

# ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

23

3

1963

ДЕРЖМЕДВИДАВ  
УРСР

# ВИБІР МЕТОДУ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

I. M. ПЕРЦЕВ, I. В. КРАСОВСЬКИЙ, Г. П. ПІВНЕНКО

(Харківський фармацевтичний інститут)

## ПОВІДОМЛЕННЯ III

### 5. Розподільна хроматографія

Цей метод являє собою окремий вид хроматографічного аналізу, оснований на різних величинах коефіцієнтів розподілу окремих компонентів розчину між двома розчинниками, які не змішуються. Запропонували його вперше А. Мартін і Р. Сіндж (1, 2), докладно дослідили й теоретично розвинули Н. А. Фукс (3), а також Т. С. Пасхіна (4).

Великою перевагою розподільної хроматографії є те, що рух кожного компонента в колонці майже не залежить від наявності інших речовин, що дуже полегшує ідентифікацію компонентів у рідких хроматографах (5). Цей метод широко застосовується для поділу амінокислот, дубильних та інших речовин.

До недоліків розподільної хроматографії слід віднести помітний вплив адсорбції в окремих випадках, що шкідливо впливає на поділення, бо призводить до утворення у зон довгих «хвостів».

Найбільших успіхів розподільна хроматографія досягла у формі хроматографії на папері\*. Паперова хроматографія має свої переваги порівняно з колонковою, бо з її допомогою можна визначати надзвичайно малі кількості складних сумішей.

У процесі хроматографування одна з рідин повільно поширюється на папері, тимчасом як друга залишається на ньому нерухомою. Під час свого руху рухома фаза розчиняє речовини, нанесені на папір, і переміщує їх разом з собою. При цьому відбувається безперервний перерозподіл речовин між рухомою і нерухомою фазами. Швидкість переміщення її на папері залежить від коефіцієнта розподілу її між рухомою і нерухомою фазами. Коефіцієнт розподілу, в свою чергу, залежить від розчинності речовини в обох фазах.

Здатність речовини до переміщення на папері характеризується величиною  $R_f$  \*\*. Вона залежить, головне, від системи розчинників, температури та якості паперу. Під час проведення експериментів у тих самих умовах величину  $R_f$  можна розглядати як константу, що характеризує певну речовину.

Великою позитивною якістю хроматографії на папері є можливість застосовувати її для аналізів речовин, які є в невеликих кількостях (у десятих та сотих долях міліграма).

З другого боку, її не можна використовувати для препаративної мети. Проте, користуючись одержаними при хроматографуванні на папері даними, можна відтворити цей процес у великому масштабі на колонці з целюлози і таким способом виділити бажані компоненти у достатній кількості.

### 6. Газова хроматографія

Особливу різновидність являє собою хроматографія з газовою рухомою фазою, яку застосовують лише для поділу летких речовин з температурою кипіння не вище 300°.

Газова хроматографія поділяється на два види: газорідинну (в літературі вона зветься ще розподільною, газорозподільною, парофазною і т. д.) і газоадсорбційну. Ці види хроматографії мають цілий ряд переваг порівняно з описаними вище.

\* Існує кілька видів паперової і адсорбційної хроматографії, розгляд яких ми не ставимо собі за мету.

\*\*  $R_f = \frac{\text{Шлях, пройдений розчинником}}{\text{Шлях, пройдений речовиною}}$

При газорідинній хроматографії зони утворюють вузькі смуги поділюваних речовин, на відміну від широких розмазаних смуг, характерних для всіх видів адсорбційної хроматографії. Ті чи інші аналізи можна провести на газорідинній хроматографії значно швидше, бо, внаслідок невеликої в'язкості газу, допускаються великі швидкості потоку. Крім того, широкий вибір нерухомих фаз робить її ще більш придатною для аналізу.

Характерна особливість методів газорідинної хроматографії — це цілковита автоматизація процесів аналізу. Методика дуже проста і особливо зрозуміла з рис. 1. Скляна або металева колонка (А) заповнена індиферентним матеріалом, частинки якого мають певні розміри і просочені не-леткою рідиною (нерухома фаза). Через цю колонку пропускають безперервний потік інертного газу (азоту, гелію, водню та ін.), який становить рухому фазу. Певну температуру колонки підтримують за допомогою електротермостата або водяного огорівника (В). Температура, при якій працює колонка, залежить від багатьох факторів, особливо від природи нерухомої фази і досліджуваної рідини (С), яку вводять у початкову частину колонки спеціальним пристосуванням (мікропіпеткою, голкою шприца або роздушуючи запаяну ампулу). Ця рідина, потрапивши в систему, має негайно перетворитися на пару і в такому стані залишатися протягом усього аналізу.

Пароподібні компоненти досліджуваної проби переміщуються газом-проявником через колонку з різними швидкостями, в результаті чого вони залишають її у вигляді окремих смуг, поділених зонами газу-носія. Найменш розчинні у нерухомій фазі і найбільш леткі компоненти проходять колонку першими, а речовини, добре розчинні в нерухомій фазі і менш леткі, — останніми. Склад газового потоку, який виходить з колонки, визначається чутливим фіксуючим пристроєм (інтегральним або диференціальним детектором, найчастіше побудованим на вимірюванні тепlopровідності досліджуваного матеріалу у вигляді газу і чистого газу-носія), за допомогою якого можна одержати відомості про якісний і кількісний склад досліджуваної суміші.

Хроматографічна колонка має дуже високу ефективність, яка може бути реалізована цілком, якщо введена проба займає лише невеликий елементарний шар колонки; в іншому випадку проявлені смуги стають ширшими. Тому бажано працювати з невеликими кількостями досліджуваної суміші.

У газоадсорбційній хроматографії застосовують ту саму апаратуру, що й у газорідинній. Тільки колонку тут заповнюють не індиферентним носієм, насиченим рідиною, а активним адсорбентом. Крім того, oprіч проявного методу, в газоадсорбційній хроматографії використовують витискне проявлення і фронтальний аналіз (6).

Винятково швидкий розвиток цих видів газової хроматографії пояснюється швидкістю і надійністю поділу і тим, що для проведення аналізу потрібно лише кілька міліграмів речовини.

Проте метод газової хроматографії має і деякі обмеження: 1) важко створити надійну реєструючу апаратуру; 2) тільки невеликі кількості досліджуваного матеріалу можна пропускати через колонку з великою

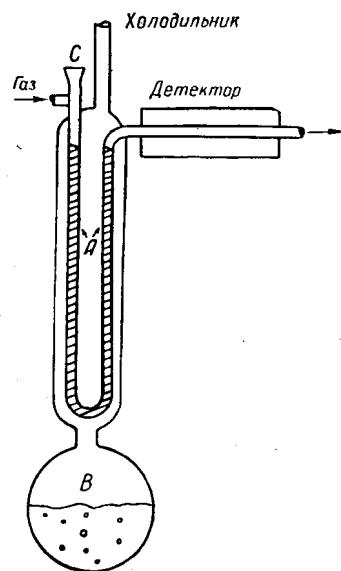


Рис. 1. Спрощена схема приладу для газорідинної хроматографії.

ефективністю, що не дає можливості користуватися цим видом хроматографії з препаративною метою; 3) можна поділяти леткі речовини лише з т. кип. до 300°; 4) поділювані речовини мають бути стійкими при температурі, потрібній для перетворення їх з рідкого стану на газоподібний.

Незважаючи на вказані обмеження, ці види газової хроматографії за останні 5 років широко застосовуються для якісного аналізу різних нафтопродуктів, ефірних олій (7—9) та інших летких ароматичних речовин (10).

За допомогою хроматографії газів розв'язуються численні питання хімії, біології, медицини, фізичної хімії тощо — завжди, коли потрібний швидкий і високоефективний аналіз складних сумішей найрізноманітнішого складу.

## 7. Термохроматографія

А. А. Жуховицький, О. В. Золотарьова, В. А. Соколов та Н. М. Туркельтауб (11) запропонували новий метод хроматографічного аналізу газів, побудований на сполученні термічної десорбції і проявного хроматографічного аналізу, — термохроматографію. Ця методика дозволяє дослідникам для досягнення оптимальних умов хроматографічного поділу змінювати такі параметри: адсорбент, проявник, швидкість потоку, температуру вбирача, температуру і швидкість руху печі. Спосіб термічної десорбції є аналогічний витискному проявленню і має характеристні для нього позитивні якості.

## 8. Хроматографія на тонких адсорбційних шарах

Останнім часом при аналізі жиророзчинних речовин (терпенів, дитерпенів та їх похідних) застосовують хроматографію на тонких адсорбційних шарах (хроматографічних пластинках). Цей вид хроматографічного аналізу за методикою виконання багато в чому подібний до хроматографії на папері. Метод хроматопластинок, як і паперова хроматографія, належить до мікрометодів. І хоч цей метод не такий точний, як паперова хроматографія, він дає можливість контролю (особливо попереднього), дуже швидкий і в багатьох випадках може бути використаний для кількісного аналізу. Крім того, метод хроматопластинок має і цілий ряд переваг: швидке виконання експерименту, легкість добору розчинника, широку можливість зміни адсорбенту в разі застосування різних реактивів з енергійним окислювальним проявленням і, нарешті, деяка totожність фізико-хімічних процесів, які відбуваються як на хроматопластинці, так і при хроматографії на колонці.

Хроматографічні пластинки готовують за методом, описаним Кірхнером та ін. (12), Рейтземом (13) і докладно розглянутим нами в попередніх статтях (14, 15).

## 9. Іонообмінна хроматографія

Крім описаних видів хроматографії, для аналізу органічних речовин користуються іонообмінною хроматографією, теорію якої розробили російські вчені: К. К. Гедройц (16), Е. Н. Гапон (17), І. Н. Антипов-Каратеєв (18), Б. П. Нікольський та ін. (19, 20). Цей метод дає можливість провадити аналіз алкалойдів, амінокислот та інших сполук, здатних бути в розчині в дисоційованому стані.

Ми розглянули лише основні види хроматографії. Цілий ряд нових методів аналізу, наприклад, поєднання адсорбційного поділу з електрофоретичним, використання радіоактивних індикаторів тощо, які ще не досить широко випробовані і рідко застосовуються для аналізу, ми не

подаємо. Ми не торкалися також теорії хроматографічного аналізу, хоч останніми роками зроблено небезуспішні спроби створити теорію цього складного динамічного процесу для двокомпонентних сумішей.

## ВИСНОВКИ

На підставі викладеного, вибираючи методику дослідження, треба насамперед розв'язати питання про мету його.

Для поділу і нагромадження більш-менш значних кількостей речовин з одночасним визначенням кількісного складу суміші, яку аналізують, слід спинитися на колонковій хроматографії.

Якщо ставиться тільки аналітична мета або ж тільки якісне чи півкількісне визначення компонентів суміші, краще використати розподільну хроматографію або хроматопластинки.

Найпростіше хроматографічний аналіз можна провести в тому разі, коли поділювані речовини на відповідному безбарвному адсорбенті дають досить чіткі забарвлені зони. У ряді випадків кольорові зони в хроматографічній колонці можна одержати або освітленням ультрафіолетовим промінням (якщо речовини флуоресціють і флуоресценція помітно відрізняється кольором), або застосуванням відповідно добраних кольорових реакцій. В окремих випадках можна використати досить прости осадову хроматографію.

Якщо неможливо здійснити перелічені найпростіші способи аналізу, то слід скористатися елюентним, витискним або фронтальним аналізом, які складніші за виконанням.

В окремих випадках кращими порівняно з іншими варіантами хроматографічного поділу можуть виявится газова та іонообмінна хроматографії.

Все викладене вище дає можливість дослідникові більш обґрунтовано підійти до вибору найбільш придатного методу аналізу.

Треба мати на увазі, що наші рекомендації не слід приймати як цілком обов'язкові. У кожному окремому випадку може бути своя специфіка, яка робить інколи доцільним вибір хоч і складнішого методу, але з тих чи інших міркувань найбільш придатного в певних умовах.

## ЛІТЕРАТУРА

1. А. Дж. П. Мартин, Хроматография, сб. статей под ред. акад. М. М. Дубинина, ИЛ, М., 1, 1949, 135.— 2. А. J. R. Martin, R. Z. M. S y n g e, Biochem. J., 35, 1358 (1941).— 3. Н. А. Фукс, Усп. хим., 17, 45 (1948).— 4. Т. С. Пасхина, Биохимия, 14, 169 (1949).— 5. Н. А. Фукс, Реакции и методы исследования органических соединений, 1, 214, 1951.— 6. А. Кейлеманс, Хроматография газов, ИЛ, М., 1959, 32—48.— 7. R. Z. Blackmогe, W. D. Fordham, Parfum. cosmet., Savons, 1, 54 (1958).— 8. N. Вгеппег, Drug and Cosm. Ind., 80, 166, 261 (1957).— 9. C. Z. Teitelbaum, Amer. Perfumer and Atom., 67, 28 (1956).— 10. W. A. Wiseman, Perfum. and Essent. Oil Rec., 48, 380 (1957).— 11. А. А. Жуковицкий, О. В. Золотарева, В. А. Соколов, Н. М. Туркельтауб, ДАН СССР, 77, 435 (1951).— 12. J. G. Kirschner, J. M. Miller, G. J. Keller, Anal. Chem., 23, 420 (1951).— 13. R. H. Reitsma, Anal. Chem., 26, 960 (1954).— 14. И. М. Перцев, Г. П. Півененко, Фармацевтичний журнал, 5, 28 (1961).— 15. И. М. Перцев, Г. П. Півененко, Фармацевтичний журнал, 2, 35 (1962).— 16. К. К. Гедройц, Журн. опыта, агроном., 544—578, 811—816 (1911).— 17. Е. Н. Гапон, Хроматографический метод разделения ионов, сб. статей под ред. Е. Н. Гапона, ИЛ, 1949, 22—25.— 18. И. Н. Антипов-Каратаяев, Коллондный журнал, 1, 6 (1935); 5, 5 (1939); 9, 2 (1947); 10, 2 (1948).— 19. Т. Б. Гапон, Е. Н. Гапон, Ф. М. Шемякин, ДАН СССР, 58, 595, (1947).— 20. Б. П. Никольский, Журнал физической химии, 5, 266 (1934).

# **ВЫБОР МЕТОДА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ**

*И. М. ПЕРЦЕВ, И. В. КРАСОВСКИЙ, Г. П. ПИВНЕНКО*

## **СООБЩЕНИЕ III**

### **РЕЗЮМЕ**

Приводится краткая характеристика отдельных методик хроматографического анализа (распределительная хроматография, газовая хроматография, термохроматография, хроматография на тонких адсорбционных слоях и др.).

Отмечается, что выбор метода анализа зависит от поставленной цели исследования, т. к. от этого характер исследования меняется.

В отдельных случаях может быть своя специфика проведения анализа, которая делает иногда оправданным выбор более сложного метода, являющегося наиболее пригодным в данных условиях.