Хроматографічні методи

Зміст:

1. **Класифікація хроматографічних методів.**
2. **Площинна хроматографія.**
3. **Осадова хроматографія.**
4. **Іонообмінна хроматографія.**
5. **Афінна хроматографія.**
6. **Газова хроматографія.**
7. **Високоефективна рідинна хроматографія**

Хроматографія

Хроматографія – це фізико-хімічний метод розділення речовин, який ґрунтується на різному розподілі компонентів між двома фазами – нерухомою та рухомою.

Розділення компонентів у хроматографічній колонці

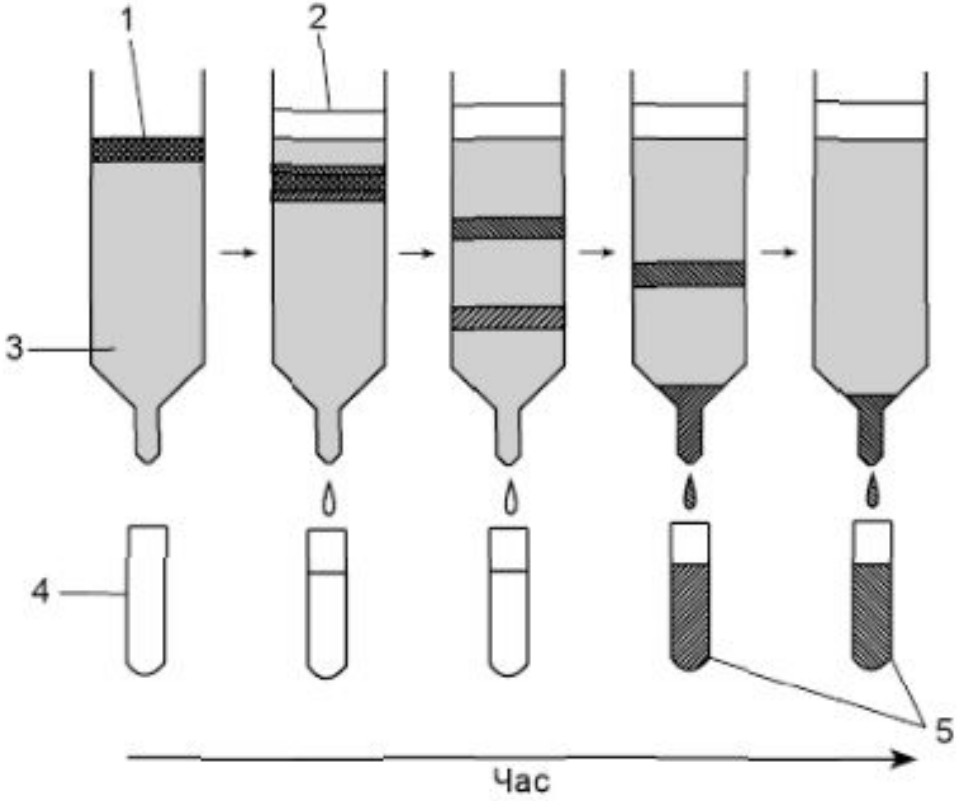
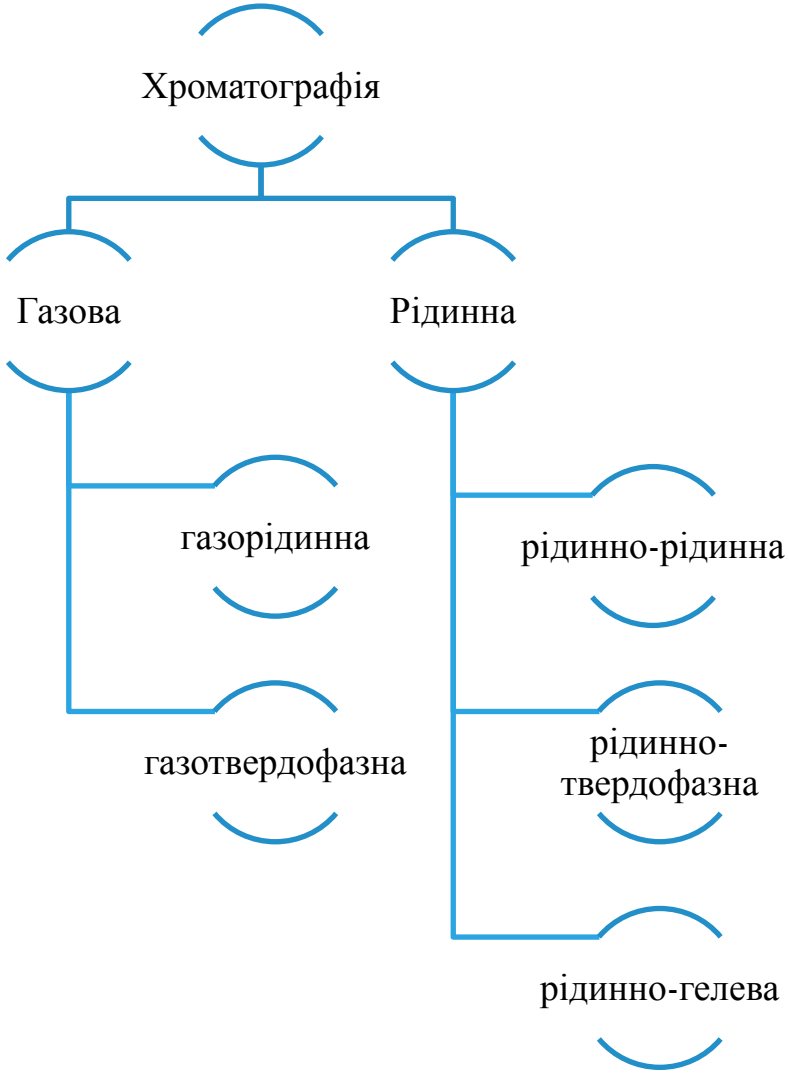
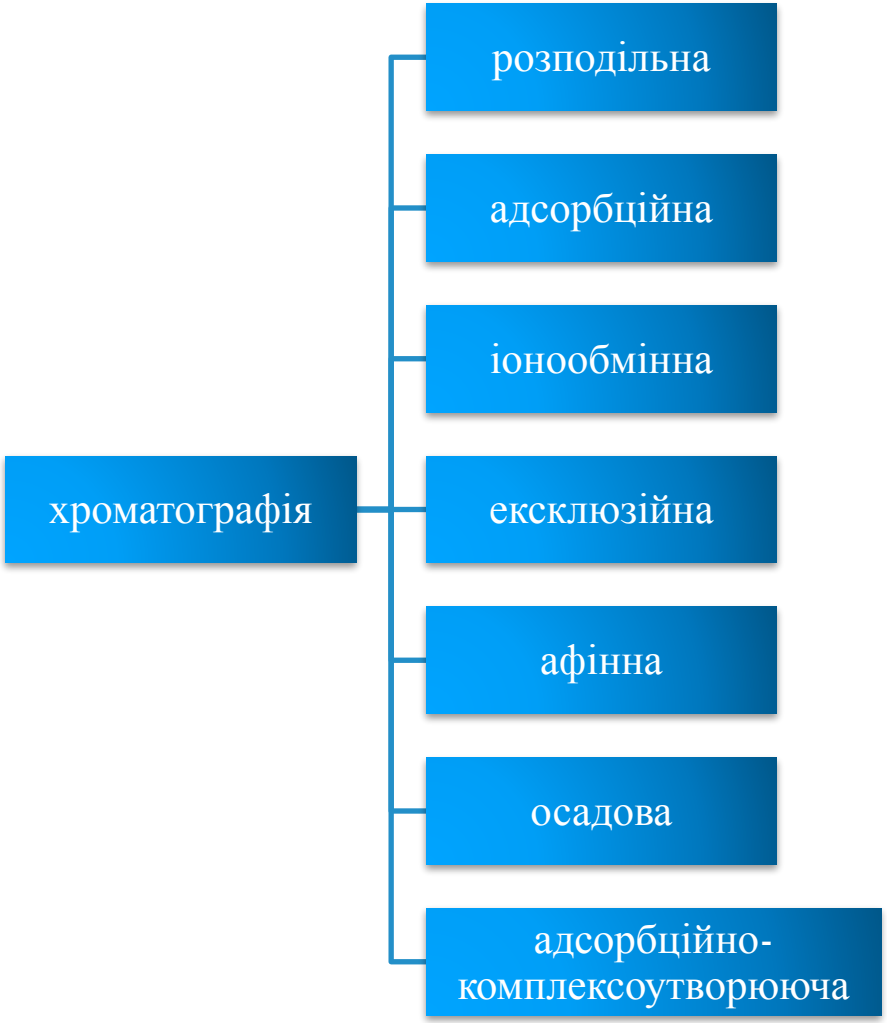


Рис. 3.29. Схема розділення компонентів у хроматографічній колонці:
1 – досліджувана суміш; 2 – рухома фаза (елюент); 3 – нерухома фаза (сорбент); 4 – пробірки з фракціями; 5 – пробірки із фракціями, що містять розділені компоненти (елюат).

Класифікація за агрегатним станом рухомої фази



Класифікація за механізмом взаємодії сорбату і сорбенту



Класифікація за механізмом розподілу

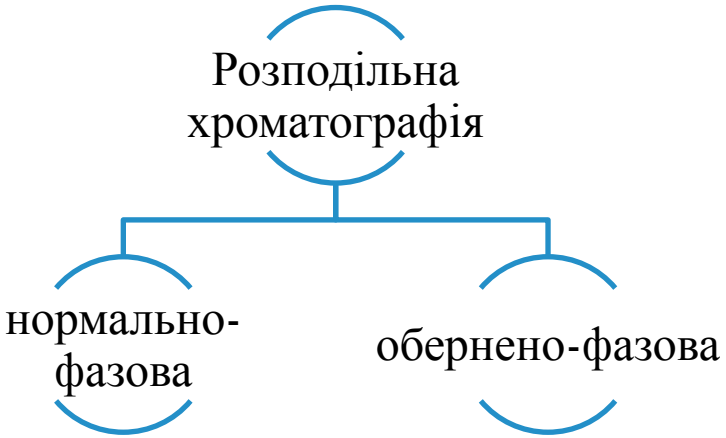
Назва методу	Принцип розділення речовин	Величини, які характеризують механізм розділення
Адсорбційна	Адсорбція	Коефіцієнт адсорбції
Розподільна	Розподіл	Коефіцієнт розподілу
Іонообмінна	Електростатична взаємодія і дифузія	Заряд іона, ефективний радіус іона, константа іонізації
Осадова	Розчинність	Добуток розчинності
Ексклюзійна	Дифузія	Ефективний діаметр молекул
Афінна	Біоспецифічна взаємодія з афінним лігандом	Константа не визначена (або константа інгібування, або константа дисоціації)

РОЗПОДІЛЬНА ХРОМАТОГРАФІЯ

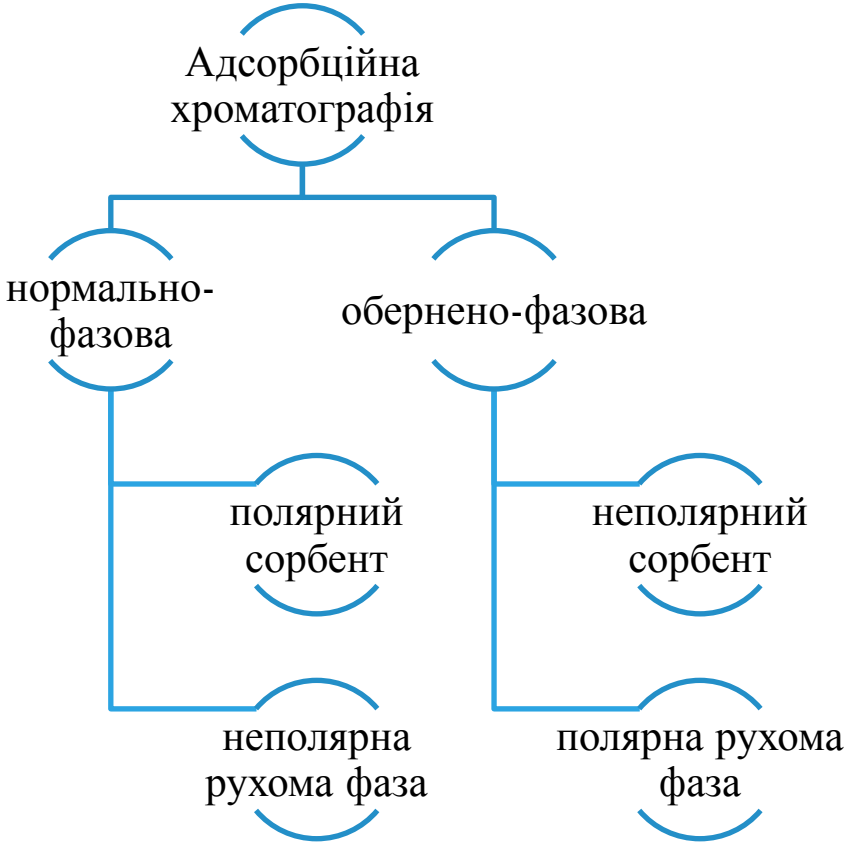
Коефіцієнт розподілу – відношення рівноважної концентрації досліджуваного компонента у нерухомій фазі до рівноважної концентрації того ж компонента у рухомій фазі.

Носії:

- силікагель;
- діатомова земля;
- крохмаль;
- гідрофільний гель;
- подрібнена целюлоза;
- фільтрувальний папір



Адсорбційна хроматографія



Полярні сорбенти:

- силікагель;
- алюміній оксид;
- магній силікат;
- оксиди металів.

Неполярні сорбенти:

- активоване вугілля;
- кізельгур;
- діатоміт.

Вимоги до рухомої фази

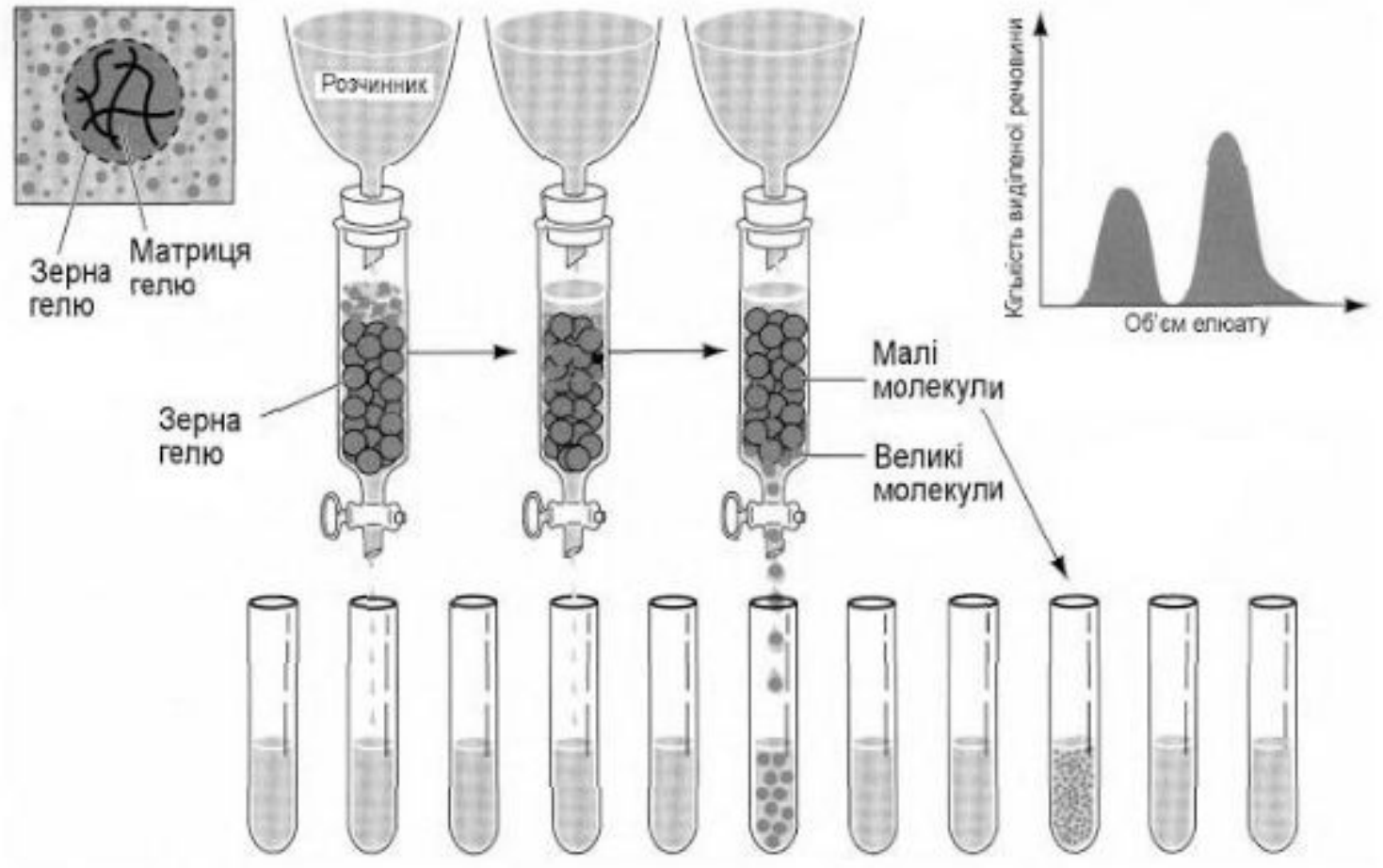
Рухома фаза повинна:

- розчиняти досліджувану пробу;
- мати низьку в’язкість;
- забезпечувати виділення розділених компонентів;
- бути інертною до матеріалів, з якими вона контактує;
- бути безпечною, дешевою;
- підходити для детектору.

Ексклюзійна хроматографія

Ексклюзійна хроматографія – це різновид рідинної хроматографія, у якій розділення компонентів ґрунтується на розподілі молекул відповідно до їх розмірів між розчинником, який знаходиться в порах сорбенту, і розчинником, що тече між частинками сорбенту.

Ексклюзійна хроматографія

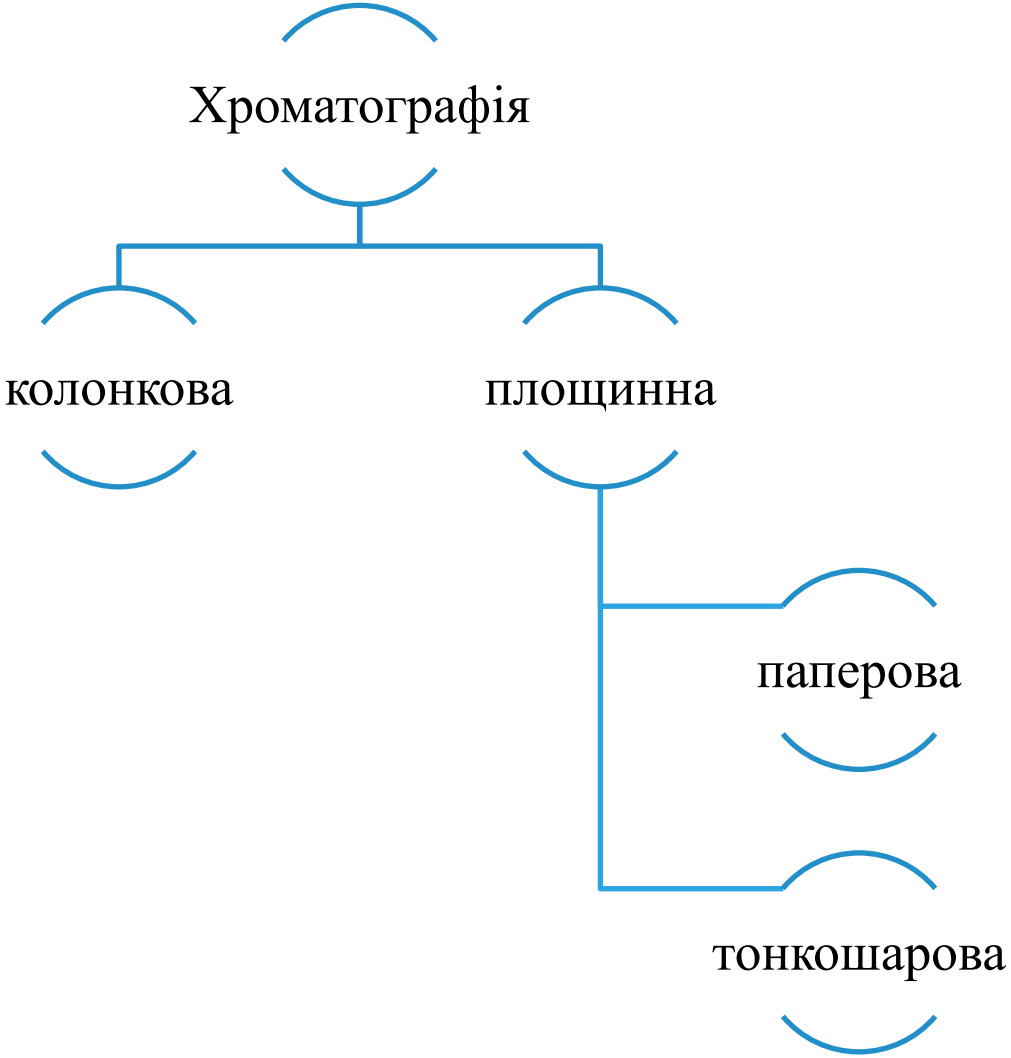


Афінна хроматографія

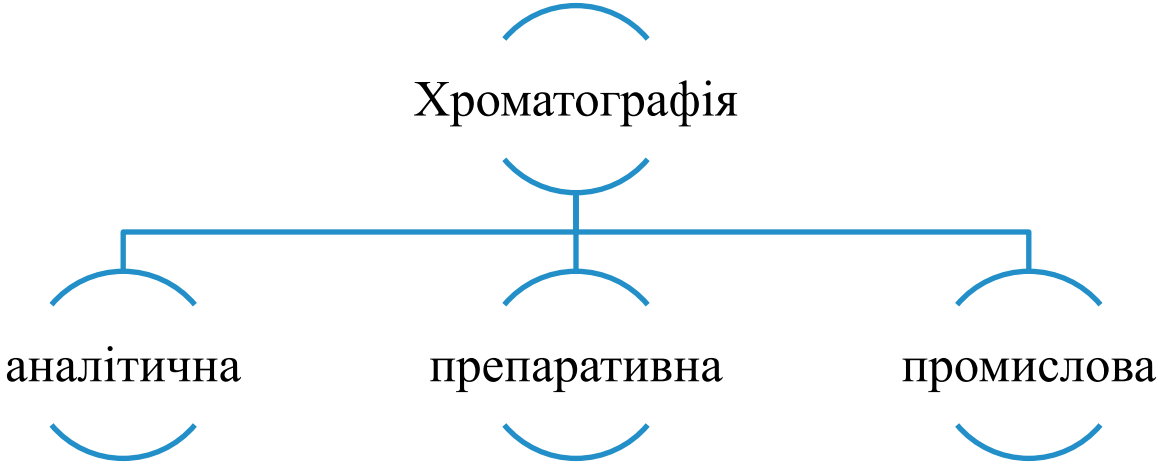
Взаємодії:

- антиген-антитіло;
- фермент-субстрат;
- тРНК-амінокислота;
- гормон-рецептор.

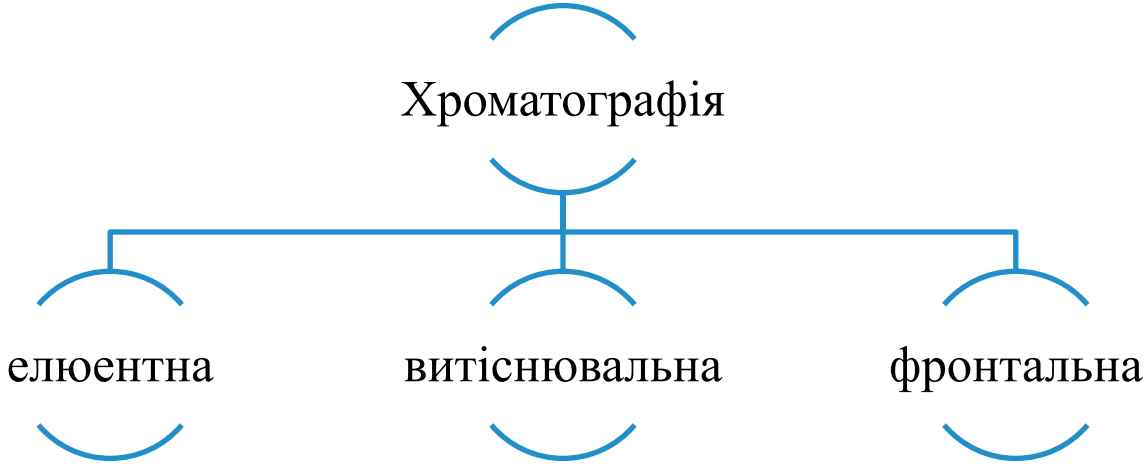
Класифікація за технікою виконання



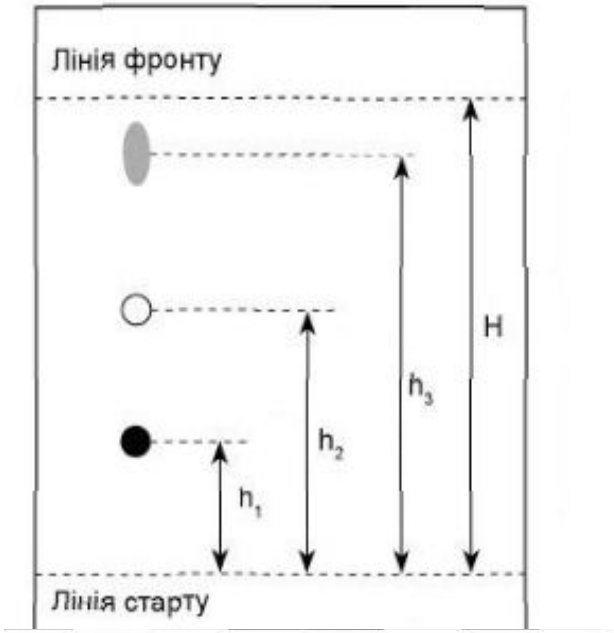
КЛАСИФІКАЦІЯ ЗА МЕТОЮ ХРОМАТОГРАФУВАННЯ

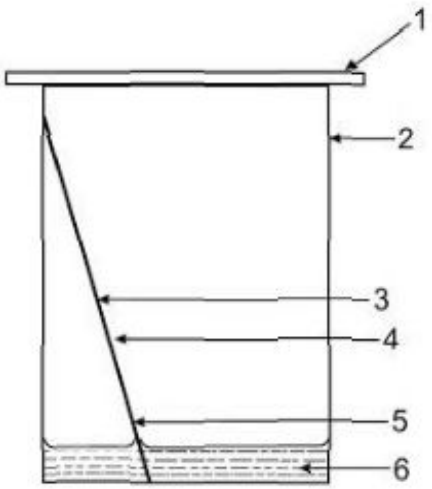


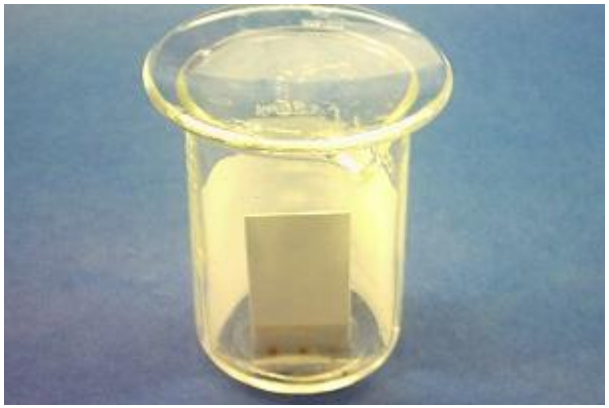
Класифікація за способом отримання хроматограм



ТОНКОШАРОВА ХРОМАТОГРАФІЯ







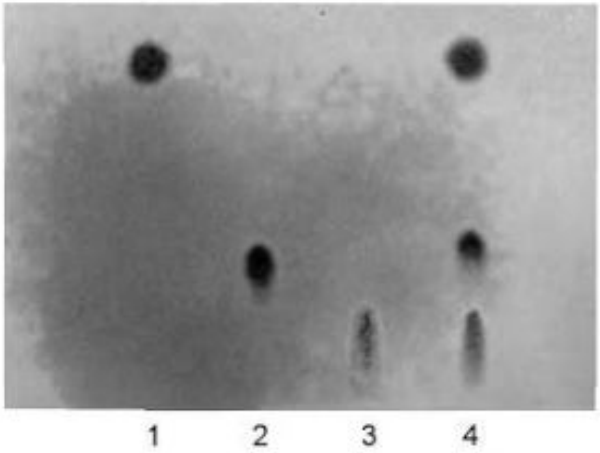
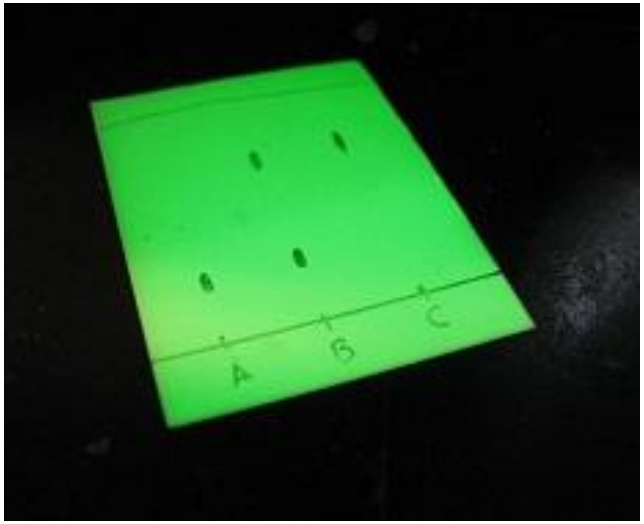


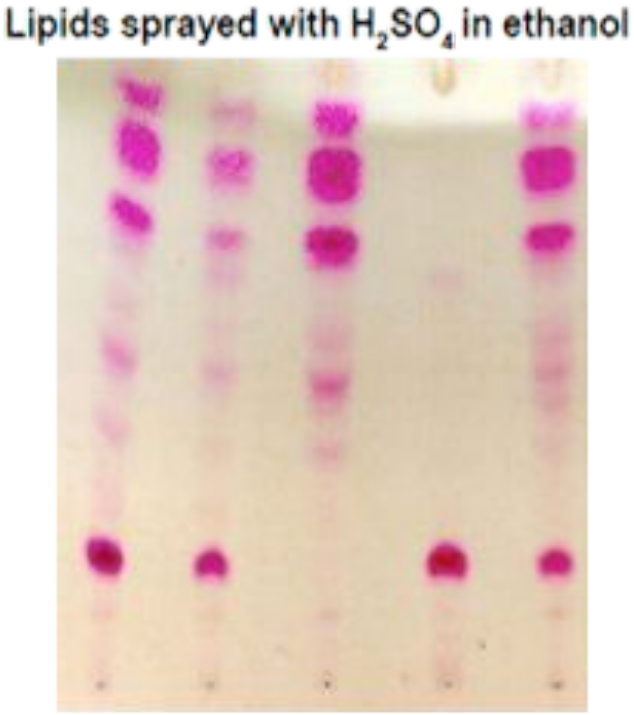
Рис. 3.33. Камера для хроматографічного аналізу речовин у тонкому шарі сорбенту: 1 – кришка; 2 – скляна камера; 3 – пластинка з тонким шаром сорбенту; 4 – сорбент; 5 – місце нанесення проби; 6 – розчинник

СПОСОБИ ХРОМАТОГРАФУВАННЯ

ДЕТЕКТУВАННЯ

- флуоресцентне;
- реагентне;
- обвуглювання.

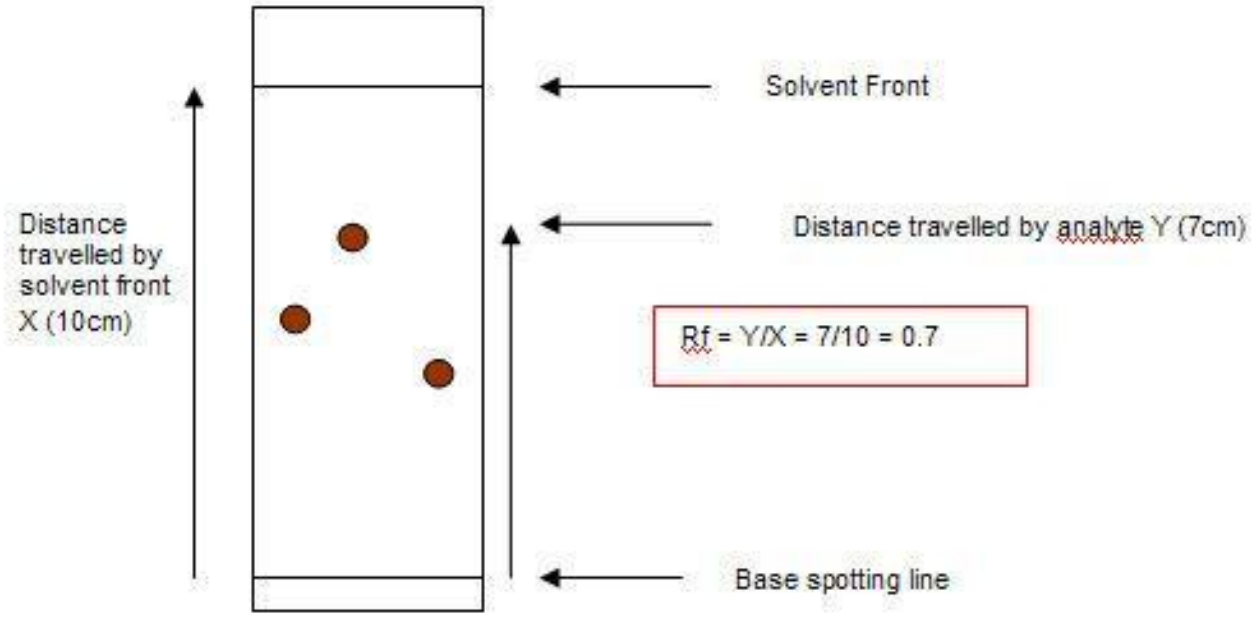




ЯКІСНИЙ АНАЛІЗ

$$R_f = \frac{h}{H}.$$

$$R_{st} = \frac{Rf_i}{Rf_{st}}.$$



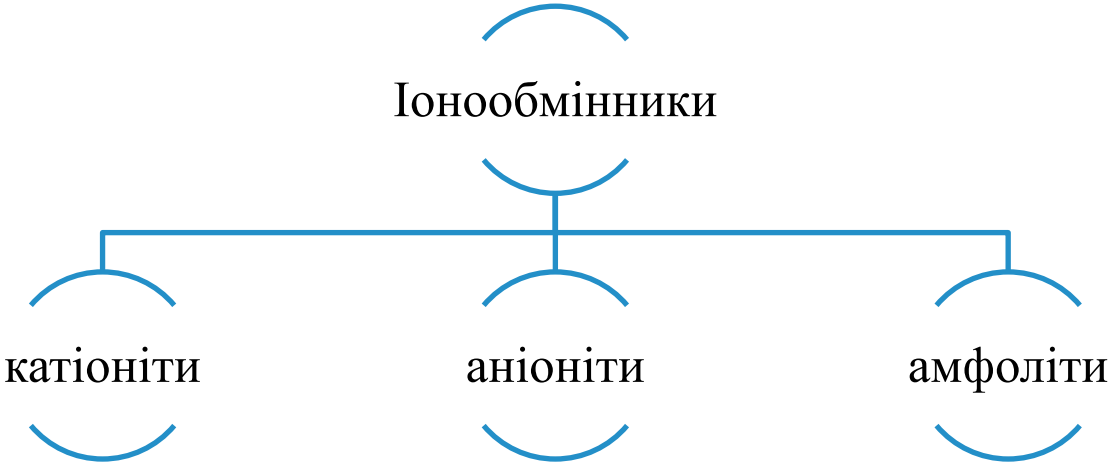
ОСАДОВА ХРОМАТОГРАФІЯ

Носії:

- силікагель;
- алюміній оксид;
- барій сульфат;
- порошок кварцу;
- азбест;
- скляна пудра.

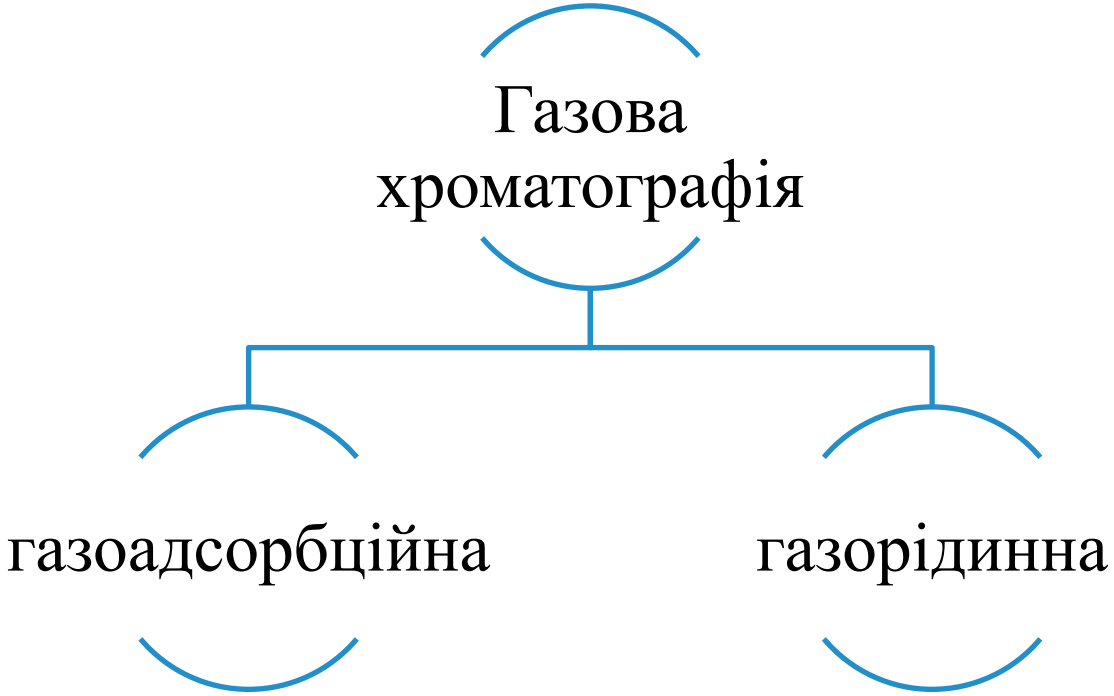
ІОНООБМІННА ХРОМАТОГРАФІЯ

Іонний обмін – це гетерогенний процес, у якому сорбент і розчин, що з ним контактує, зворотно і стехіометрично обмінюються однойменно зарядженими іонами.



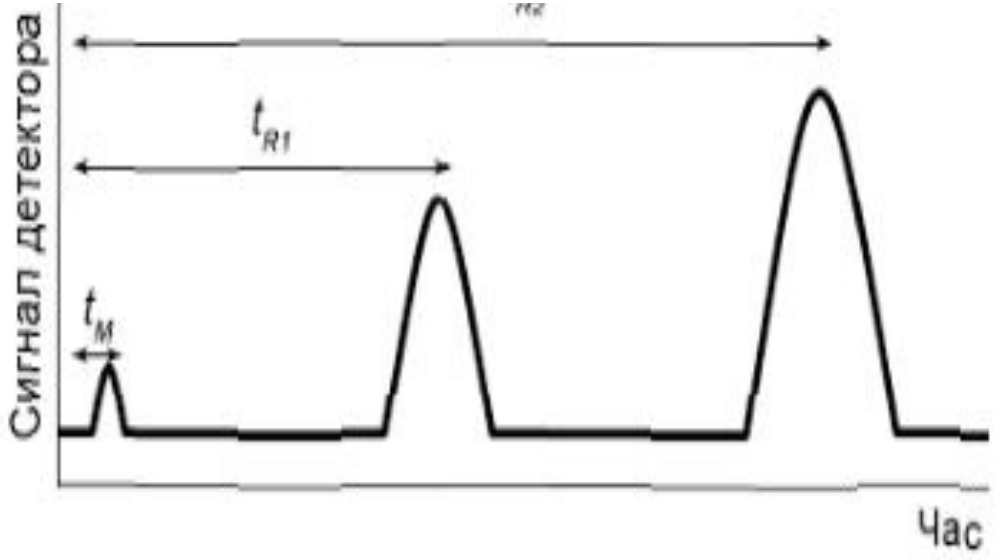
ГАЗОВА ХРОМАТОГРАФІЯ

Газова хроматографія - метод розділення летких сполук, що ґрунтується на розподілі речовини між двома фазами; одна з цих фаз є нерухомою, а друга – газ, який протікає через нерухому фазу.



Хроматограма

Хроматограма – графічний запис результатів хроматографічного аналізу.



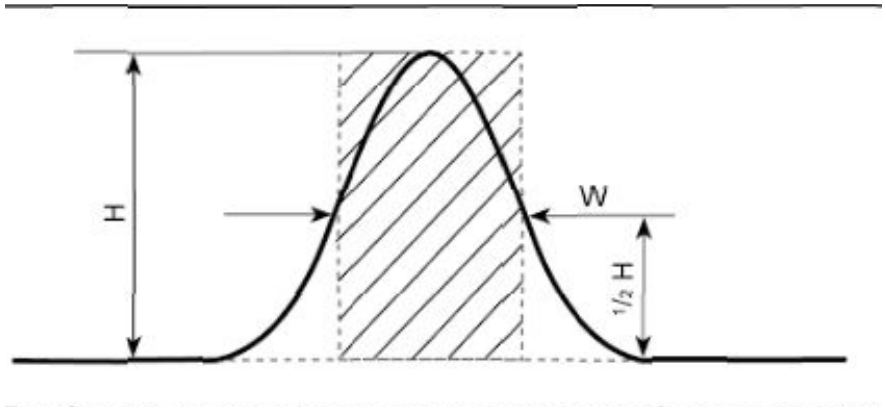
ІДЕНТИФІКАЦІЯ

- абсолютний час утримування – це час від моменту введення проби у хроматограф до моменту появи максимуму хроматографічного піка досліджуваної сполуки.
- абсолютна відстань на хроматограмі – це відстань від точки введення проби на хроматограмі до виходу максимуму хроматографічного піка по нульовій (базовій) лінії.
- абсолютний утримувальний об’єм – добуток абсолютного часу утримування і об’ємної швидкості газу-носія.

$$V_R = t_R * F$$

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

- метод абсолютного калібрування;
- метод внутрішнього стандарту;
- метод внутрішньої нормалізації.

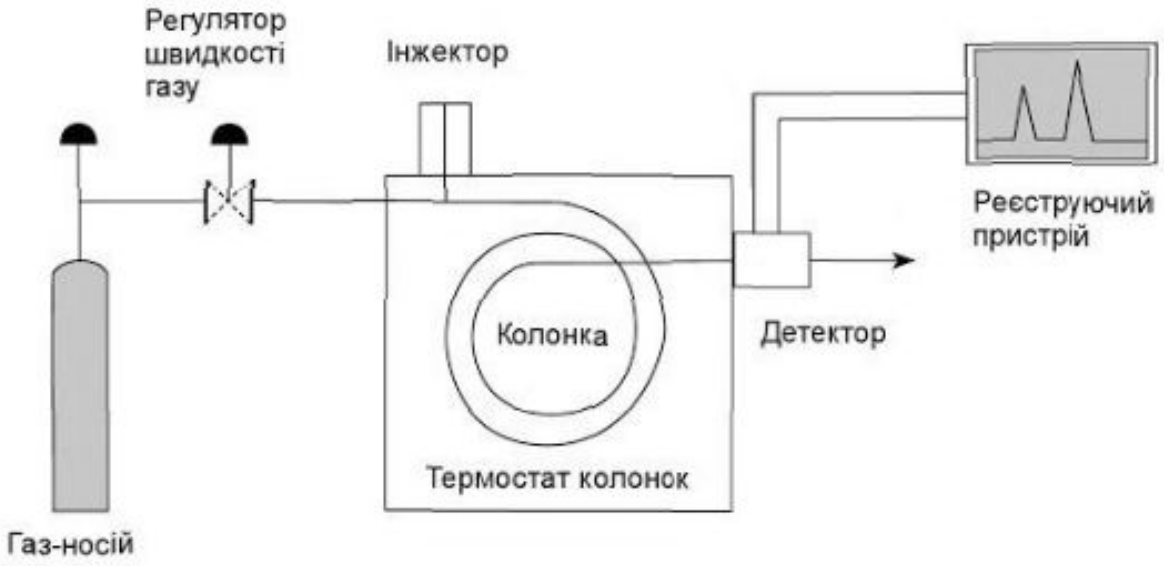


S=H*w

$$X_i, \% = \frac{k_i S_i}{\sum k_i S_i} 100\%,$$

ГАЗОВІ ХРОМАТОГРАФИ

- ✔ балон з газом-носієм;
- ✔ система витрати газу;
- ✔ інжектор:
- ✔ колонка;
- ✔ детектор;
- ✔ реєструючий пристрій;
- ✔ термостати для інжектора, колонки та детектора



Детектори:

- кататометр;
- полум’яно-іонізаційний

Твердий носій:

- велика питома поверхня;
- однаковий діаметр пор;
- інертний;
- механічно міцний;
- однорідний за формою і розмірами.

НЕРУХОМА ФАЗА

- селективна;
- хімічно інертна;
- хімічно стабільна;
- хімічно чиста;
- нев’язка;
- з низьким тиском пари.

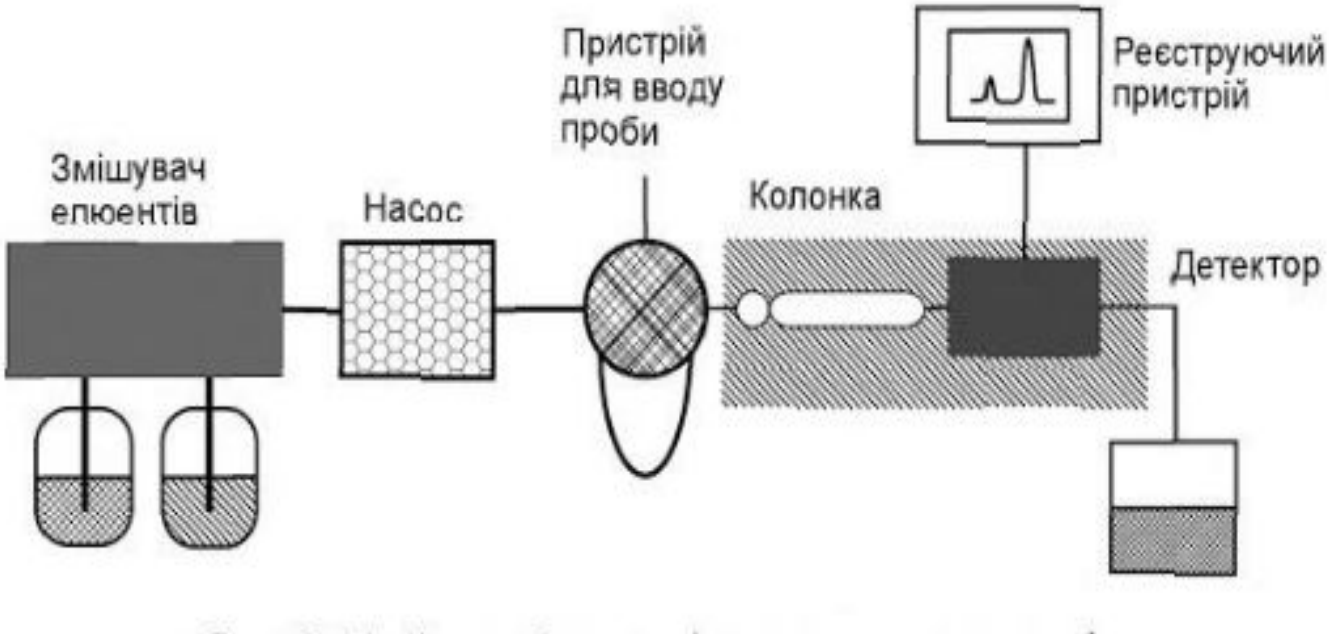
ВИСОКОЕФЕКТИВНА РІДИННА ХРОМАТОГРАФІЯ

ВЕРХ

Високоефективна рідинна хроматографія – це метод розділення речовин, у якому рухомою фазою є рідина, а нерухомою фазою – тонкодисперсна тверда речовина, або рідина, нанесена на твердий носій, або твердий тонкодисперсний носій, хімічно модифікований введенням органічних груп.

РІДИННИЙ ХРОМАТОГРАФ

- ✔ система подачі рухомої фази;
- ✔ блок вводи проби;
- ✔ хроматографічна колонка;
- ✔ детектор;
- ✔ реєструючий пристрій.



ДЕТЕКТОРИ

- диференційний рефрактометр;
- фотометричний;
- УФ-спектрофотометричний;
- люмінесцентний;
- кондуктометричний.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ РЕЧОВИН

- порівняння часу утримування досліджуваної речовини у пробі і розчині порівняння;
- порівняння відносного часу утримування досліджуваної речовини у пробі і розчині порівняння;
- порівняння хроматограми досліджуваної проби з хроматограмою розчину порівняння.