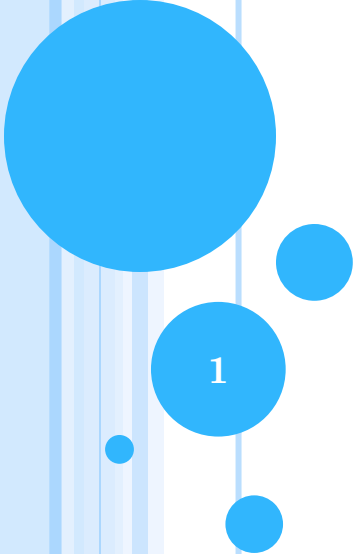




ХРОМАТОГРАФІЧНІ МЕТОДИ

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

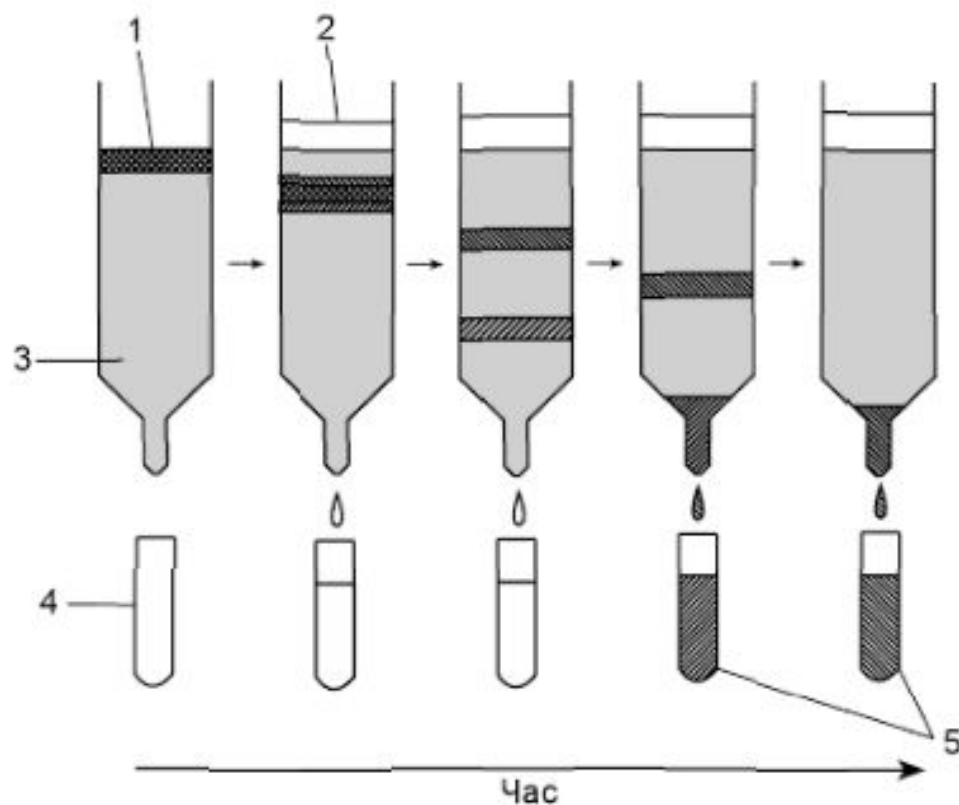
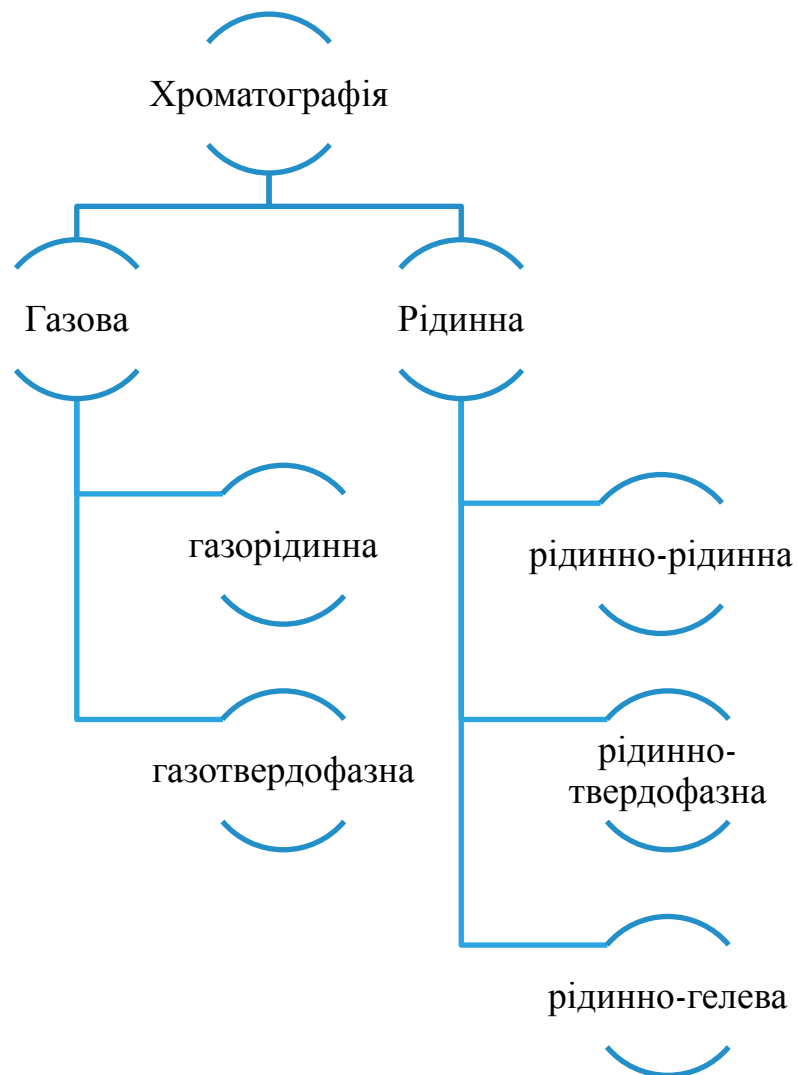


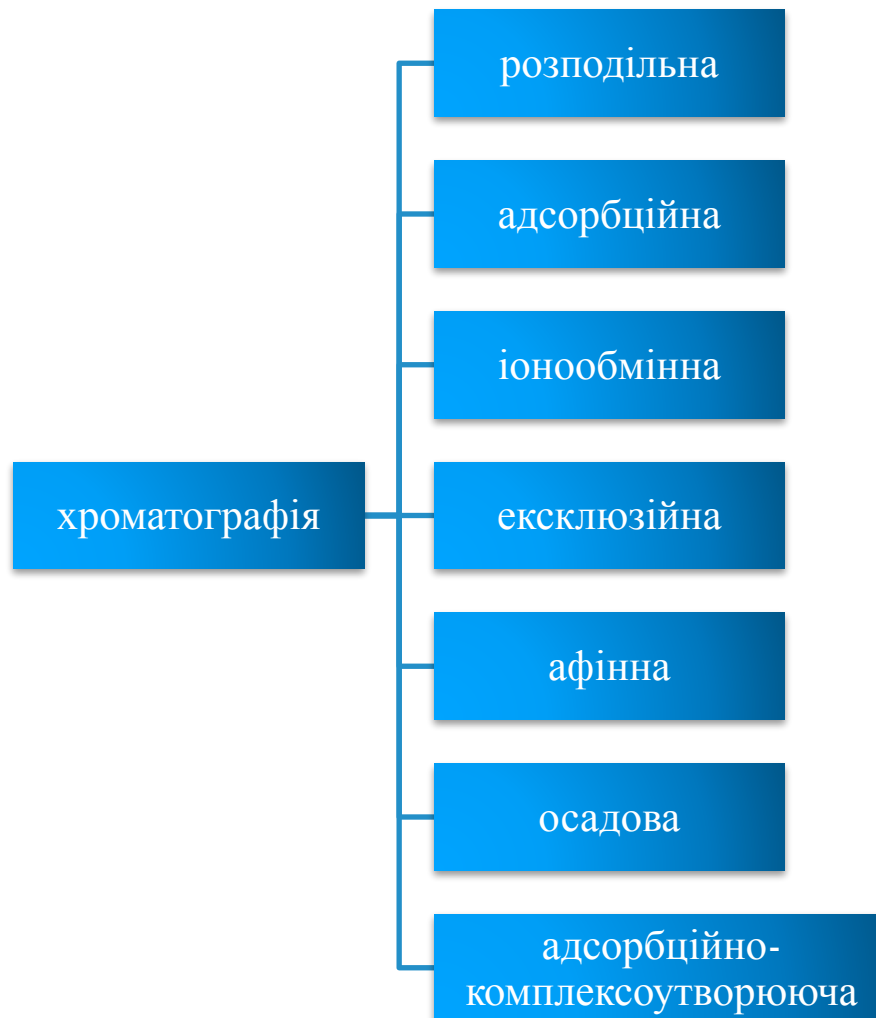
Рис. 3.29. Схема розділення компонентів у хроматографічній колонці:

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

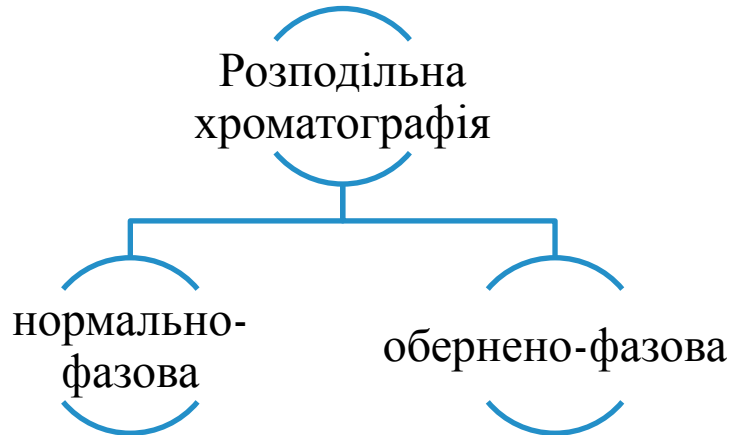
Назва методу	Принципи розділення речовин	Величини, які характеризують механізм розділення
Адсорбційна	Адсорбція	Коефіцієнт адсорбції
Розподільна	Розподіл	Коефіцієнт розподілу
Іонообмінна	Електростатична взаємодія і дифузія	Заряд іона, ефективний радіус іона, константа іонізації
Осадова	Розчинність	Добуток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

РОЗПОДІЛЬНА ХРОМАТОГРАФІЯ

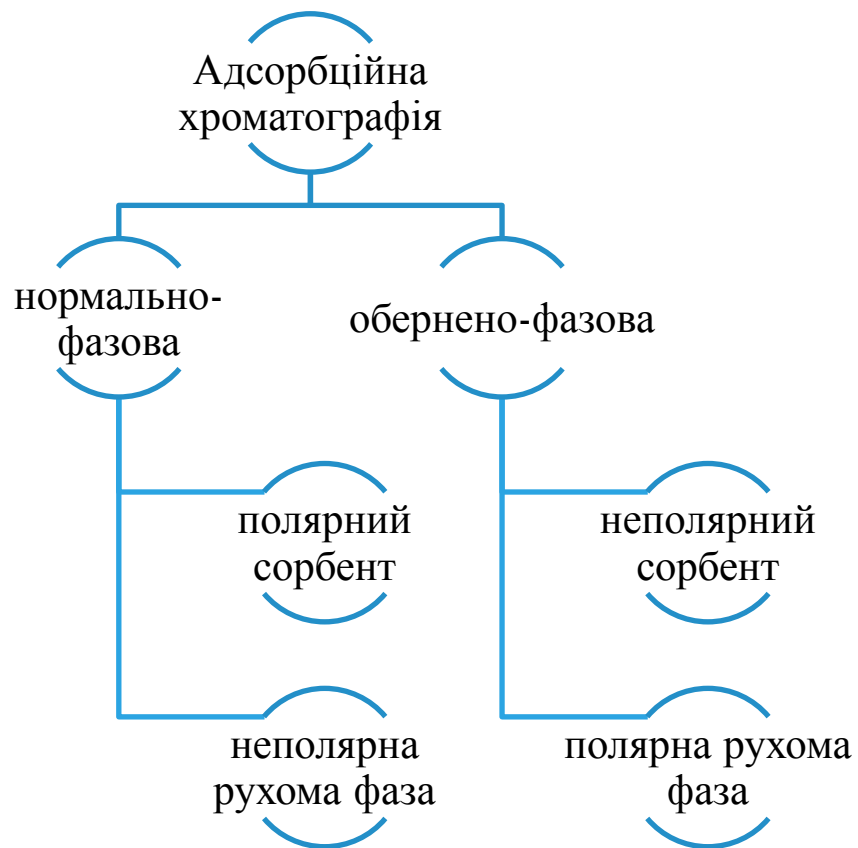
Коефіцієнт розподілу — відношення рівноважної концентрації досліджуваного компонента у нерухомій фазі до рівноважної концентрації того ж компонента у рухомій фазі.

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

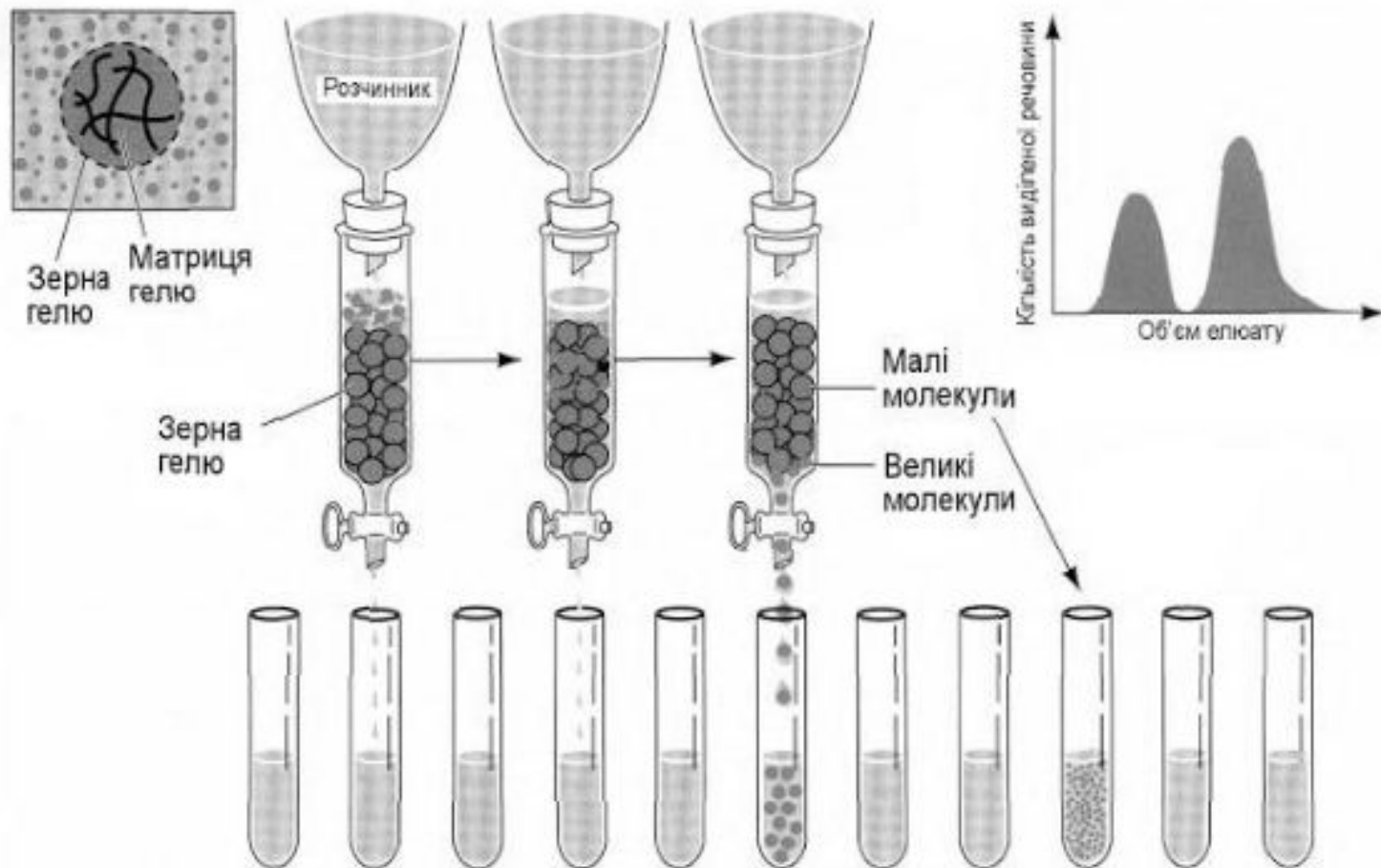
Рухома фаза повинна:

- 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 хроматографії, 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.

ЕКСКЛЮЗИЙНА ХРОМАТОГРАФІЯ

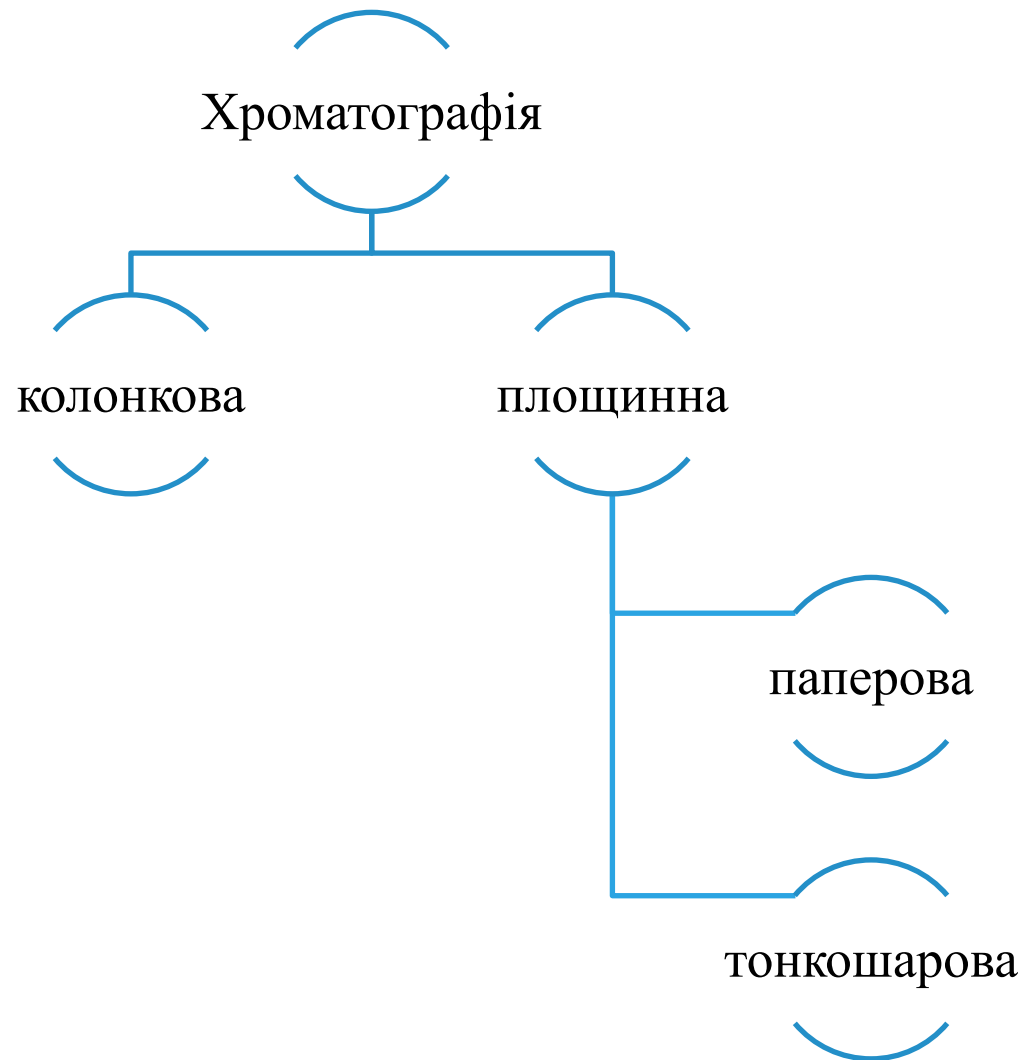


АФІННА ХРОМАТОГРАФІЯ

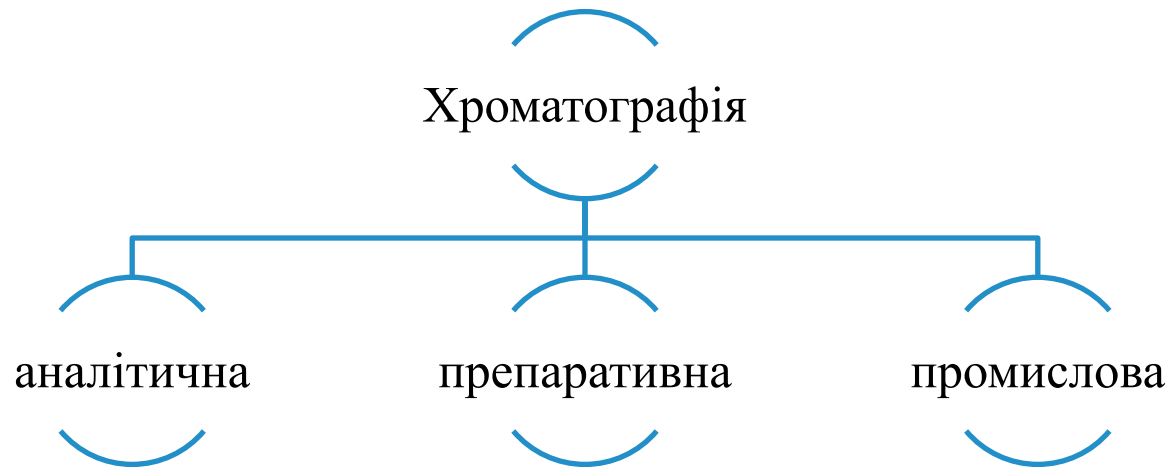
Взаємодії:

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

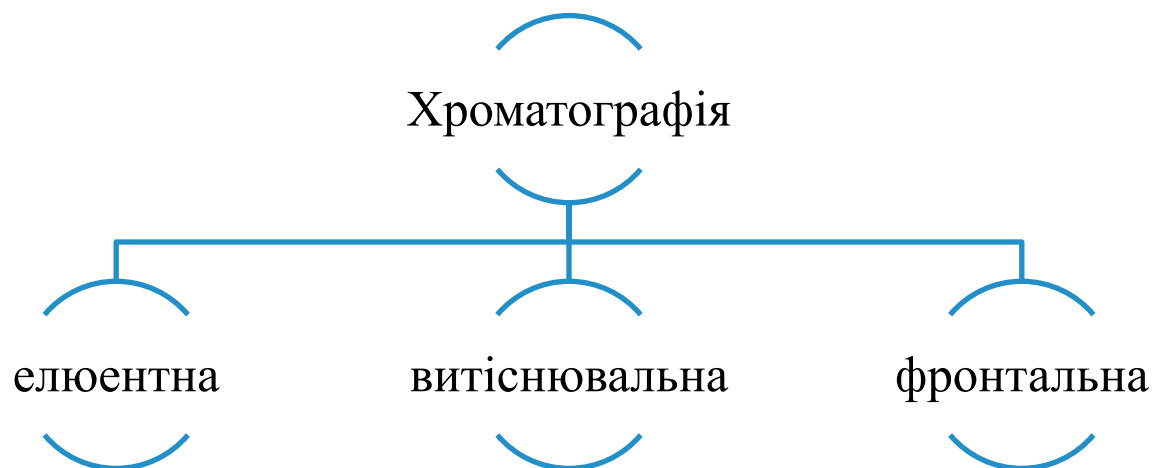
КЛАСИФІКАЦІЯ ЗА ТЕХНІКОЮ ВИКОНАННЯ



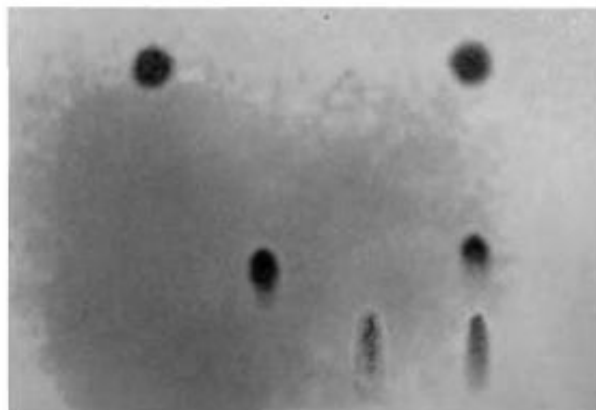
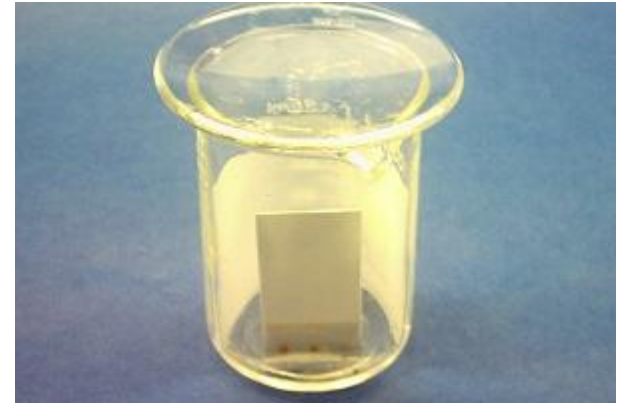
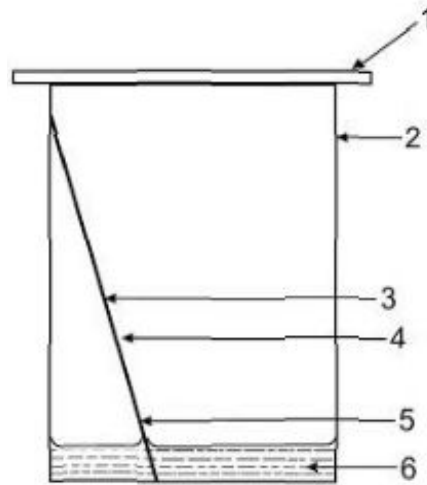
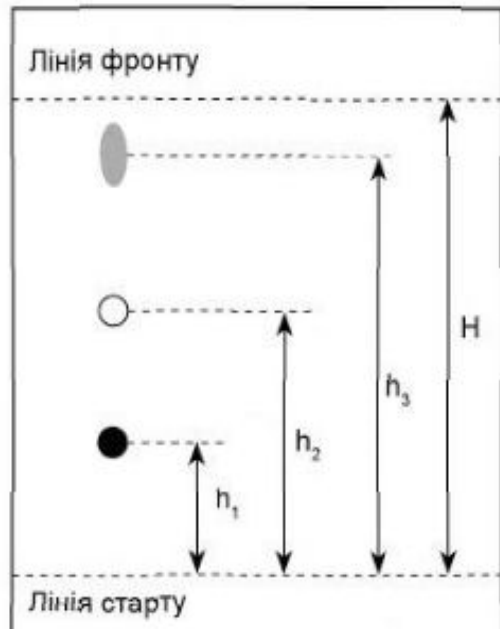
КЛАСИФІКАЦІЯ ЗА МЕТОЮ ХРОМАТОГРАФУВАННЯ



КЛАСИФІКАЦІЯ ЗА СПОСОБОМ ОТРИМАННЯ ХРОМАТОГРАМ



ТОНКОШАРОВА ХРОМАТОГРАФІЯ



1 2 3 4

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

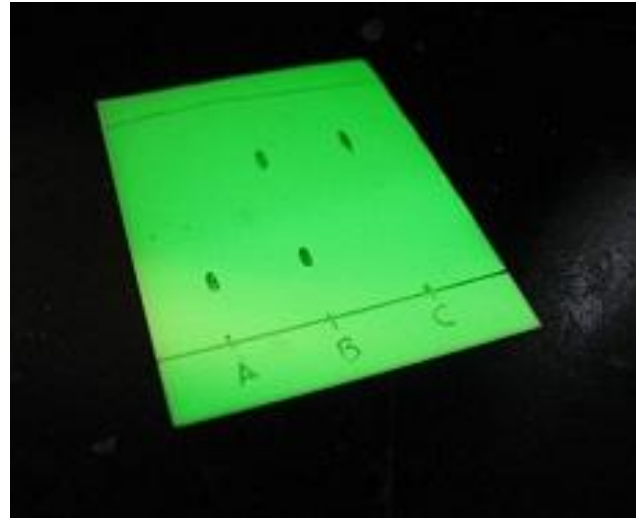
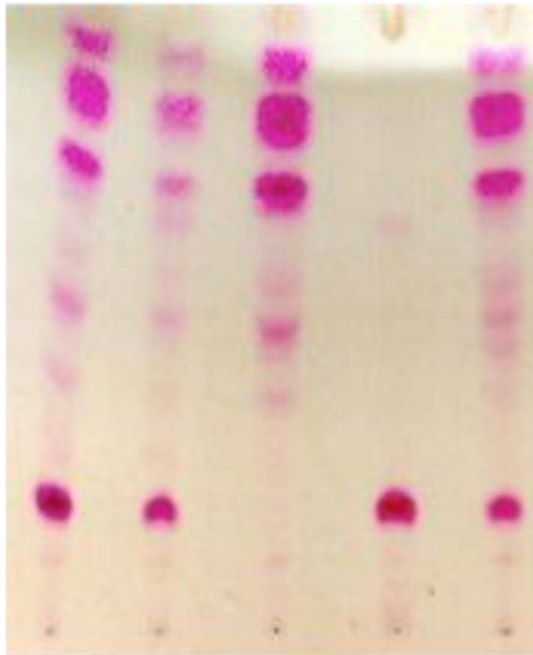
СПОСОБИ ХРОМАТОГРАФУВАННЯ



ДЕТЕКТУВАННЯ

- флуоресцентне;
- реагентне;
- обвуглювання.

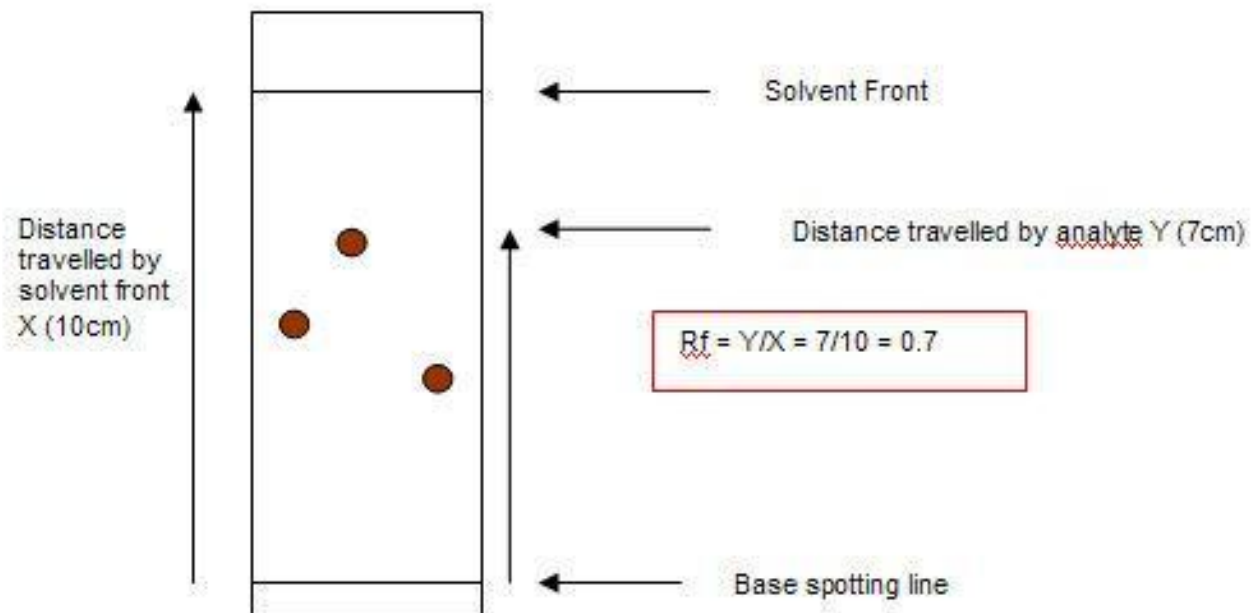
Lipids sprayed with H_2SO_4 in ethanol



ЯКІСНИЙ АНАЛІЗ

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

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



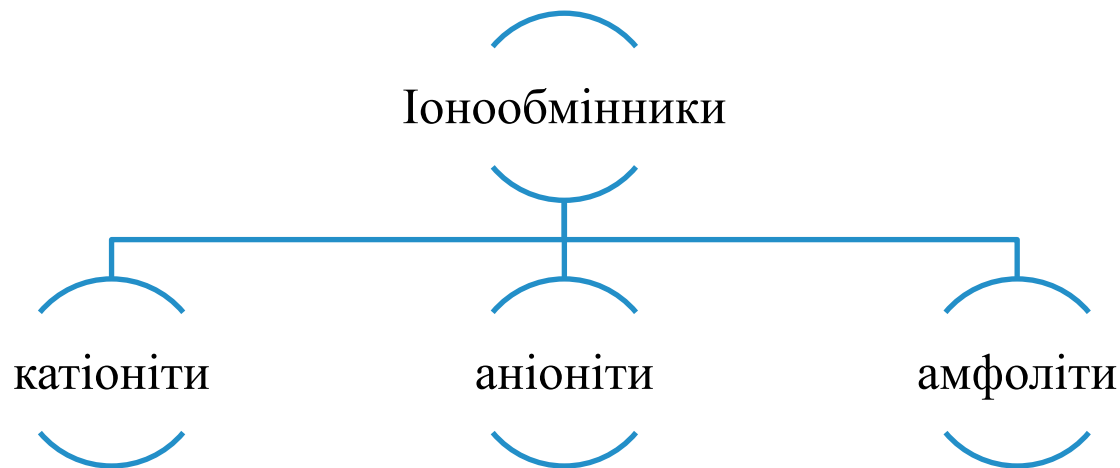
ОСАДОВА ХРОМАТОГРАФІЯ

Носії:

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

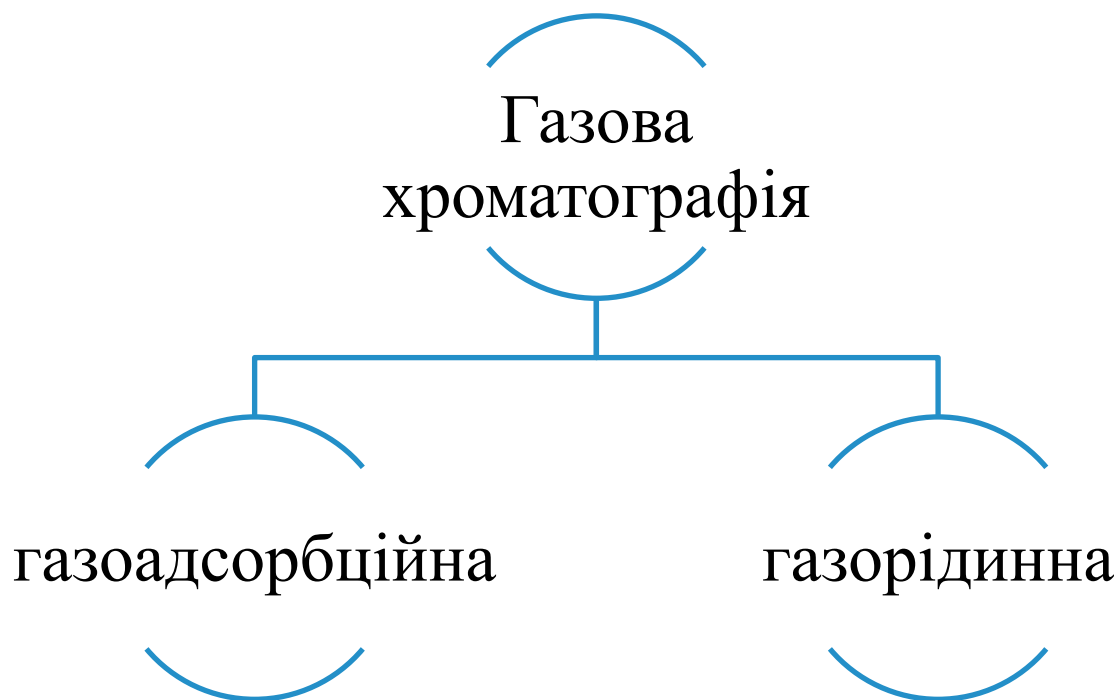
ІОНООБМІННА ХРОМАТОГРАФІЯ

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



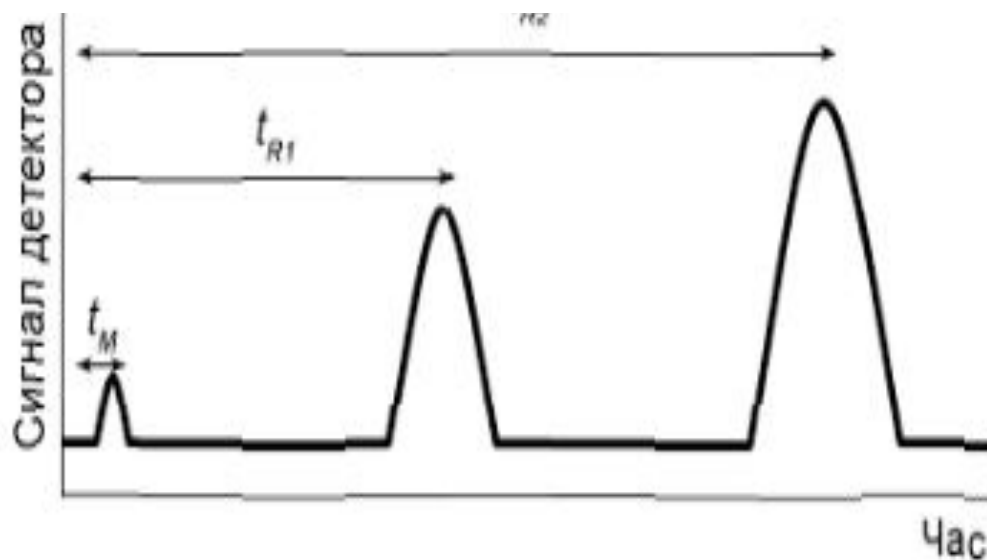
ГАЗОВА ХРОМАТОГРАФІЯ

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.



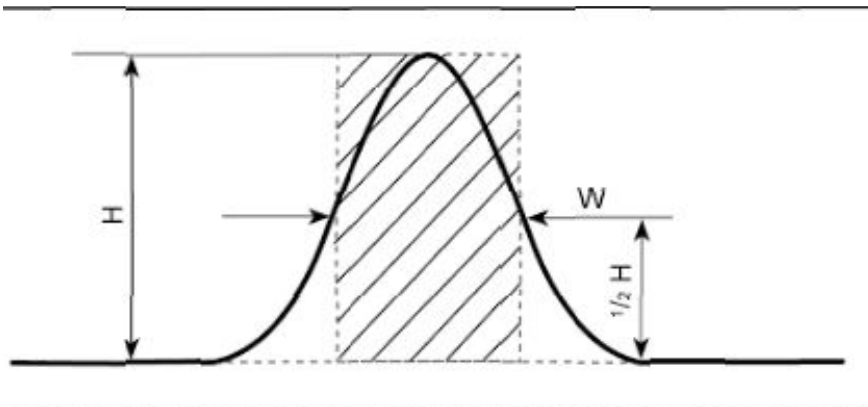
ІДЕНТИФІКАЦІЯ

- 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.

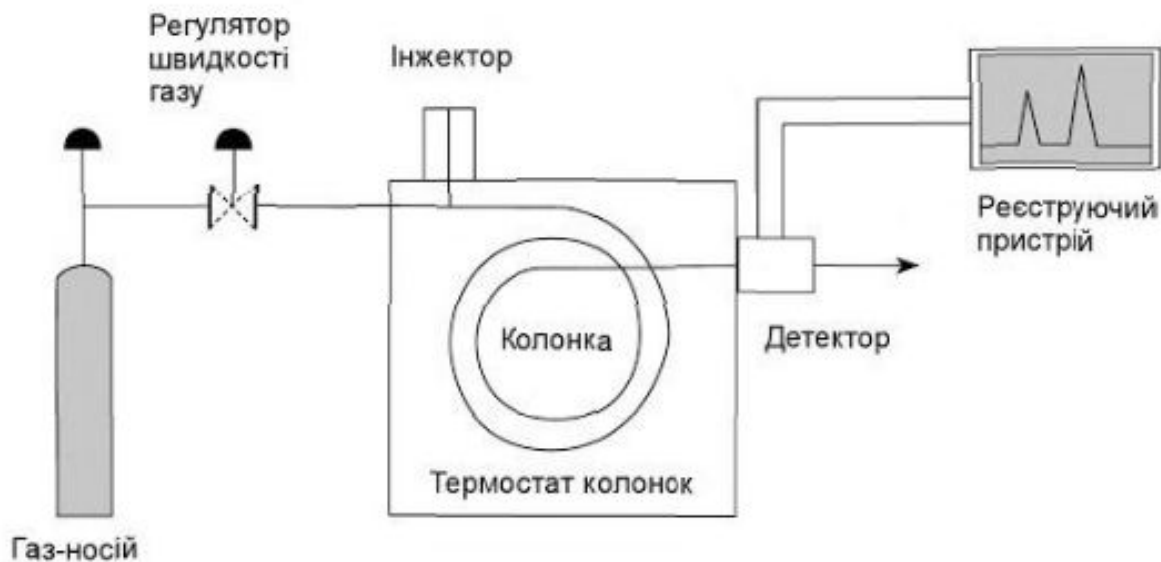


$$S = H \cdot W$$

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

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

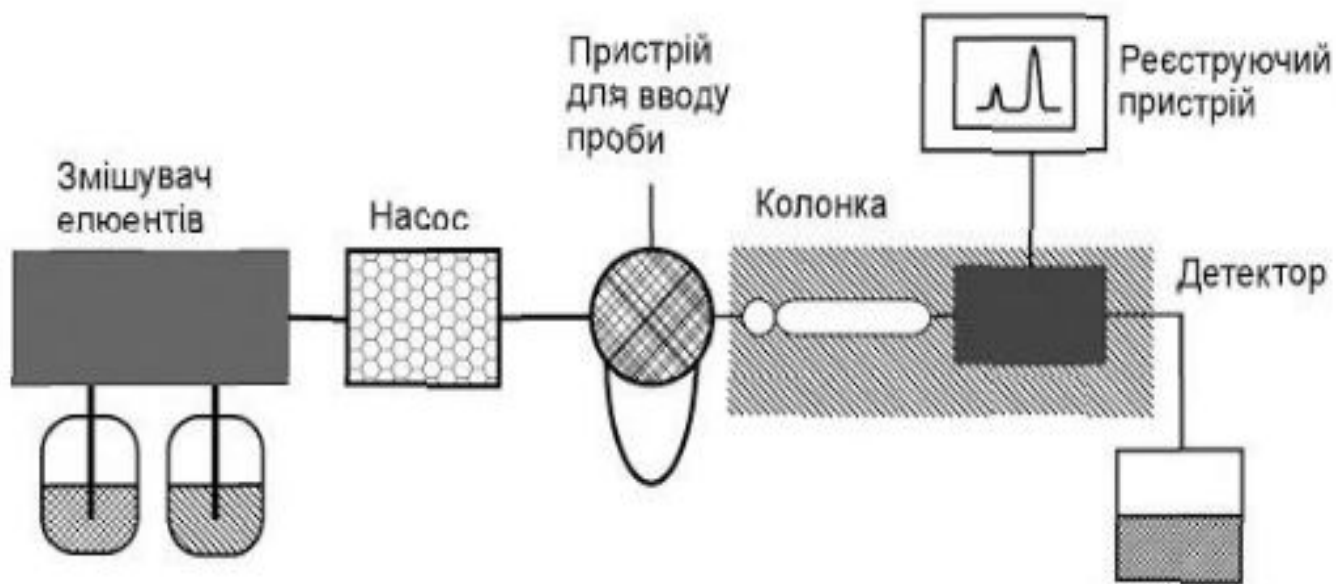
- селективна;
- хімічно інертна;
- хімічно стабільна;
- хімічно чиста;
- нев'язка;
- з низьким тиском пари.

ВИСОКОЕФЕКТИВНА РІДИННА ХРОМАТОГРАФІЯ ВЕРХ

Високоєфективна 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.