

Тонкослойная хроматография

Тонкослойная хроматография – один из наиболее распространенных методов хроматографического анализа

Предложен в 1938 г Н.А.Измайловым и М.С. Шрайбер

Носителем неподвижной жидкой фазы является специальная хроматографическая бумага. Неподвижной фазой считается жидкость, находящаяся в порах хроматографической бумаги.

Сорбент нанесён в виде тонкого слоя (закреплённого или незакреплённого) на пластинку, изготовленную из стекла, алюминиевой фольги, различных полимеров и т.д.

БХ

бумажная

тонкослойная

ТСХ

ПЛОСКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

ОСНОВЫ МЕТОДА

- **Неподвижные фазы** - тонкий слой мелкодисперсного адсорбента, нанесенного на стекло, алюминиевую или пластиковую пластинку, и закрепленного при помощи подходящего связующего материала.
- **Анализируемый образец** наносят на край хроматографической пластинки капилляром или микропипеткой.
- Пластинку опускают ее нижним краем в подходящий элюент.
- Под действием капиллярных сил растворитель поднимается вверх по пластинке, увлекая за собой компоненты анализируемой пробы.
- Скорости перемещения компонентов пробы будут неодинаковы, так их сродство к данному адсорбенту неодинаково.
- Каждый из компонентов пробы переместится вдоль пластинки на разное расстояние,
- Местоположение на пластинке определяют окрашиванием различными способами.
- Окрашивание разделенных зон различными способами на хроматографической пластинке называют *проявлением* хроматограммы.

Неподвижные фазы для ТСХ

- **Неподвижные фазы-адсорбенты** – силикагель, оксид алюминия, порошкообразная целлюлоза.
- **Механизм разделения** на неподвижных фазах-адсорбентах носит адсорбционный характер, т.е. различие в скоростях перемещения компонентов пробы определяется их различиями в адсорбционной способности.
- **Быстрее движутся** вдоль пластинки те вещества, адсорбционные свойства которых к данному сорбенту ниже, и наоборот.

Подвижные фазы для ТСХ

- В качестве подвижных фаз используют *элюенты*.
- Элюенты характеризуются *элюирующей силой*.
- Элюирующая сила элюента характеризует силу взаимодействия молекул элюента и неподвижной фазы.
- Взаимодействие элюента и неподвижной фазы приводит к вытеснению с поверхности неподвижной фазы адсорбированных соединений.
- Для *элюирования* соединений с большим сродством к неподвижной фазе необходимы элюенты с большей элюирующей силой.
- С увеличением полярности растворителя их элюирующая сила в отношении полярных неподвижных фаз (силикагеля, оксида алюминия) возрастает.
- Элюирующую силу оценивают при помощи специальной шкалы, называемой элюотропным рядом.
- В качестве подвижной фазы можно использовать одно соединение, либо двух-трехкомпонентную смесь. Смешанные подвижные фазы часто бывают более селективными, а, следовательно, более эффективными.

Получение хроматограмм

- На хроматографическую пластину на расстоянии 1 см от края карандашом наносят стартовую линию.
- На стартовую линию микропипеткой или капилляром наносят растворы анализируемых образцов. Диаметр стартового пятна должен быть небольшим (не более 2-5 мм).
- Пластины помещают в хроматографическую камеру - герметично закрытый стеклянный сосуд, на дно которого налит небольшой слой элюента.
- Камера должна быть насыщена парами элюента, для предотвращения испарения элюента с поверхности пластины.
- При установке пластины в камеру необходимо следить, чтобы точка нанесения пробы не касалась слоя элюента.
- Под действием капиллярных сил элюент начинает перемещаться вверх по пластинке.
- Хроматографирование прекращают, когда фронт элюента достигнет противоположного края пластины.

Способы получения хроматограмм

Способ	Сущность способа
<p data-bbox="144 311 471 382">восходящая хроматография</p> 	<p data-bbox="517 311 1850 625">Фронт подвижной фазы перемещается снизу вверх под действием капиллярных сил. Для получения хроматограммы используется наиболее простое оборудование - в качестве хроматографической камеры можно использовать любую емкость с плоским дном и плотно закрывающейся крышкой, в которую свободно помещается хроматографическая пластинка. Наиболее часто используемый способ получения хроматограмм.</p>
<p data-bbox="144 646 471 718">нисходящая хроматография</p> 	<p data-bbox="517 646 1850 875">Фронт подвижной фазы перемещается сверху вниз в основном под действием сил тяжести. Для получения нисходящей хроматограммы в верхней части хроматографической камеры крепится кювета с хроматографической системой, из которой с помощью фитиля на хроматографическую пластинку поступает растворитель.</p>
<p data-bbox="144 896 471 968">радиальная хроматография</p> 	<p data-bbox="517 896 1850 968">Исследуемое вещество наносится в центр пластинки. Фронт подвижной фазы перемещается от центра к краю пластинки</p>
<p data-bbox="144 1110 471 1182">двухмерная хроматография</p> 	<p data-bbox="517 1110 1850 1346">После получения хроматограммы проводится повторное разделение в направлении, перпендикулярном исходному, с использованием подвижной фазы другого состава. Часто используется в бумажной хроматографии, например, в фармакогнозии при изучении состава лекарственных растений.</p>

Проявление или детектирование хроматограммы

Физический способ.

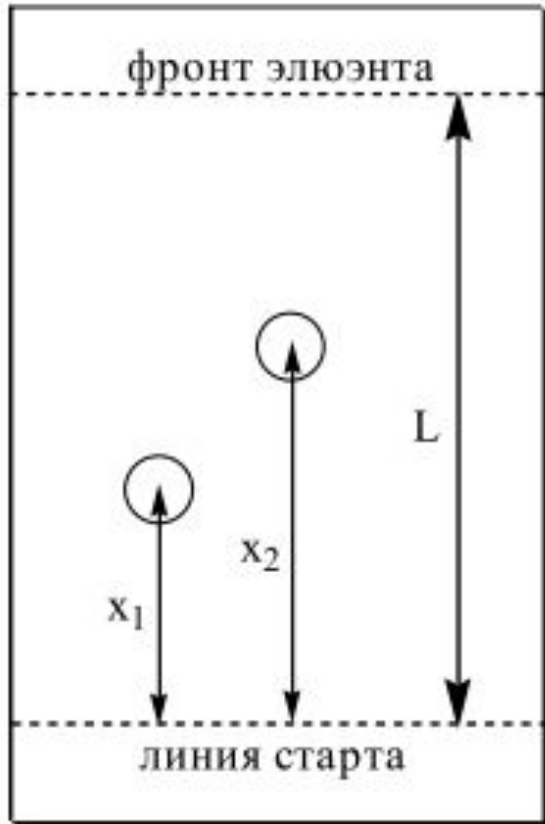
- Хроматограмму освещают ультрафиолетовой лампой. Зоны сорбента, где находятся разделенные компоненты пробы, начинают флуоресцировать, для четкого фиксирования положения пятен их следует обвести карандашом.
- Кроме того, на сегодняшний день промышленность выпускает пластинки, в тонкий слой сорбента которых добавлены флуоресцирующие вещества. Под действием ультрафиолетового света зоны хроматограммы, где находятся разделенные компоненты, проявляются как темные синие пятна, вследствие тушения флуоресценции.

Химический способ.

- Пластину опрыскивают реагентами, образующими с разделяемыми веществами окрашенные соединения.
- Применяют универсальные и специфичные реагенты.
- Универсальные реагенты – концентрированные растворы серной, азотной кислот, пары иода. Применяются для детектирования большинства органических соединений.
- Специфические реагенты образуют окрашенные продукты с соединениями определенного класса.

Идентификация веществ на хроматограмме

- Хроматографическим параметром определяемых веществ, применяемым в ТСХ для идентификации, является величина R_f .



$$R_f = \frac{x}{L}$$

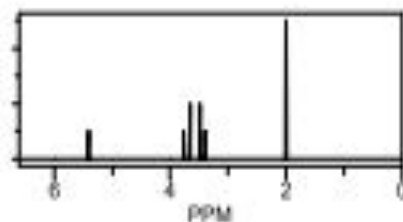
Идентификация веществ на хроматограмме

Хроматографирование в присутствии свидетеля

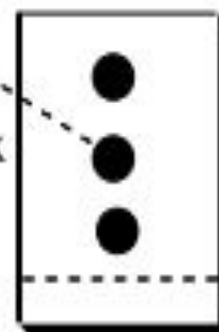
- Свидетель - стандартное вещество (т.е. точно известного строения), наличие которого предполагают в пробе.
- Пробу вещества свидетеля наносят на одну пластину с анализируемым образцом, и хроматографируют.
- При совпадении величин R_f вещества свидетеля и компонента анализируемой смеси, утверждают, что эти вещества могут быть идентичными.



окраска зоны вещества
либо появление окраски
при взаимодействии с
реагентом-проявителем



использование других
методов анализа

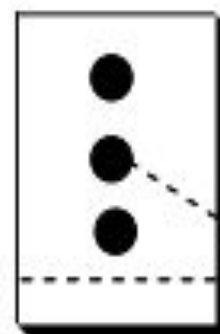


ОБНАРУЖЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВЕЩЕСТВ

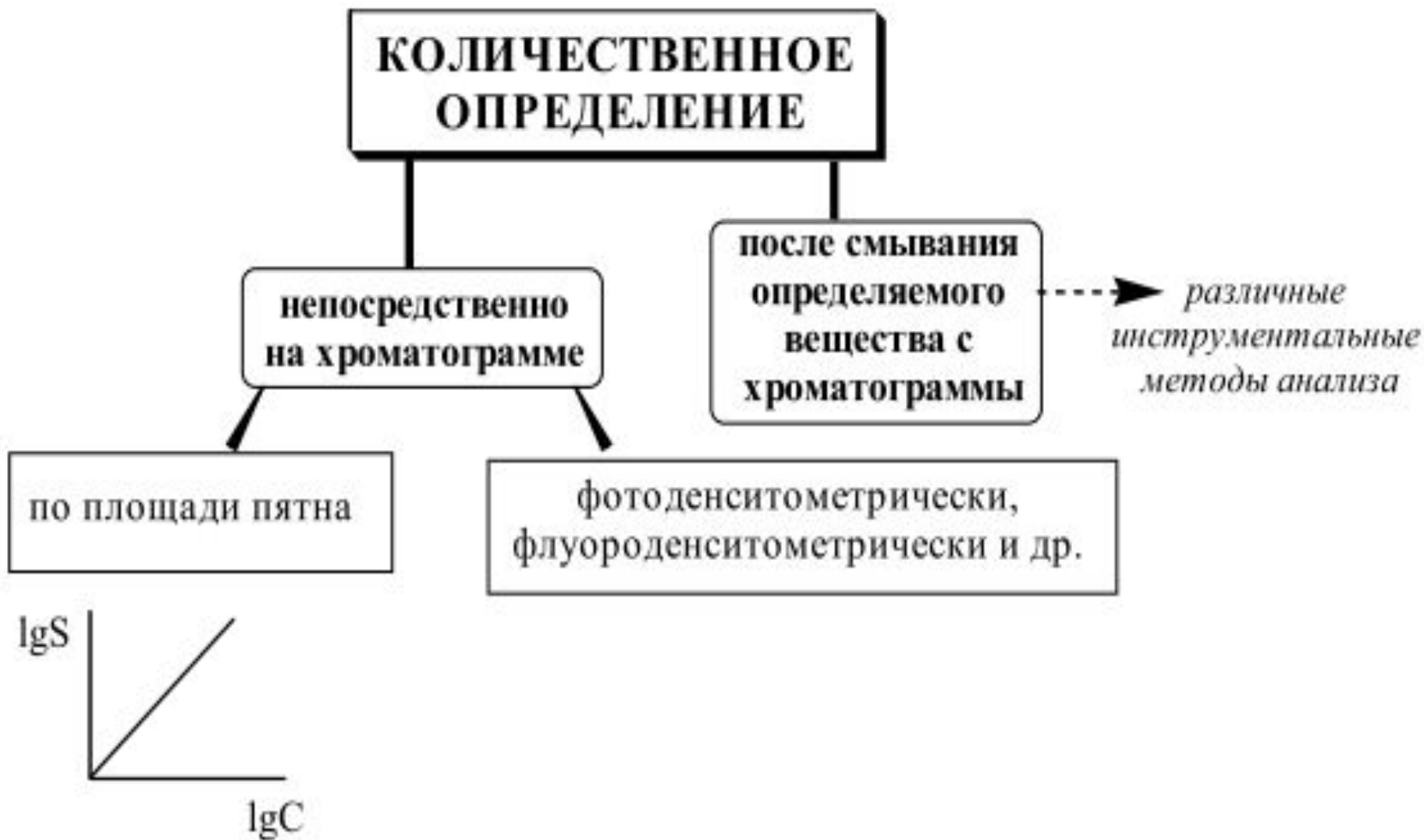


использование
стандартных
веществ

положение зоны
вещества (величина R_f)



Количественный анализ в ТСХ



Общая оценка метода

- Один из важнейших методов анализа в аналитической химии.
- Непревзойденный метод анализа сложных смесей, прост по методике, экспрессный, не требует больших количеств анализируемого вещества и сложной аппаратуры.
- Единственный метод обзорного анализа, применимый в самых разнообразных областях науки и производства.
- Позволяет проводить одновременный анализ нескольких проб на одной пластинке.

Метод позволяет:

- Разделять сложные смеси веществ.
- Оценивать однородность анализируемых веществ.
- Идентифицировать вещества в сложных смесях.
- Проводить количественные измерения веществ.