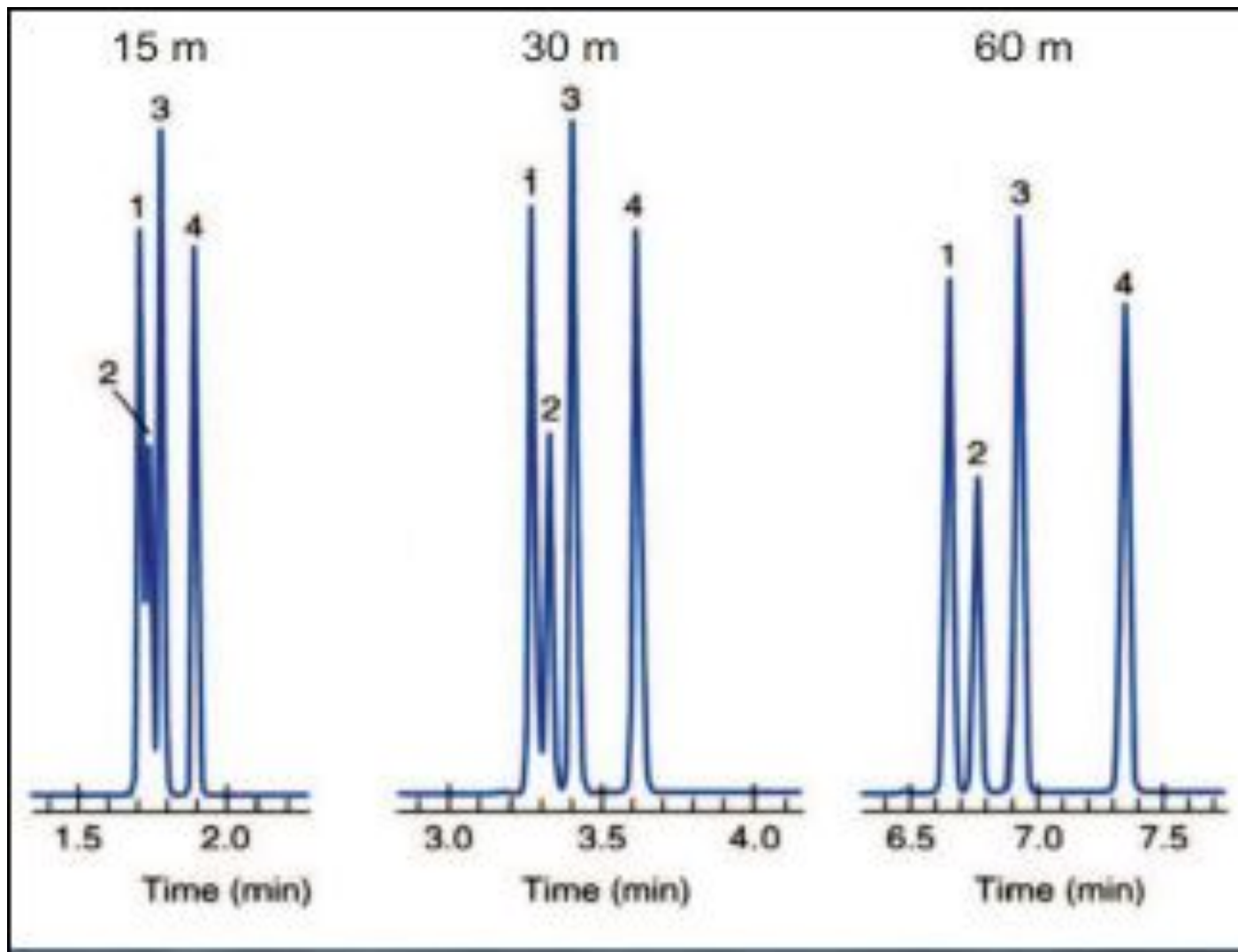


Неподвижная фаза

- 1. **Хроматографические колонки (аналитические):**
- - насадочные (\varnothing 2-5 мм, $l = 0,5-5$ м) – заполнены сорбентом или сорбентом с нанесенной НЖФ (размер частиц сорбента 0,1-0,5 мм)
- - микронасадочные (\varnothing 1-2 мм, $l = 0,5-5$ м)
- - капиллярные (макро \varnothing 0,2-0,5 мм, $l = 10-100$ м и микро \varnothing 0,1-0,25 мм, $l = 10-60$ м)



Как влияет длина капиллярной колонки



Неподвижная фаза

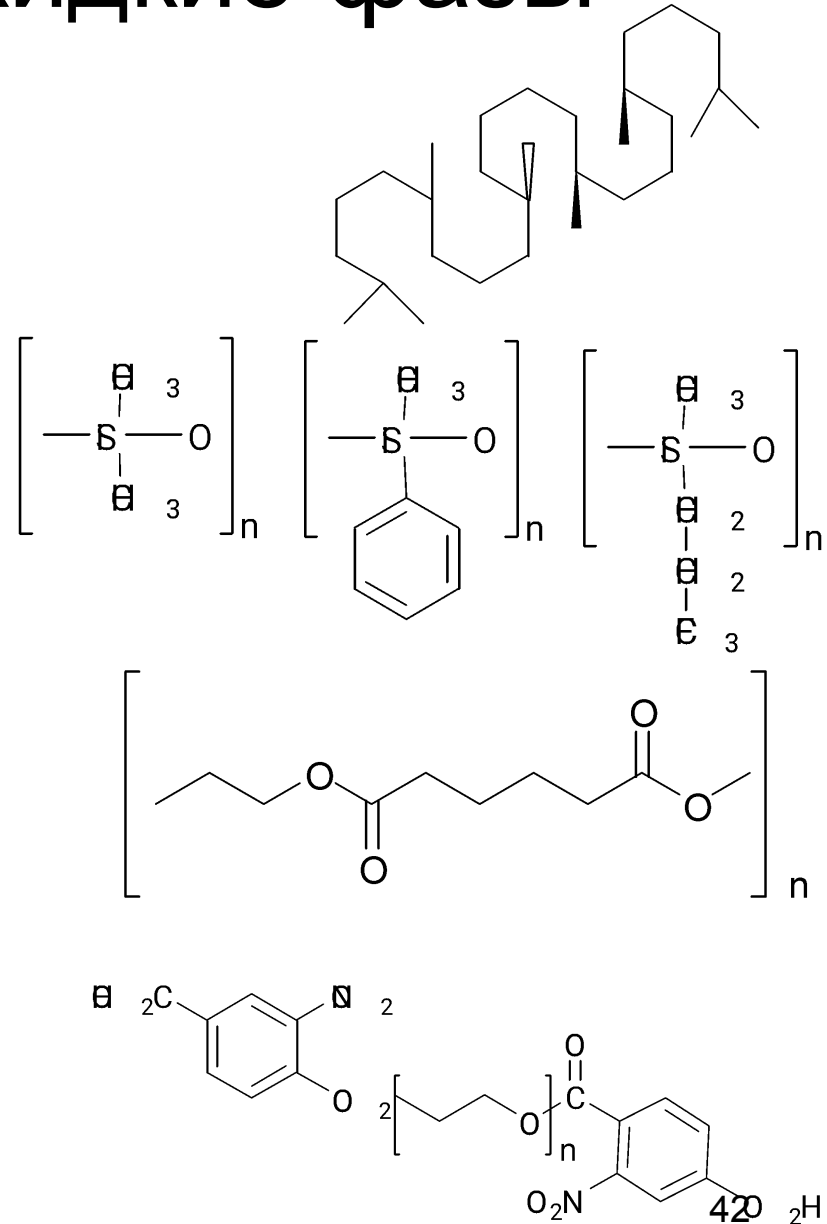
- 2. Химическая природа адсорбента или жидкой фазы:
- 2.1. Адсорбенты – пористые или непористые твердые материалы, классифицируются по способности к взаимодействиям с сорбатом: неспецифические (графит, насыщенные углеводороды), специфические (с (+)-зарядом и/или электроно-акцепторными центрами) и специфические (с (-) зарядом). По химической природе – неорганические - углеродные адсорбенты (графитированная термическая сажа, углеродные молекулярные сита), кремнеземы (силикагели, цеолиты) и органические – полимерные адсорбенты (сополимеры стирола и ДВБ, стирола и МА и т.д.)

Неподвижная фаза

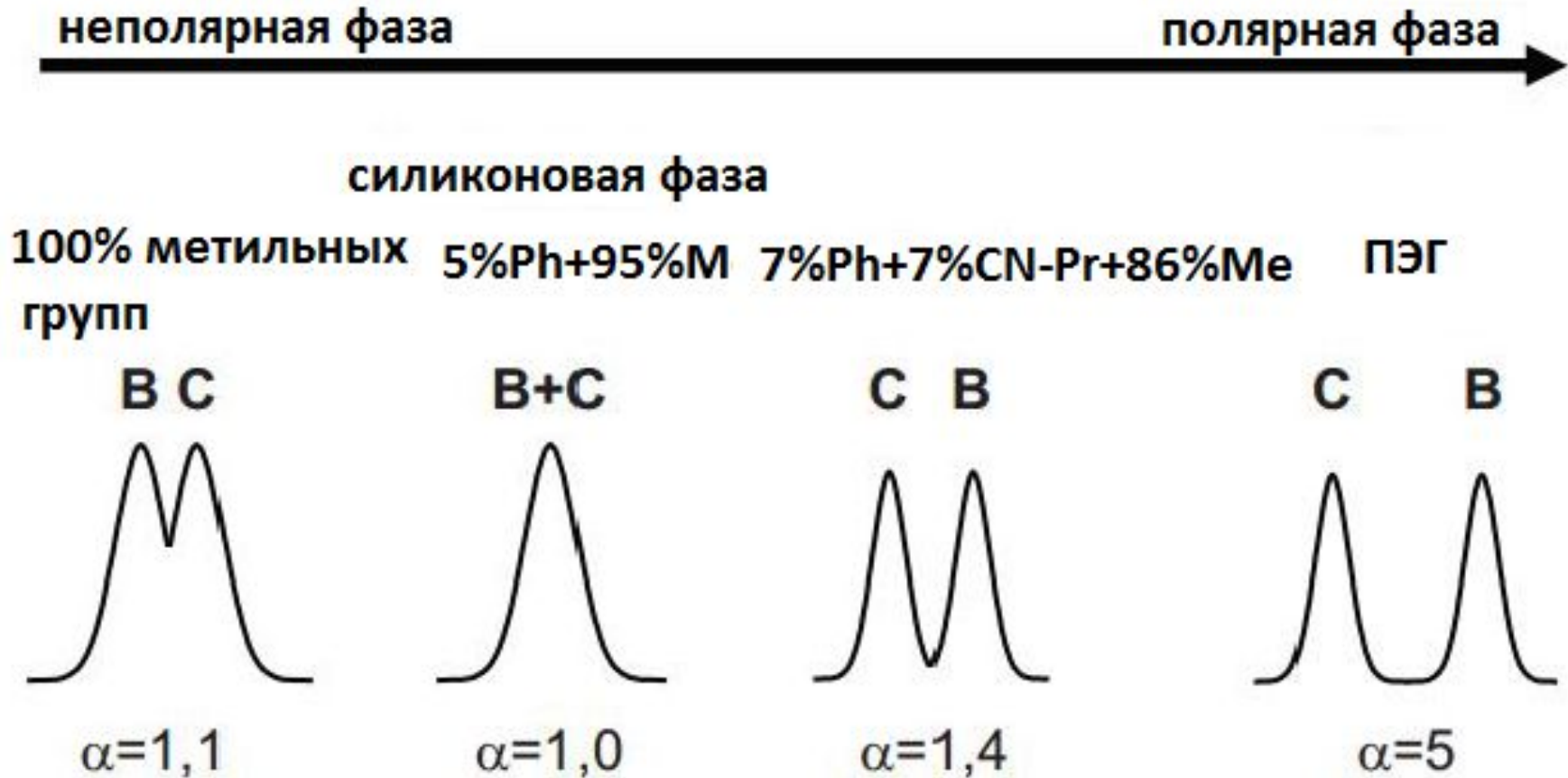
- 2.2. Носители для неподвижной жидкой фазы – наносятся на твердый носитель – диатомиты и др. (инертный материал с невысокой удельной поверхностью, дополнительно инактивированный обработкой кислотами для удаления ионов металлов (AW) и «защищенными» силанольными группами – DMCS, HMDS).
- 2.3. Неподвижные жидкие фазы – классифицируются по полярности (неполярные, малополярные, среднеполярные, полярные) и по химической природе - алифатические углеводороды (скалан, парафиновое масло), ароматические у/в (полифениловый эфир), силиконы (метил, метил-фенил, метил-фенил-трифторпропил-, метил-фенил-цианопропил- и др.), полигликоли (ПЭГ - макроголы), сложные эфиры.

Неподвижные жидкие фазы

- К НЖФ предъявляются следующие требования:
- - не должна улетучиваться при рабочей температуре колонки;
- - должна быть химически инертной;
- - должна иметь хорошую разделительную способность;
- - должна прочно связываться с твердым носителем или стенкой капилляра и при нанесении образовывать равномерную пленку;
- - стабильность (термическая, химическая).



Пример – разделение бензола (В) и циклогексана (С) на фазах с различной полярностью



Газовая хроматография

Хроматографические характеристики для качественного анализа: основные из них - время удерживания несорбируемого компонента (t_0 , сек); время удерживания вещества (t_r , сек); исправленное время удерживания ($t'_r = t_r - t_0$, сек); объем удерживания ($V_r = t_r \cdot F$, где F - объемная скорость газа-носителя (см³/мин)), исправленный объем удерживания ($V'_r = F \cdot t'_r$); а также эффективный объем удерживания (V_N , см³), равный произведению исправленного объема удерживания на коэффициент, характеризующий изменение давления по ходу хроматографической колонки, удельный объем удерживания - отношение эффективного объема удерживания к массе НЖФ (V_g , см³/г), а также коэффициент распределения

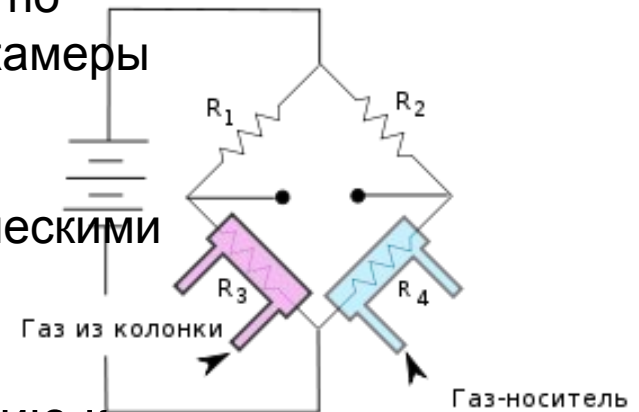
$$K: K = \frac{V_g \cdot \rho_T \cdot T_c}{273,15} \parallel$$

Детекторы в ГХ

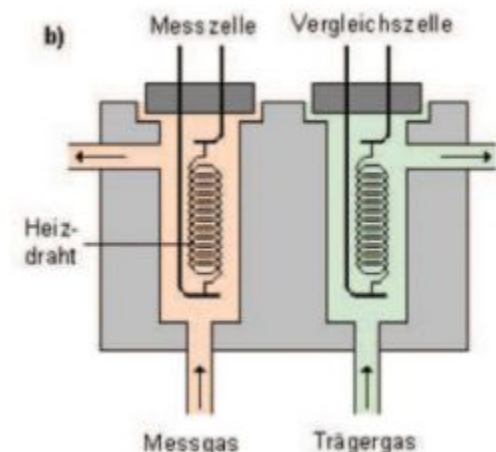
- Детектор - это устройство, предназначенное для обнаружения в потоке газа-носителя анализируемых веществ по какому-либо физико-химическому свойству. Отклик осуществляется за счет преобразования свойств в электрический сигнал.
- Характеристики детекторов:
 - **1. Чувствительность**
 - **2. Селективность**
 - **3. Линейный диапазон**
- **Требования:**
 - детектор должен обладать высокой чувствительностью – регистрировать даже малые изменения физико-химических свойств подвижной фазы;
 - • величина сигнала детектора должна изменяться пропорционально изменению концентрации определяемого компонента в подвижной фазе;
 - • детектор должен регистрировать определяемые компоненты по возможности мгновенно (иметь достаточное быстродействие);
 - • рабочий объем детектора должен быть, по возможности, наименьшим, чтобы исключить дополнительное размывание пиков в детекторе;
 - • желательно, чтобы показания детектора отражали изменения физико-химических свойств подвижной фазы только от ее состава
- Детекторы делятся на потоковые и концентрационные, а также на универсальные и селективные.

Типы детекторов

- 1. Универсальные:
- **Детектор по теплопроводности (катарометр):**
- Катарометр представляет собой сплошной металлический блок, внутри которого высверлены две одинаковые по конфигурации и объему камеры. В центре каждой камеры помещаются чувствительные элементы детектора, выполненные в виде проволочных или спиральных сопротивлений с абсолютно одинаковыми электрическими характеристиками.
- Основные характеристики детектора по теплопроводности, определенные по отношению к пропану следующие:



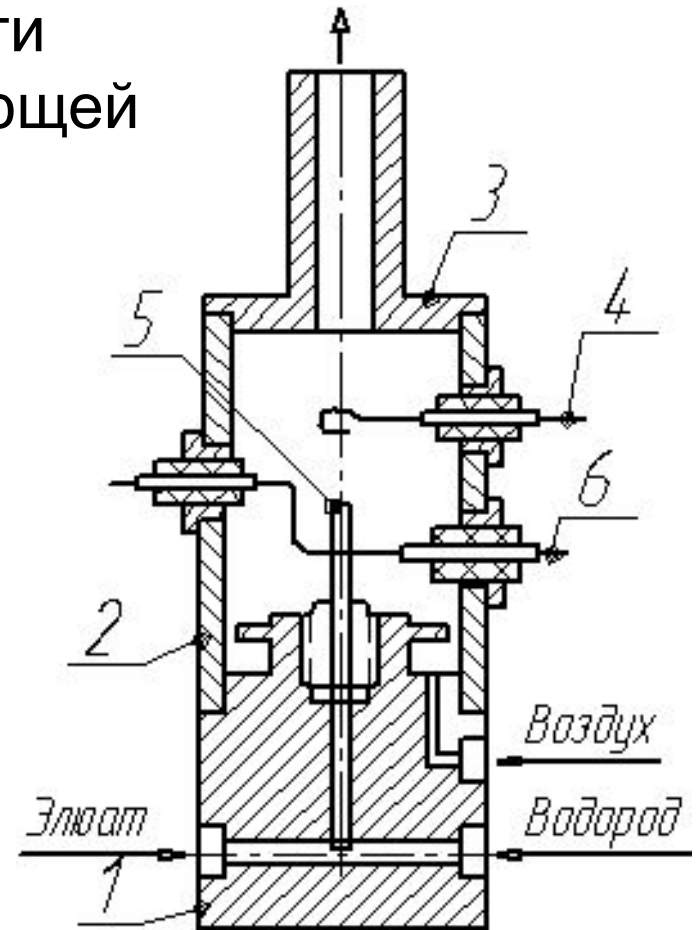
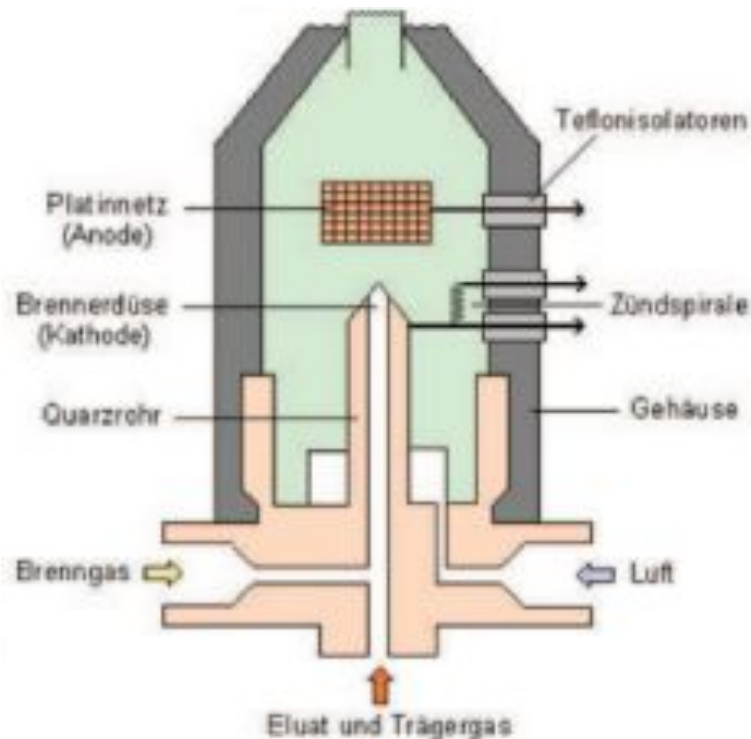
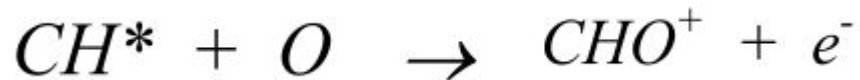
- • коэффициент чувствительности – $2 \cdot 10^8$;
- • минимальная определяемая масса – $7 \cdot 10^{-6}$ г;
- • мин. определяемая концентрация – 1.5 об. %;
- • линейный диапазон детектирования 10^5 .



Типы детекторов

- Детектор ионизационно-пламенный (ДИП):

В окислительной зоне пламени эти радикалы реагируют по следующей схеме:



Детектор ионизационно-пламенный

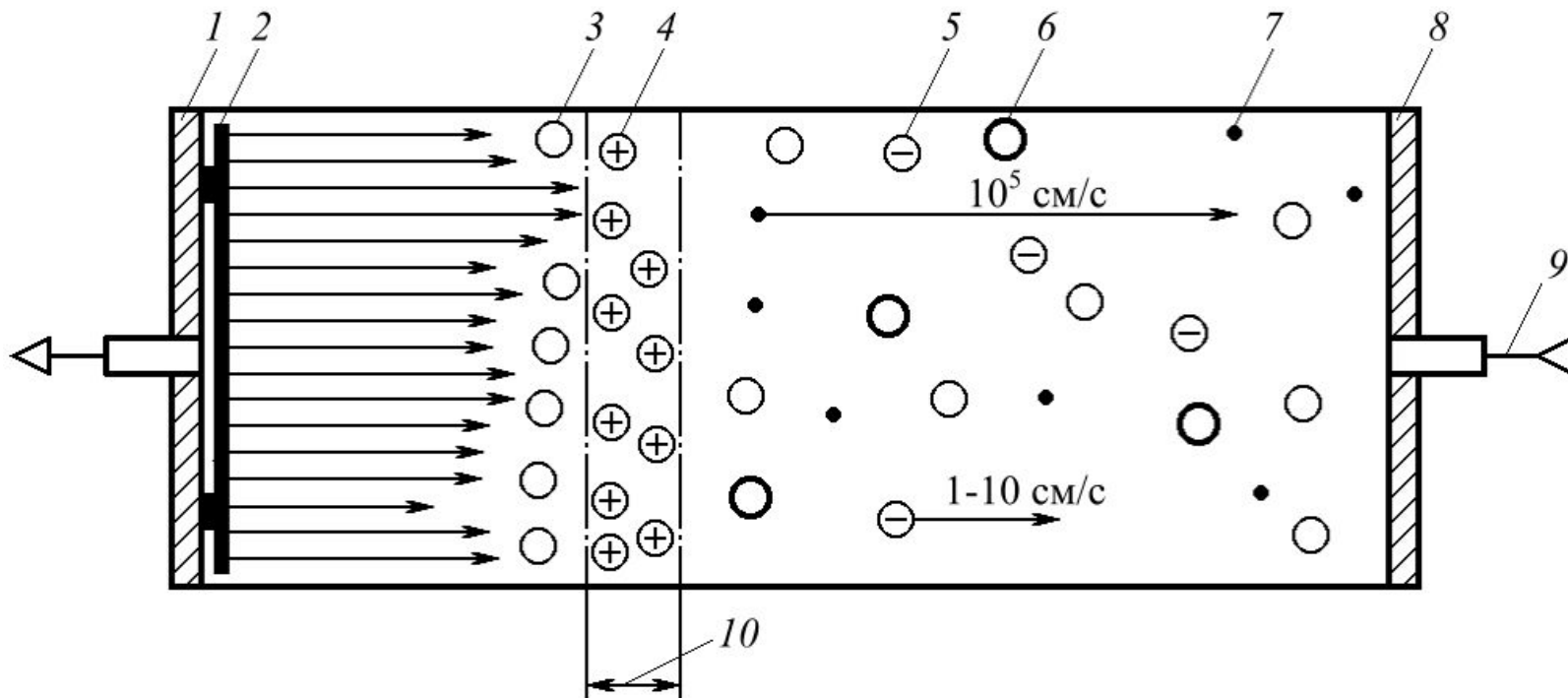
- Преимущества:
 - чувствительность на уровне 10^{-8} % при обнаружении углеводородов;
 - линейный диапазон детектирования 10^7 ;
 - высокое быстродействие;
 - небольшой объем рабочей камеры;
 - диапазон рабочих температур до 400 °С;
 - возможность использования дешевого газа-носителя (азот);
 - сравнительно низкая стоимость детектора.
- Недостатки:
 - нечувствительность к ряду соединений;
 - деструктивность (разрушает пробу);
 - взрывоопасность (водород);
 - необходимость в электрометрическом усилителе;
 - нелетучие продукты сгорания (например, SiO_2) могут откладываться на электродах,
 - нарушая стабильность работы.

Типы детекторов

- 2. Селективные:

- **Детектор электронного захвата:**

- 1 – катод; 2 – радиоактивный источник; 3 – молекулы газа-носителя;
- 4 – положительные молекулярные ионы газа-носителя; 5 – отрицательные молекулярные ионы определяемых соединений; 6 – определяемые молекулы;
- 7 – свободные электроны; 8 – анод; 9 – подача газа-носителя;
- 10 – зона ионизации молекул газа-носителя



Типы детекторов

- **Детектор электронного захвата:**

Величины относительных коэффициентов захвата электронов

Класс соединений	$K_{эз}$	Примеры
алканы, алкены, алкины, алифатические эфиры и диены	0.01	гексан, бензол, бензиловый спирт
высокомолекулярные ароматические соединения	0.1	нафталин
алифатические спирты, кетоны, альдегиды, амины, монофтор-, монохлорпроизводные	1.0	амиловый спирт метилэтилкетон
енолы, монобром-, дихлор- и гексафторпроизводные	10.0	ацетофенон
трихлорпроизводные, ангидриды, алкилсвинец	300	бензальдегид, тетраэтилсвинец
фунгициды, пестициды	1000	линдан
1.2-дикетоны, нитросоединения и органические соединения ртути	10000	динитробензол

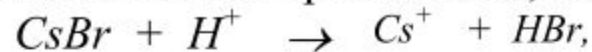
Типы детекторов

- **Детектор электронного захвата:**
- Линейный диапазон детектирования детектора электронного захвата 10^2 – 10^4 , предел обнаружения по линдану – 10^{-14} г/с.
- Детектор электронного захвата – потоковый детектор.
- Основная область применения – определение остаточных количеств пестицидов, анализ токсичных веществ, допинг-контроль и др.

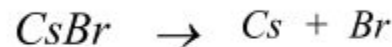
Типы детекторов

• Детектор термоионный:

механизм состоит в том, что соли щелочных металлов (например, $CsBr$) термически испаряются в водородном пламени и таким образом в газовой фазе объема детектора устанавливается равновесие, например,



которое с увеличением температуры сдвигается в сторону увеличения диссоциации соли

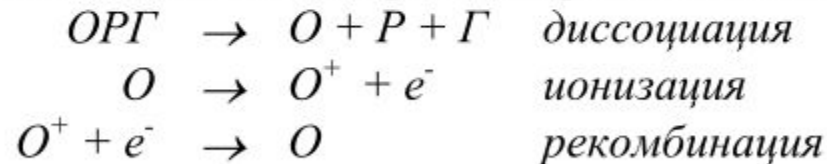


и протекания процесса ионизации



что приводит к возникновению большого по величине тока ионизации.

Одновременно в пламени протекают процессы диссоциации и ионизации разделяемых органических соединений, а также реакции рекомбинации:



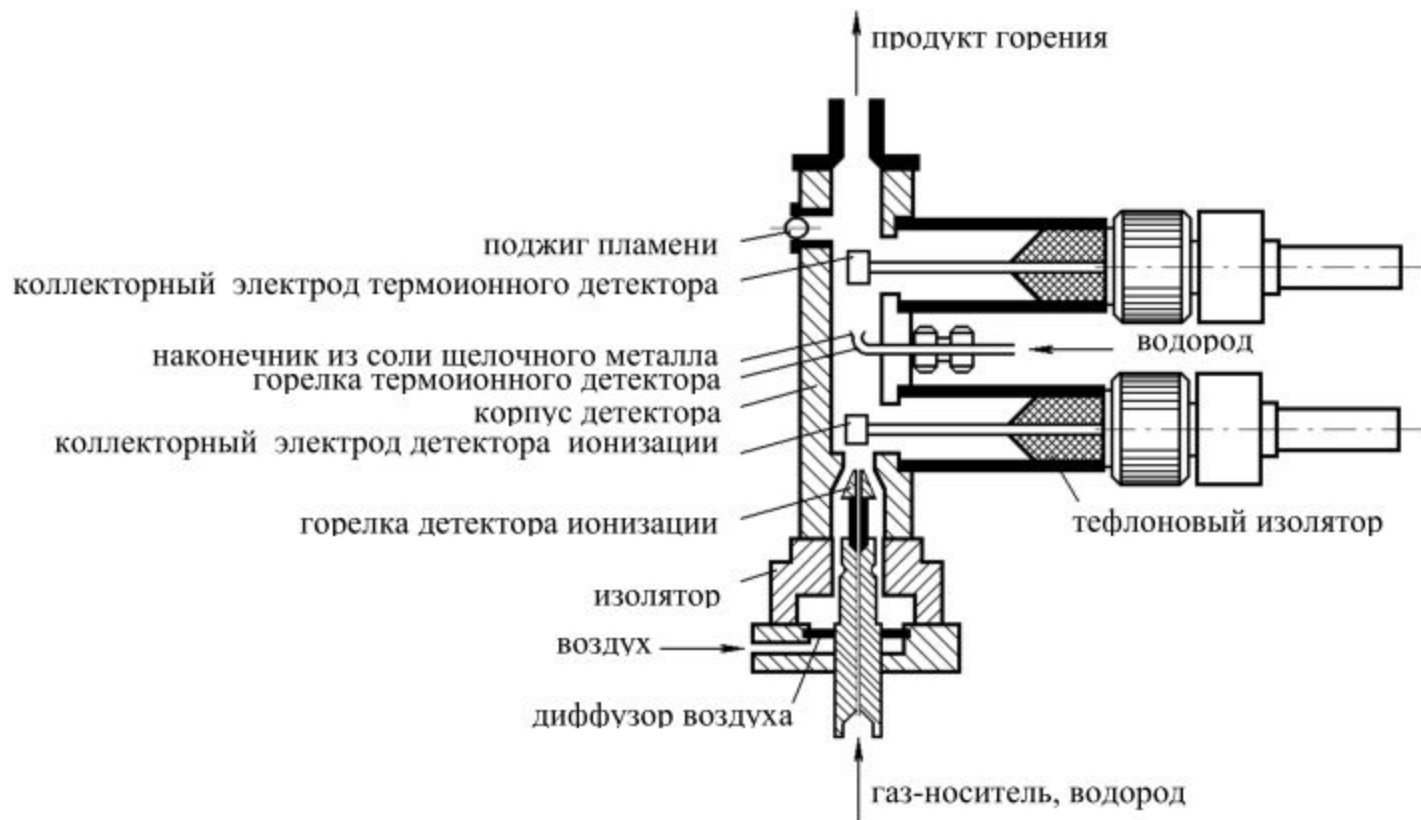
Для фосфорсодержащих групп процесс ионизации



требует достаточно малых затрат энергии и приводит к созданию высокой концентрации ионов P^+ в потоке газа-носителя.

Типы детекторов

- Детектор термоионный (термоаэрозольный)



Типы детекторов

- Детектор термоионный

- Минимально детектируемое количество при анализе фосфорсодержащих соединений составляет $5 \cdot 10^{-14}$ г/с, а при анализе азотсодержащих – $5 \cdot 10^{-13}$ г/с.
- Уровень шума при этом составляет около $1,5 \cdot 10^{-13}$ А.
- Линейный диапазон детектирования 10^3 .

Основная область применения – определение фосфор- и азотсодержащих соединений

Сочетание ГХ и масс-спектрометрии (схема)

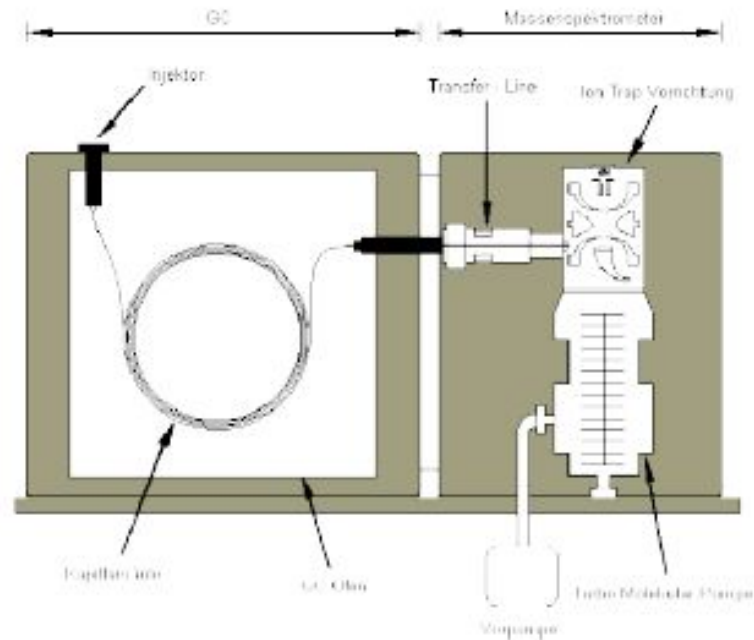
хроматографическое разделение



ионизация



масс-спектрометрия



Сверхкритичная флюидная хроматография

Подвижная фаза:

вещества в сверхкритическом состоянии

Неподвижная фаза:

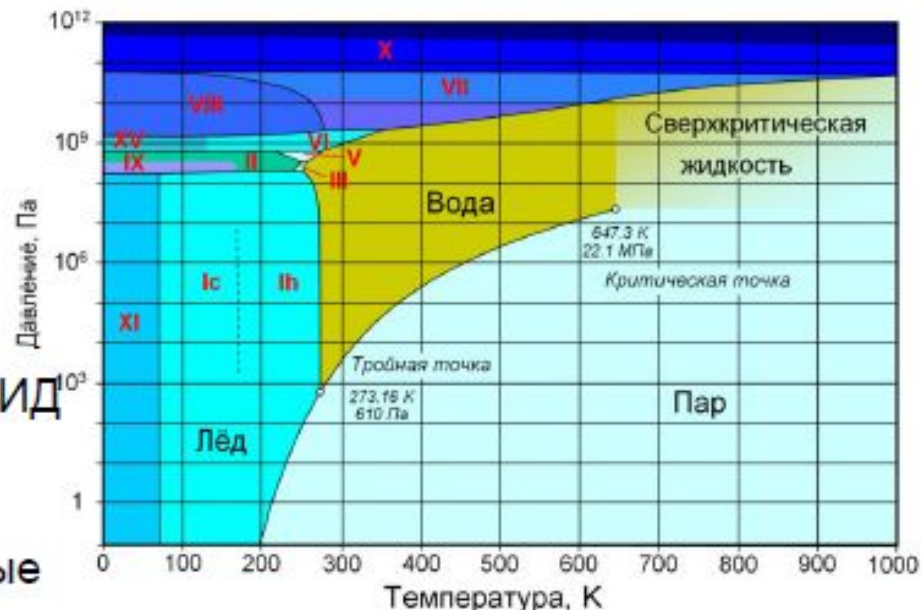
• твердая (кieselгель, полисилоксан)

Преимущества:

- низкая вязкость
- высокая плотность
- высокая растворяющая способность
- возможность применения ПИД

Недостатки:

- низкая полярность (полярные добавки)
- дорого



ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

(Производство и испытание)

КАПЕЛЬНО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД АНАЛИЗА И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В ФАРМАЦИИ

Сообщение I

М.А. Зимолин и М.С. Хрущев

Физико-химическая лаборатория Украинского института лекарственных препаратов, Харьков

Основы капельно-хроматографического метода впервые впервые разработаны русскими ботаниками Цветов при исследовании растительных пигментов. Метод заключается в том, что исследуемый раствор смеси веществ пропускают через трубку, наполненную адсорбентом. Вещества при прохождении через адсорбент распределяются по длине и вытекают от адсорбированного потенциала. Для более полного распределения вещества применяют «пролонгацию», т. е. через трубку пропускают ток чистого растворителя, который постепенно дифференцирует отдельные зоны. Таким образом, в трубке получают ряд зон, содержащих каждый одну определенное вещество как более простую смесь веществ. Получают так называемую хроматограмму.

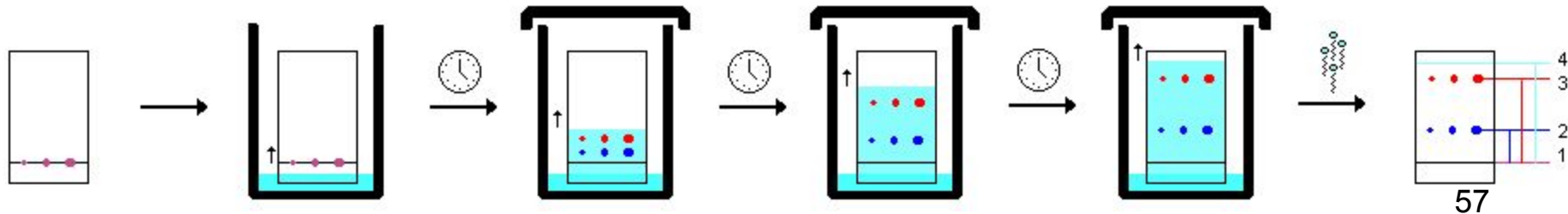
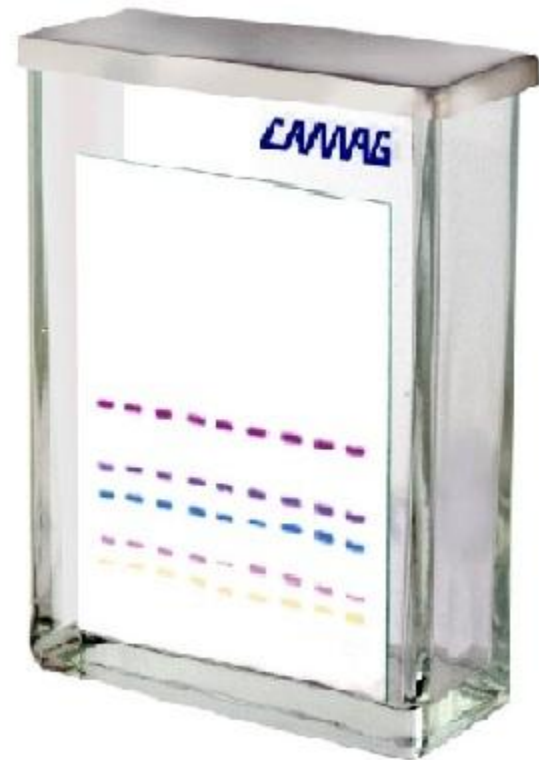
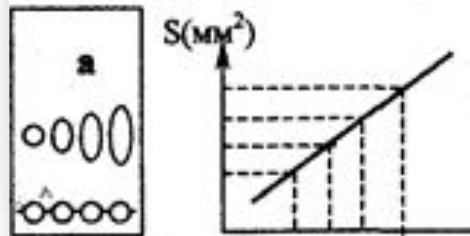
Зоны, если они окрашены, обнаруживаются на дневном свете, а если они флуоресцируют — в ультрафиолетовом свете.

Результаты своих исследований Цветов опубликовал в 1910 г. [1]. Однако в настоящее время метод Цвета мало применяется и только в 1921 г. по настоянию привлек к себе внимание исследователей, показавши, что хроматографический метод анализа может оказать большие услуги во многих областях исследования. Подробный обзор работ о применении хроматографического метода анализа при исследовании растительных веществ, углеводов, продуктов конденсации глицерина, пигментов, витаминов и др. можно найти в обзоре работы Стюкса [2], а также в работе Зюгера Ледера [3].

В развитии хроматографического метода впервые был введен проф. Денд [4] в 1925 г., Валентин и Фрэнк [5] в 1926 г. хроматографическим методом исследовали составы смесей смеси и выделили кантаридин Фрэнк [6]. В 1927 г. тем же методом исследовал смесь углеводов, полициклусы, настои лекарственных растений, настоек стрихнина, бромоводородной и другие галенозные препараты. Настойки, приготовленные различными методами, давали различные хроматограммы, хотя так, этот метод удалось выявить фальсификации в лекарствах.

Мара и Фрэнк [7] впервые применили хроматографический метод

Тонкослойная хроматография

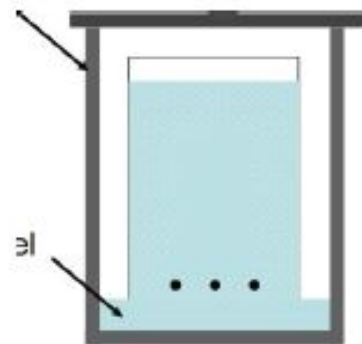
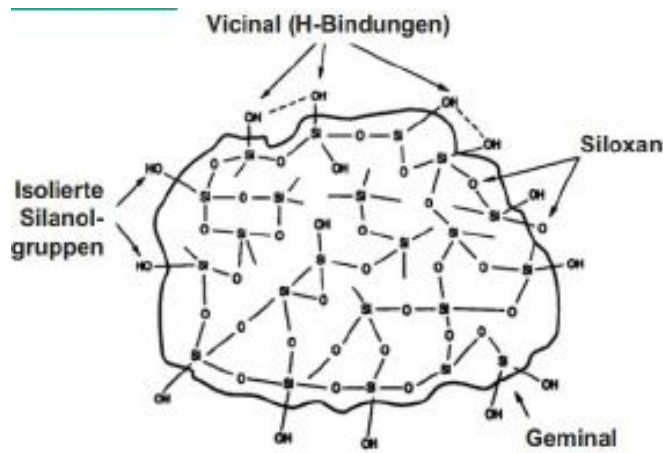


Тонкослойная хроматография

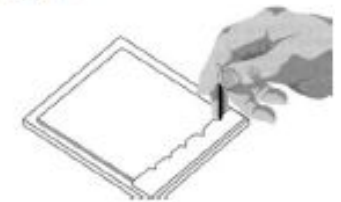
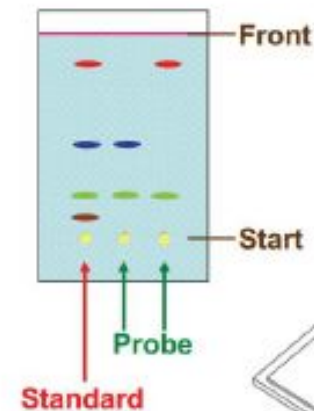
Пластики: гидрофильны, не набухают в органических растворителях, стабильны при pH= 1 -8

Носитель: алюминиевый лист, стекло

Неподвижная фаза: кизельгель (мелкопористый! – капиллярные силы)

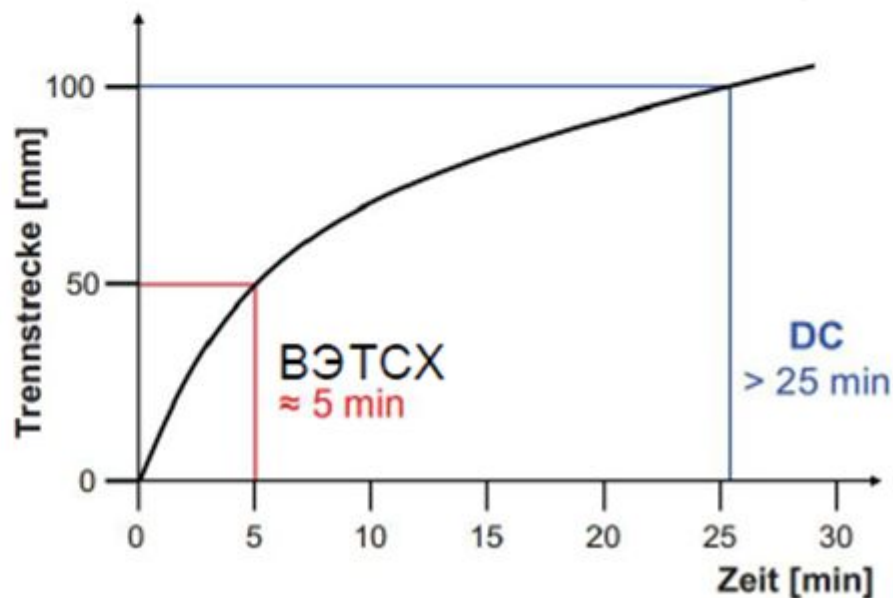


Wichtig: Mit Laufmittel gesättigter Gasraum!

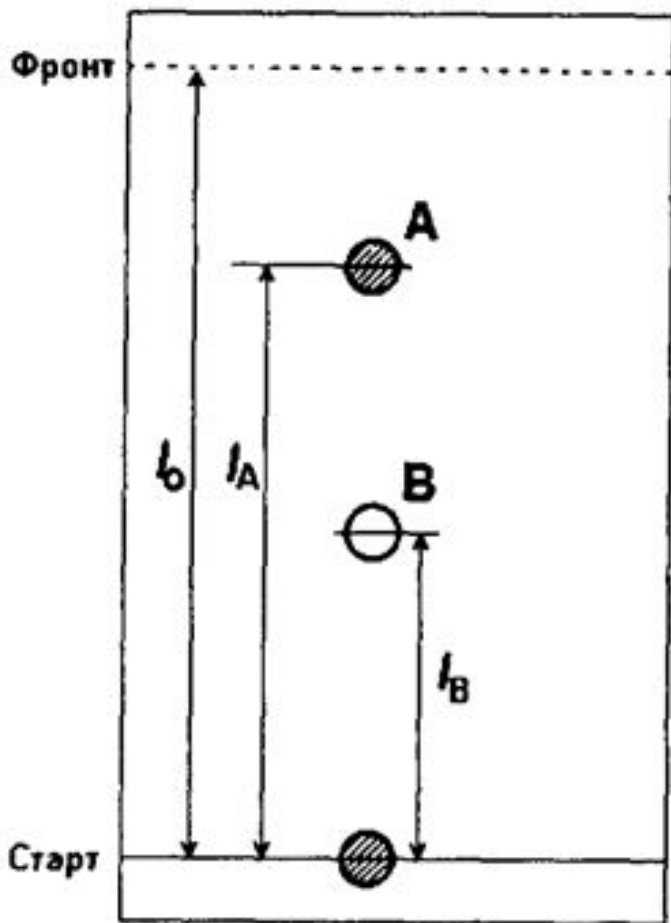


Высокоэффективная ТСХ

	ТСХ	ВЭТСХ
размер зерен	12-20 мкм	5-7 мкм
толщина слоя сорбента	0,2-1 мм	0,1 мм
длина	6-17 см	3-8 см
расположение	вертикально	горизонтально
масса в-ва	мкг	пг-нг
число ТТ (в 1 см)	200	1200

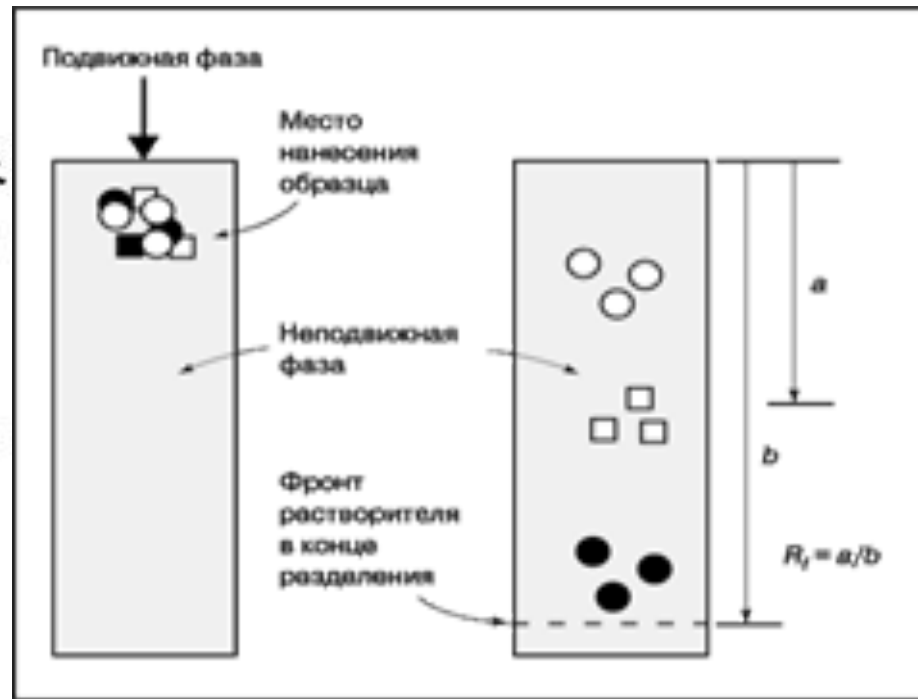


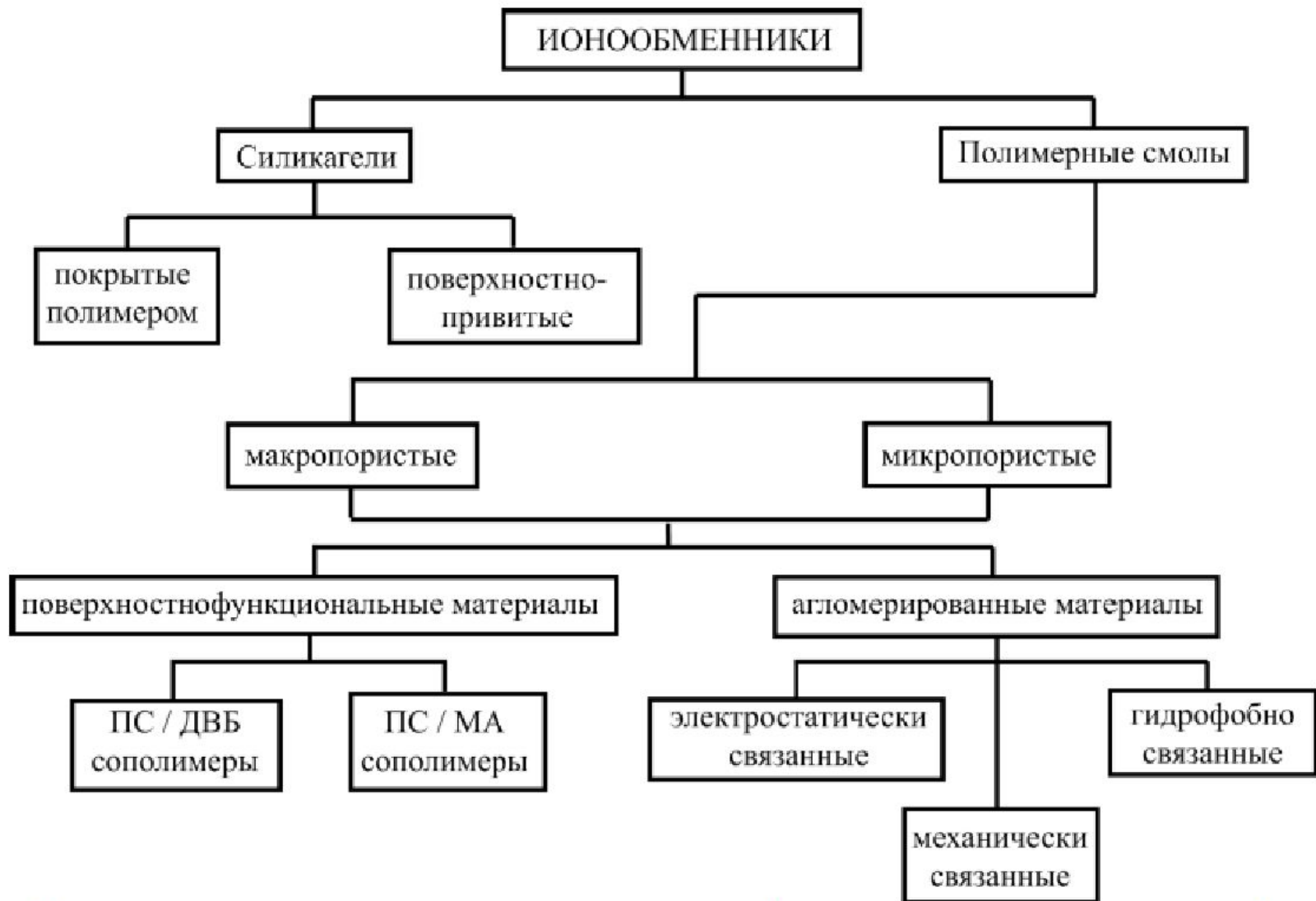
Тонкослойная хроматография

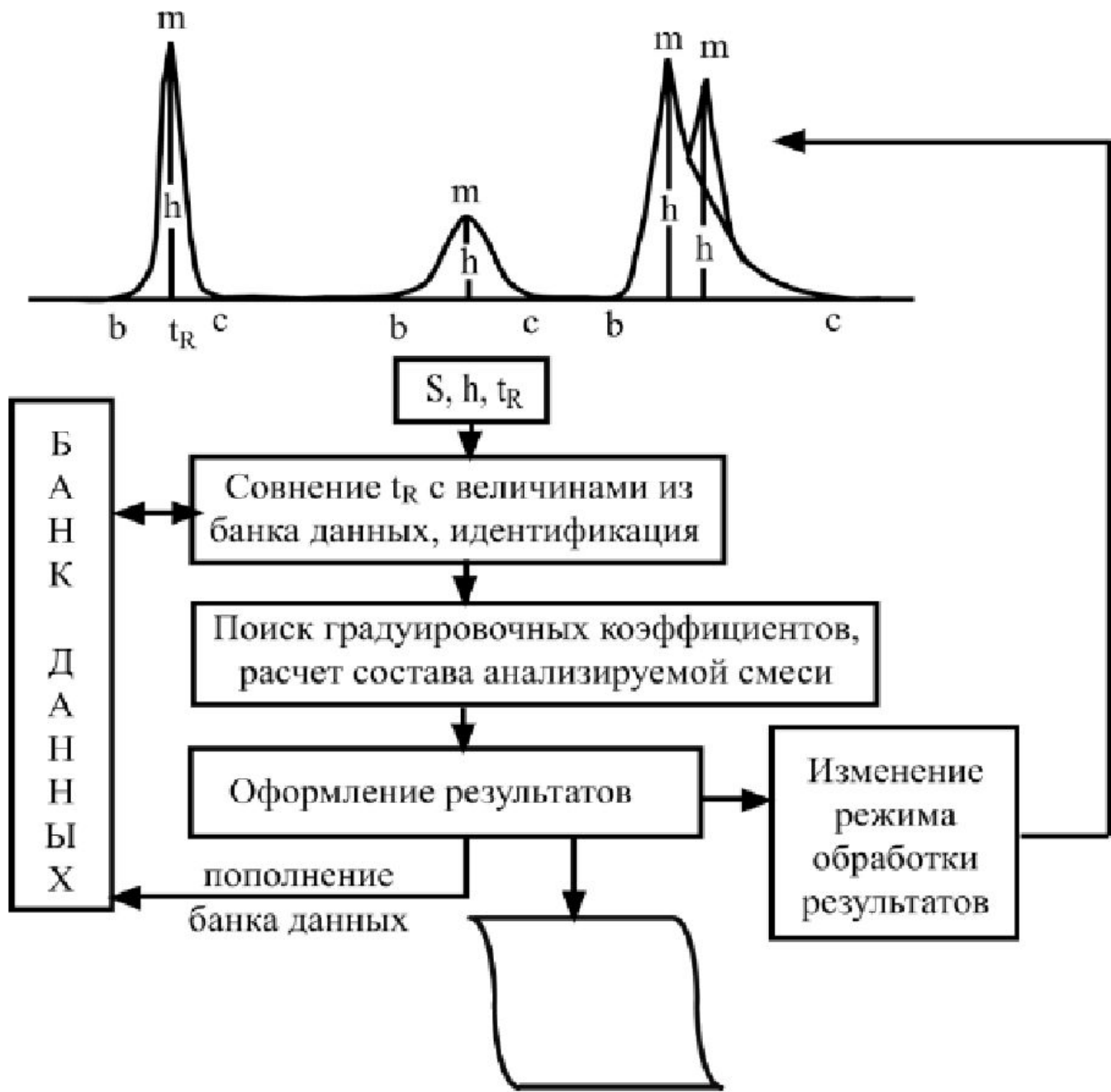


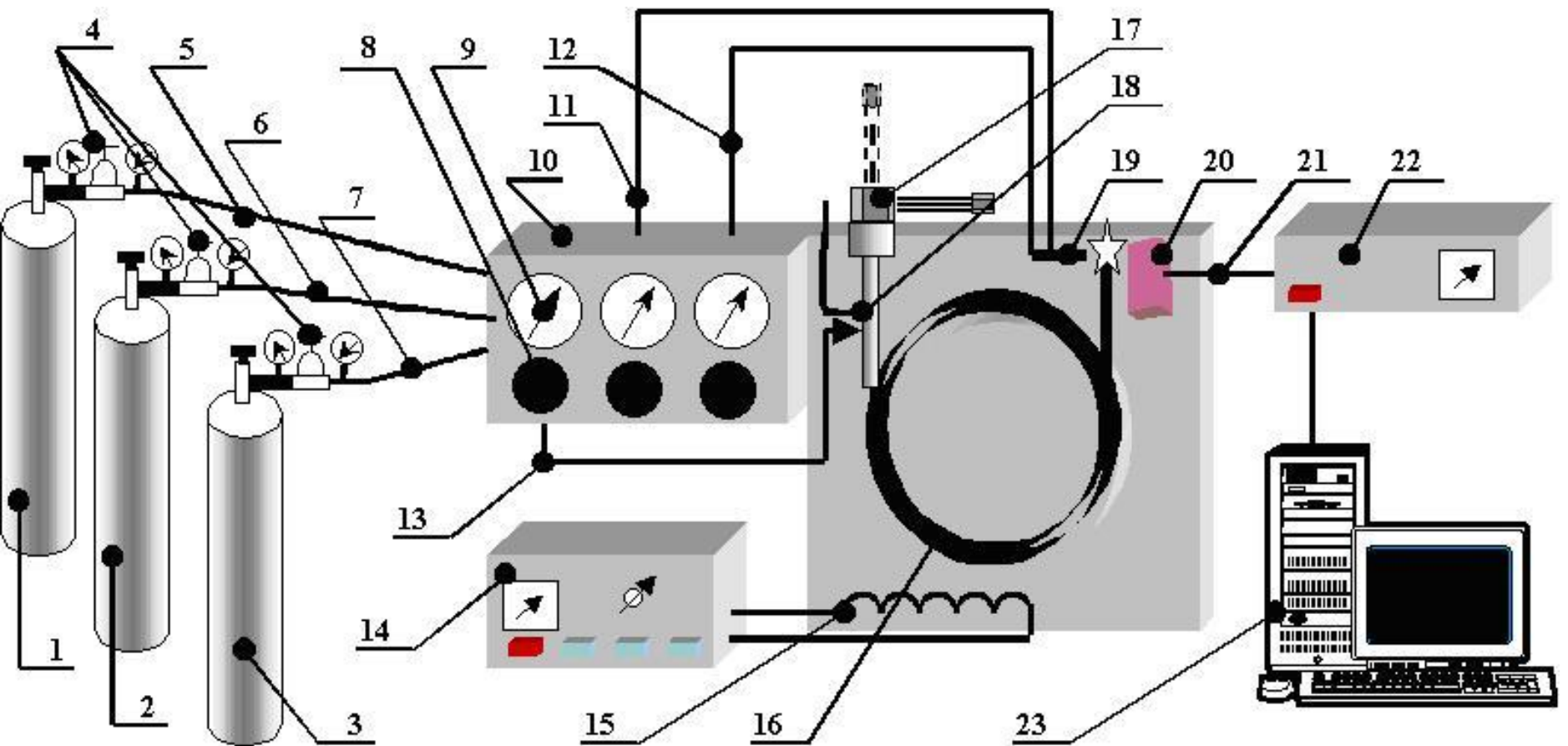
$$R_f(A) = \frac{l_A}{b}$$

$$R_f(B) = \frac{l_B}{b}$$









Дополнительная литература

- Ж.Гиошон, К.Гийемен. Количественная газовая хроматография для лабораторных анализов и промышленного контроля. Том 1,2. / М., "Мир". 1991.
- К.Тесаржик, К.Комарек. Капиллярные колонки в газовой хроматографии. / М., "Мир". 1987.
- Б.А.Руденко. Капиллярная хроматография. / М., "Наука". 1978.
- Б.А.Руденко, Г.И.Руденко. Высокоэффективные хроматографические процессы. Том 1. / М. "Наука". 2003.
- В.Л.Саленко, Т.Д.Федотова Хроматография. Основы метода и его разновидности. Учебник НГУ (учебное пособие). / Новосибирск, изд. НГУ. 2001.
- В.Г.Березкин. Что такое хроматография? / М., "Наука". 2003.
- А.Т.Лебедев. Масс-спектрометрия в органической химии. / М., изд. "Бином". 2003.
- Я.И.Яшин, Е.Я.Яшин, А.Я.Яшин. Газовая Хроматография. / М., изд. "Транслит". 2009.
- **Жидкостная хроматография**
- Спутник хроматографиста. / Под. ред. В.Ф.Селеменева. Воронеж. Изд. "Водолей". 2004. 528 с.
- Руденко Б.А., Руденко Г.И. Высокоэффективные хроматографические процессы. Том 2. Процессы с конденсированными подвижными фазами. / М., "Наука", 2003. 288 стр.
- Шаповалова Е.Н., Пирогов А.В. Хроматографические методы анализа. Методическое пособие для специального курса. / М., изд. МГУ. 2007. 109 стр.
- www.chem.msu.su/rus/teaching/analyt/chrom/part1.pdf.
- Барам Г.И. Развитие метода микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии и его применение для исследования объектов окружающей среды. // В кн. "100 лет хроматографии", (ред. Руденко Б.А.), Москва, Наука, 2003, С.32-60.
-

Дополнительная литература

- **Полевая экспрессная газовая хроматография для массовых (однотипных) анализов.**
- Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Введение в газовую хроматографию. М.: Химия, 1990. 352 с.
- Сакодинский К.И., Бражников В.В., Волков С.А. и др. Аналитическая хроматография. М.: Химия., 1993. 464 с.
- Грузнов В.М., Шишмарев А.Т., Филоненко В.Г., Балдин М.Н., Науменко И.И. Экспрессный анализ объектов окружающей среды с применением портативных газовых хроматографов и поликапиллярных колонок // Журнал аналитической химии. - 1999, т. 54, № 9, с. 957 – 961.
- Грузнов В.М., Филоненко В.Г., Шишмарев А.Т. Отбор и ввод проб при скоростном газохроматографическом обнаружении паров органических веществ. // Журнал аналитической химии. 1999. т. 54, № 11, с. 1134 – 1139.
- Грузнов В.М., Филоненко В.Г., Шишмарев А.Т. Экспрессное улавливание паров веществ из воздуха. //Ж. Теплофизика и аэромеханика. 2000, т. 7, № 4. С. 617-620.
- В.М.Грузнов, В.Г. Филоненко, М.Н. Балдин, А.Т. Шишмарёв Портативные экспрессные газоаналитические приборы для определения следовых количеств веществ.// Российский химический журнал. 2002. Т.46, №4,с. 100 ÷ 108.
- В.М. Грузнов, В.Г. Филоненко Расчётное моделирование ввода пробы при экспрессном газовом анализе. В книге «Наука на службе экологии и безопасности человека». Под ред. проф. Т.С. Юсупова. Новосибирск: Академическое изд-во «Гео» 2008. С. 140 – 159.