

The background features a light blue gradient with several semi-transparent, glowing blue spheres of varying sizes. Overlaid on this are faint, dark blue chemical structures, including benzene rings and other organic molecules. In the lower right, there is a white, curved banner containing text.

# **Аналитическая химия**

**6 семестр, Лекция 20.**

**Модуль 3. Хроматография и другие методы анализа.**

# **Хроматография на плоскости (планарная).**

- 1. Тонкослойная хроматография (ТСХ). Сорбенты. Растворители для ТСХ.**
- 2. Получение и обработка хроматограмм в ТСХ.**
- 3. Качественный анализ в ТСХ.**
- 4. Количественный анализ в ТСХ.**
- 5. Бумажная хроматография.**

**Планарная хроматография** – раздел хроматографии, в котором разделение веществ проходит на открытом слое сорбента.

Планарная  
хроматография

Тонкослойная  
(ТСХ)

Бумажная  
(БХ)

# Тонкослойная хроматография (ТСХ)



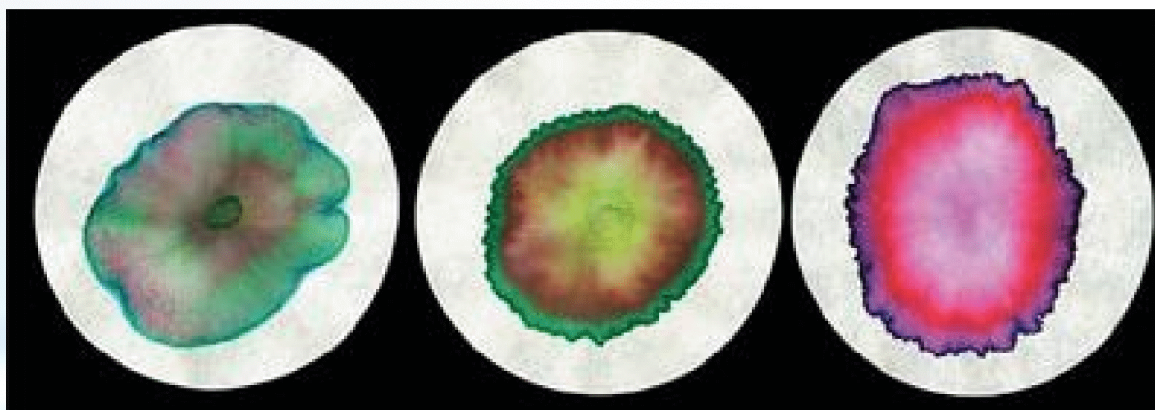
Николай Аркадьевич  
Измайлов  
22.06.1907—2.10.1961

Н.А.Измайлов, М.С. Шрайбер. Капельно-хроматографический анализ и его применение в фармации, Фармация, 1938, №3.С. 1 – 7.

Н.А. Измайлов и М.С. Шрайбер: открытие тонкослойной хроматографии / Составитель и научный редактор В.Г. Березкин. – М.:ГЕОС, 2007. – 128 с. -

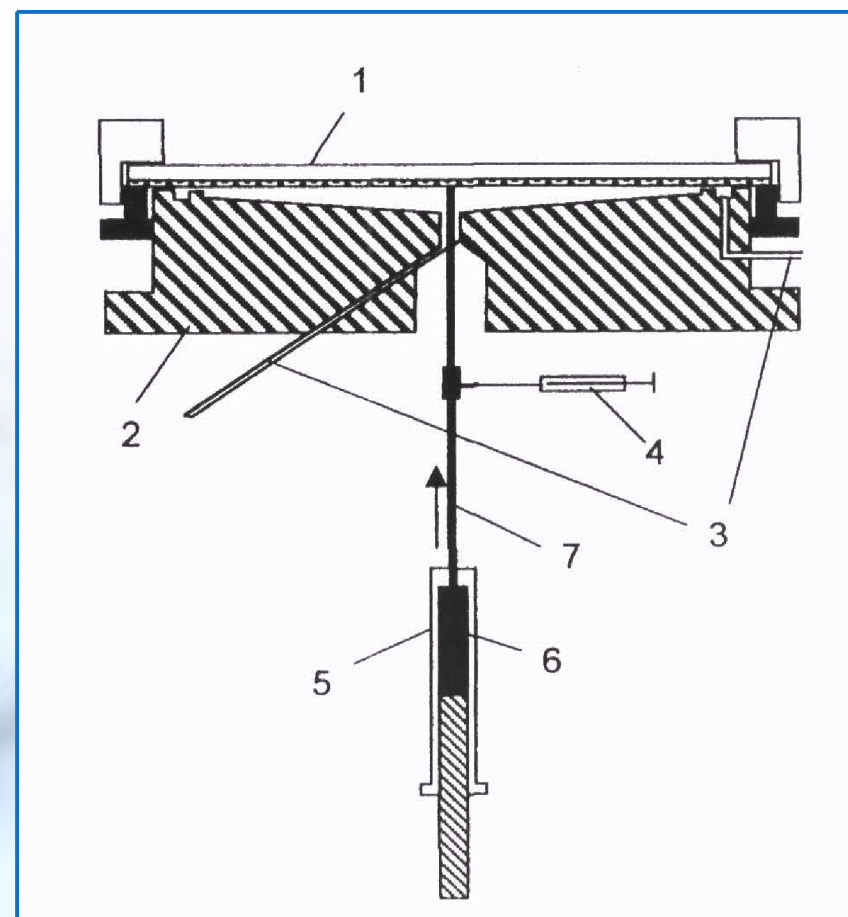
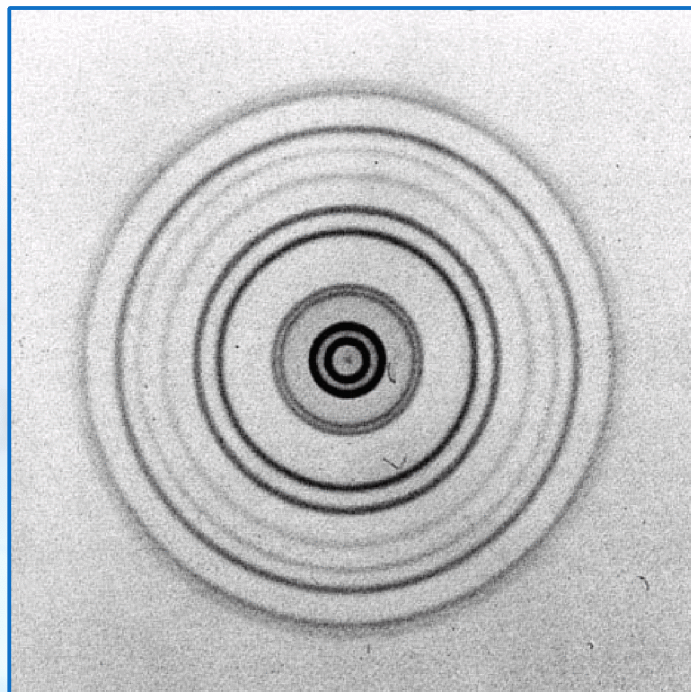
- отчет о воспроизведении первой работы по ТСХ в современной лаборатории.

# Радиальные хроматограммы на плоскости



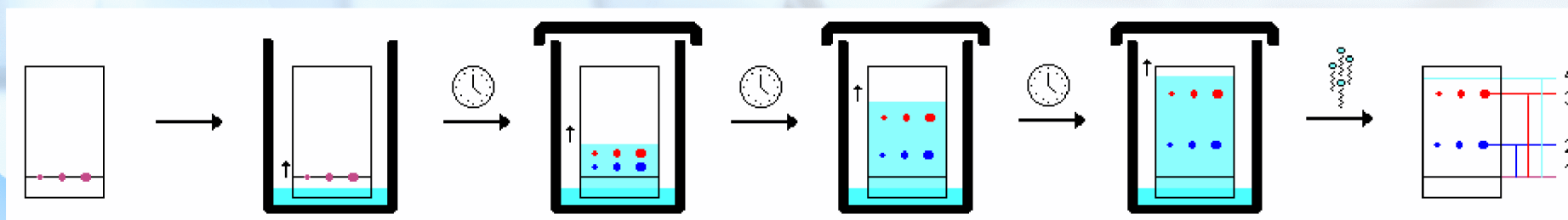
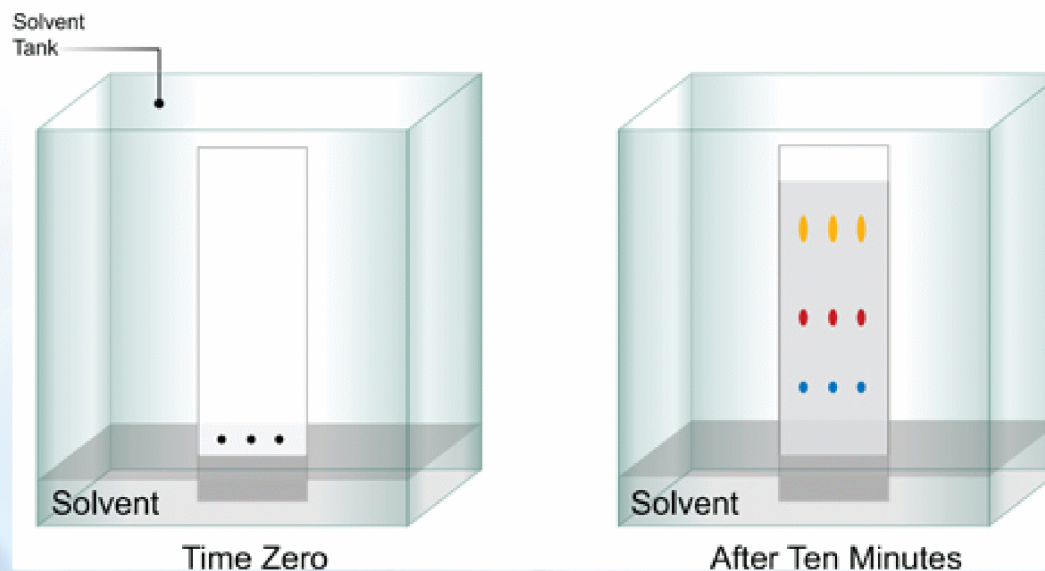
# Планарная хроматография

## Центробежная хроматография



- 1) Пластика
- 2) Держатель пластики
- 3) Система продувки
- 4) Система ввода пробы
- 5) Поршневой насос
- 6) Подвижная фаза
- 7) Капилляр

# Восходящее хроматографирование в ТСХ



# Тонкослойная хроматография. Материал основы сорбентов

Силикагель

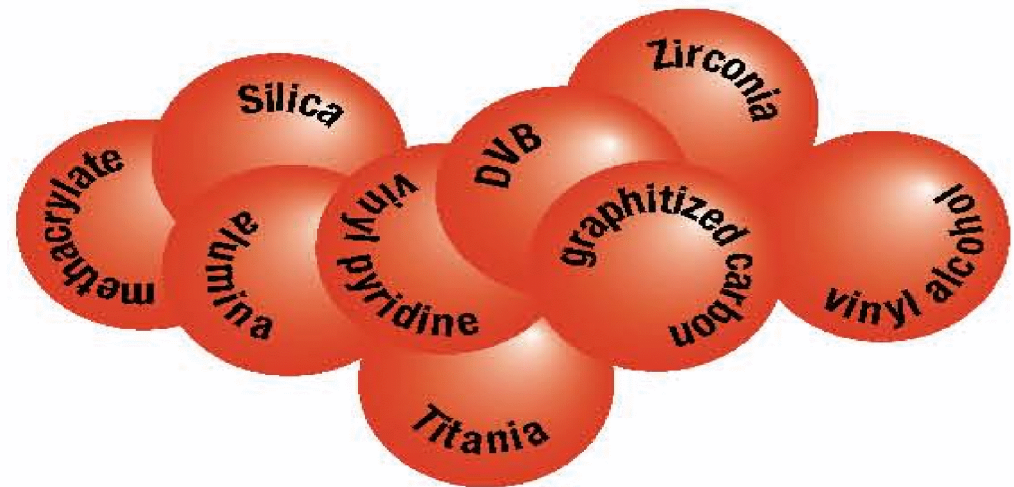
Оксид алюминия

Целлюлоза

Оксид циркония

Оксид титана

Ионообменные смолы



**Хроматографические системы  
в ТСХ**

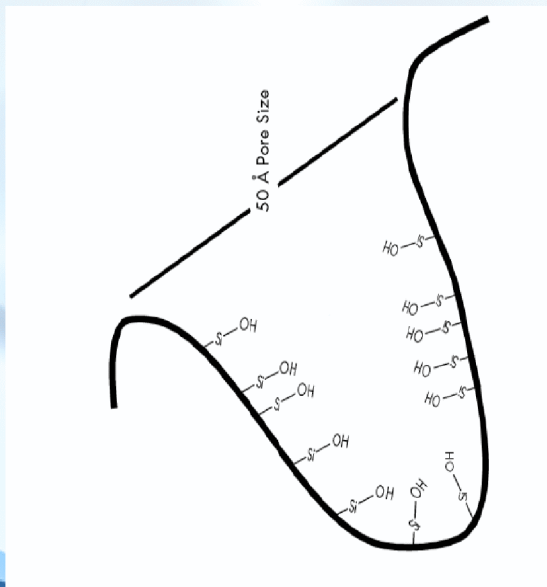
**Жидкость – твердый сорбент**

**Жидкость – жидкость –  
твердый сорбент**



# Тонкослойная хроматография.

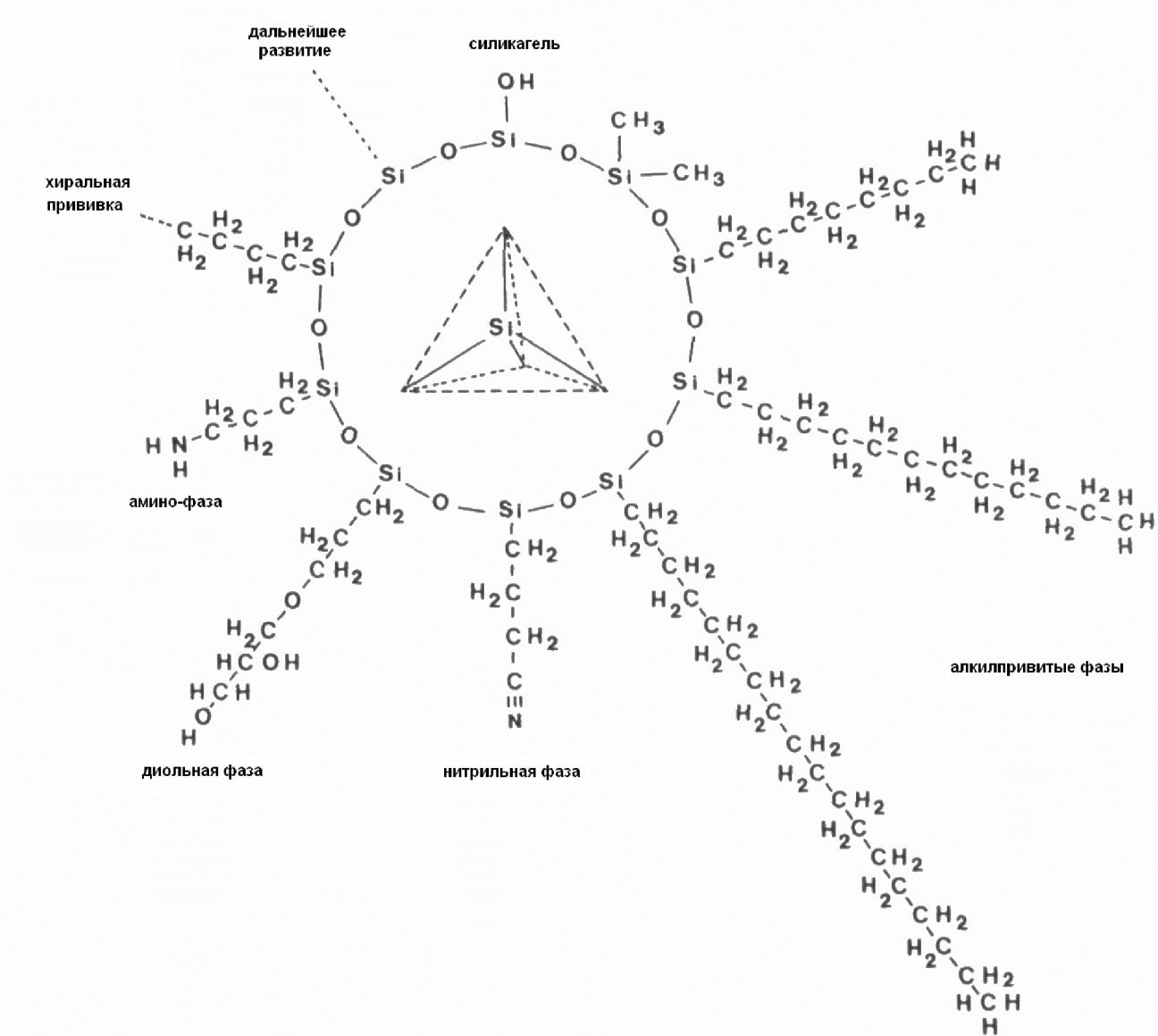
## Силикагель



Реально поверхность силикагеля не плоская, а пористая

Чистый силикагель используется как сорбент в нормально-фазовой хроматографии

# Силикагель и сорбенты на его основе



# Сорбенты для ТСХ

**Оксид алюминия** – основной адсорбент; используется для разделения соединений слабоосновного и нейтрального характера. ОБЛАДАЕТ ВЫСОКОЙ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

**Кизельгур** – диатомитовая земля. Аналог силикагеля, но с более низкой сорбционной способностью

**Кремнекислый магний** – менее полярный, чем силикагель. Используется в тех случаях, когда полярные адсорбенты не дали приемлемого разделения

**Целлюлоза** – используется для разделения аминокислот и сложных органических молекул.

**Ионообменные смолы** – используются для разделения высокомолекулярных и амфотерных соединений

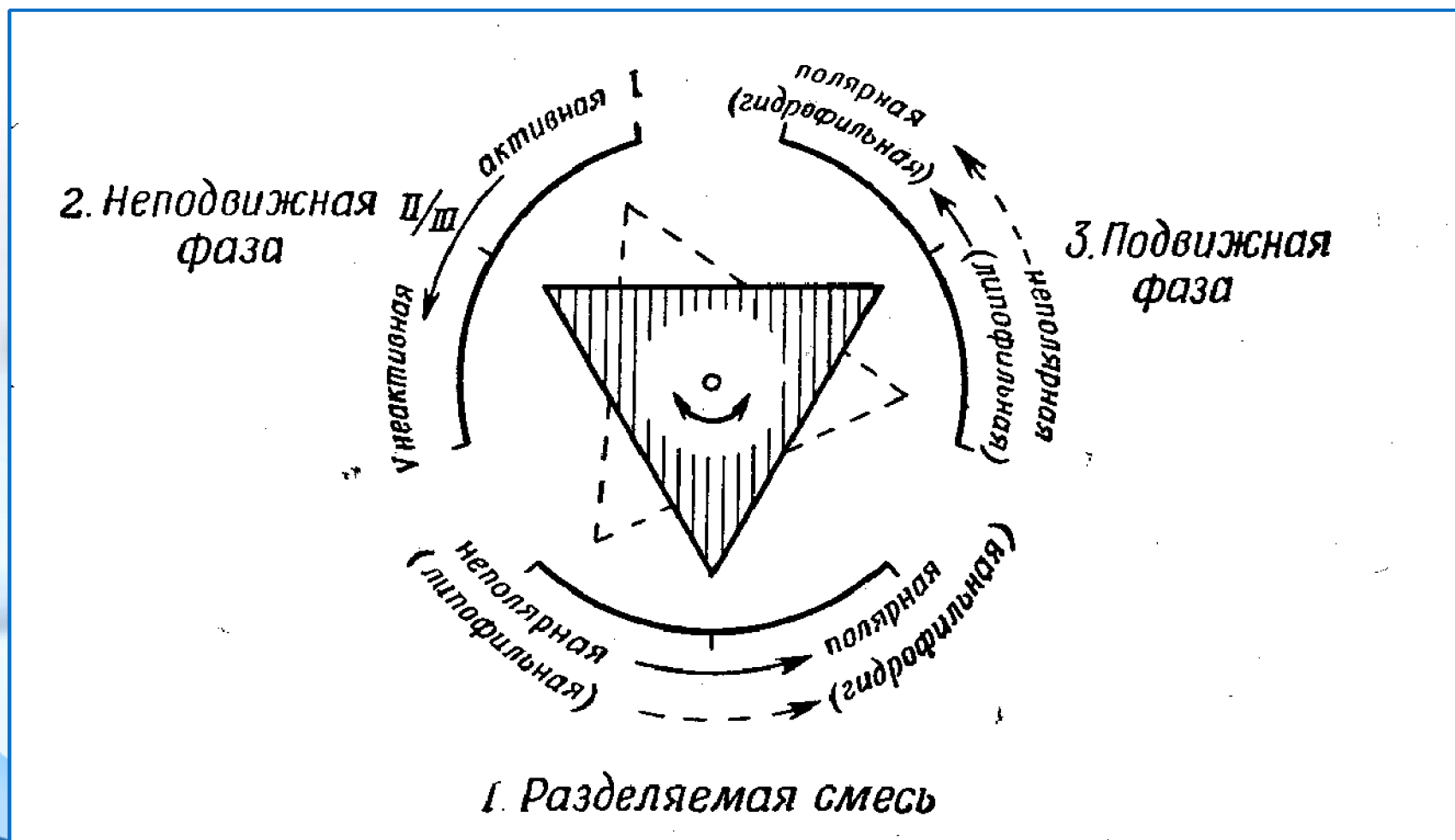
Тальк, сульфат кальция, крахмал, карбонат кальция ....

# Растворители для ТСХ

Правила подбора подвижной фазы:

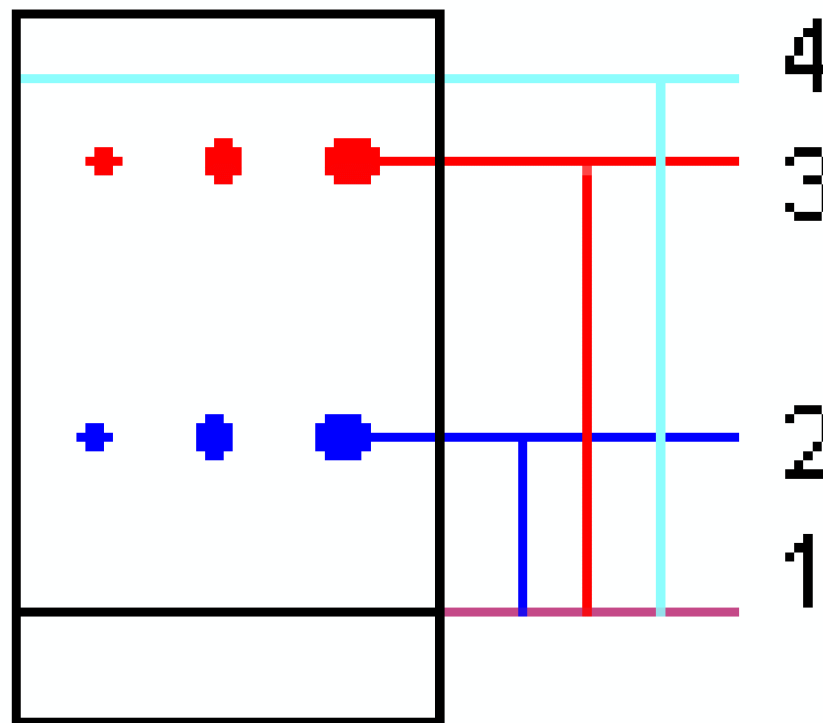
- 1) Выбирают такую систему, в которой разделяемые компоненты имеют наибольшую растворимость
- 2) Состав подвижной фазы должен быть постоянным и легко воспроизводимым
- 3) Растворитель или компоненты системы не должны быть ядовитыми или дефицитными
- 4) Системы должна разделять вещества близкого строения
- 5) Система не должна вызывать химические изменения разделяемых компонентов
- 6) Система растворителей должна обеспечивать разделение веществ во всем диапазоне фактора удерживания  $R_f$

# Выбор неподвижной и подвижной фазы по Шталю



# Получение и обработка хроматограмм в ТСХ

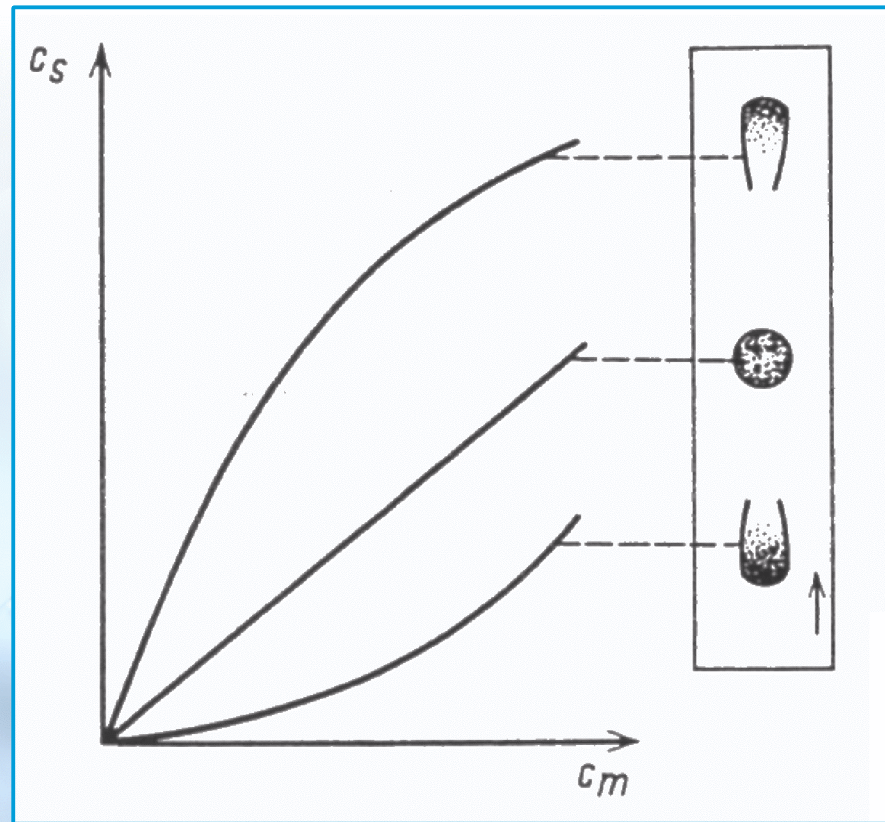
## Хроматограмма в ТСХ



# Тонкослойная хроматография.

## Связь изотермы сорбции с формой хроматографического пятна

$$D = \frac{dC_S}{dC_M}$$

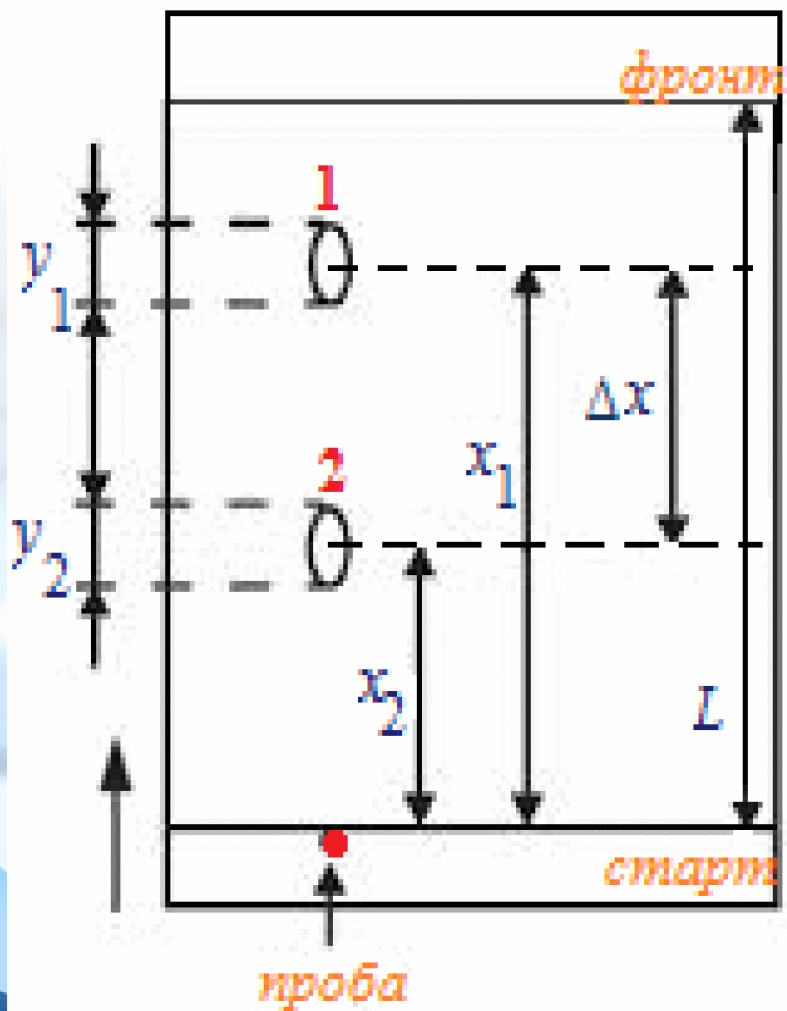


**б** ( $D \downarrow$ )

**а** ( $D = const$ )

**в** ( $D \uparrow$ )

# Параметры ТСХ-разделения



Фактор удерживания,  $R_f$

$$R_f = \frac{x_i}{L}$$
$$R_f = [0 ; 1]$$
$$R_f^{opt.} = [0.2 ; 0.8]$$

Эффективность  
ТСХ-разделения

$$N = 16 \left( \frac{x}{y} \right)^2$$
$$H = \frac{L}{N} = \frac{L}{16} \left( \frac{y}{x} \right)^2$$

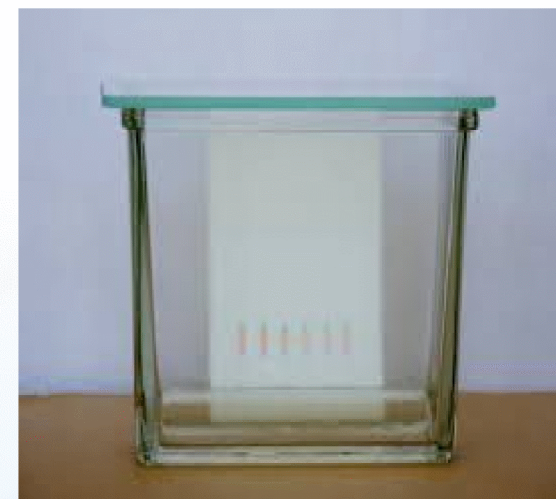


# Техника ТСХ.

## Линейный вариант хроматографирования

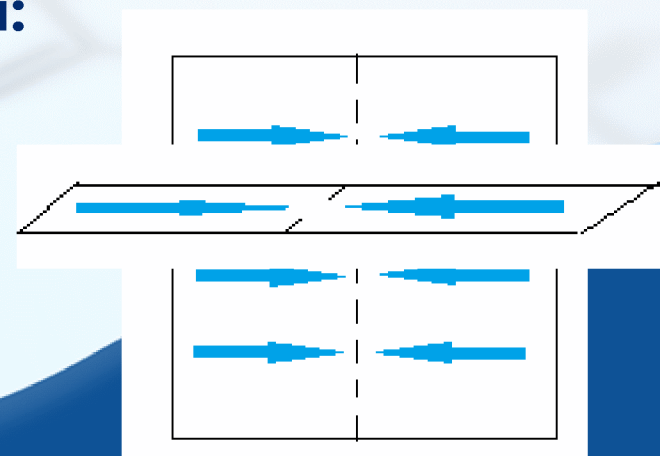
- **Вертикальное положение пластинки:**

- **восходящая ТСХ;**
- нисходящая ТСХ;

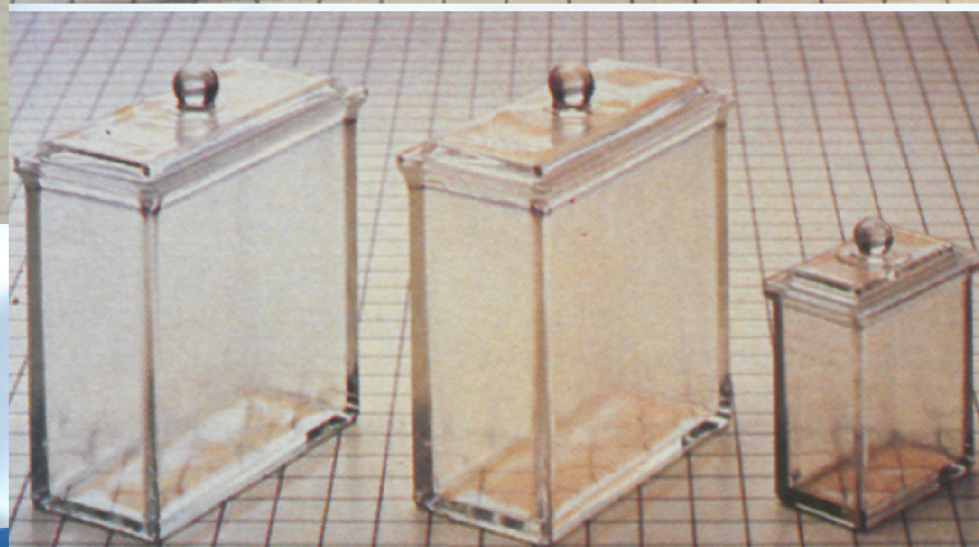
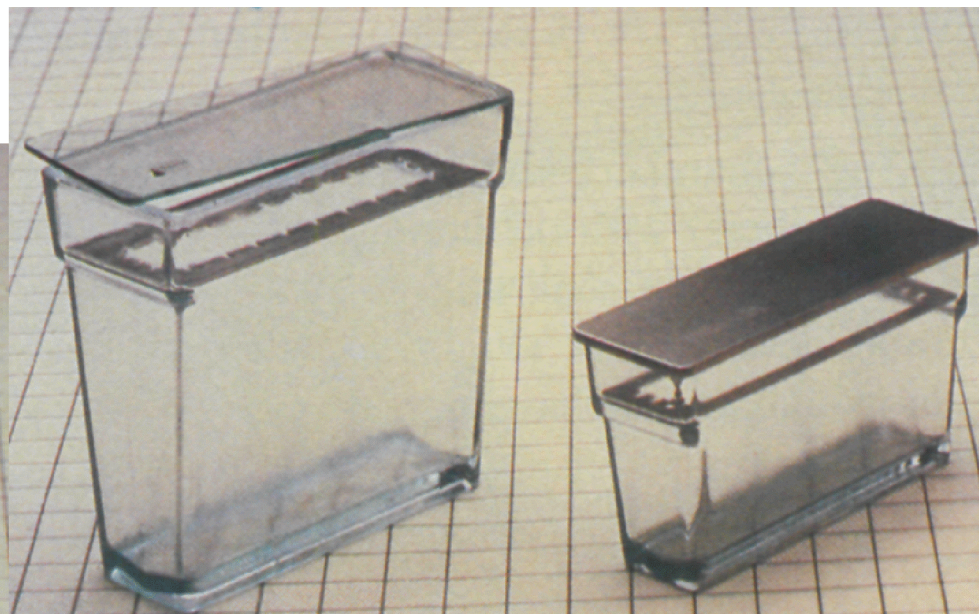
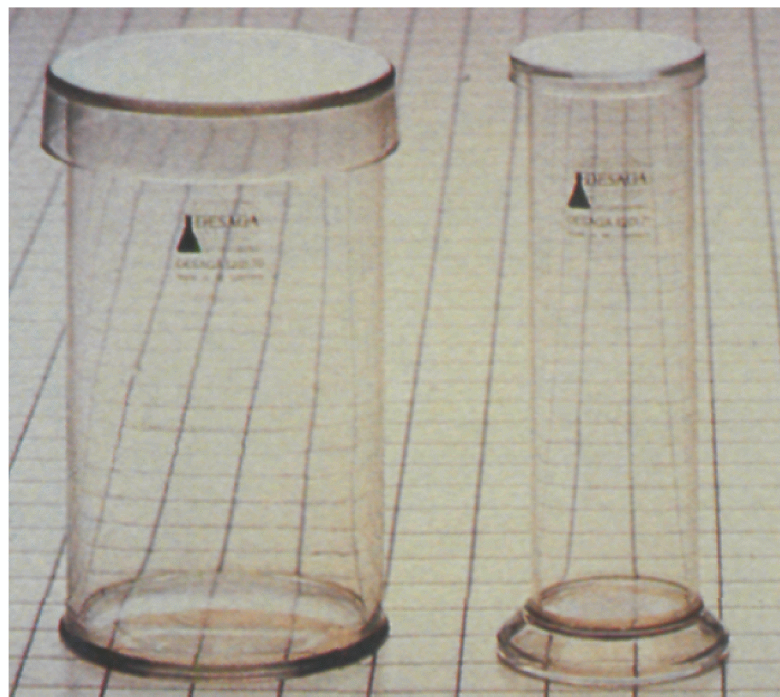


- **Горизонтальное положение пластинки:**

- с подачей элюента с одной стороны;
- с подачей элюента с обеих сторон.

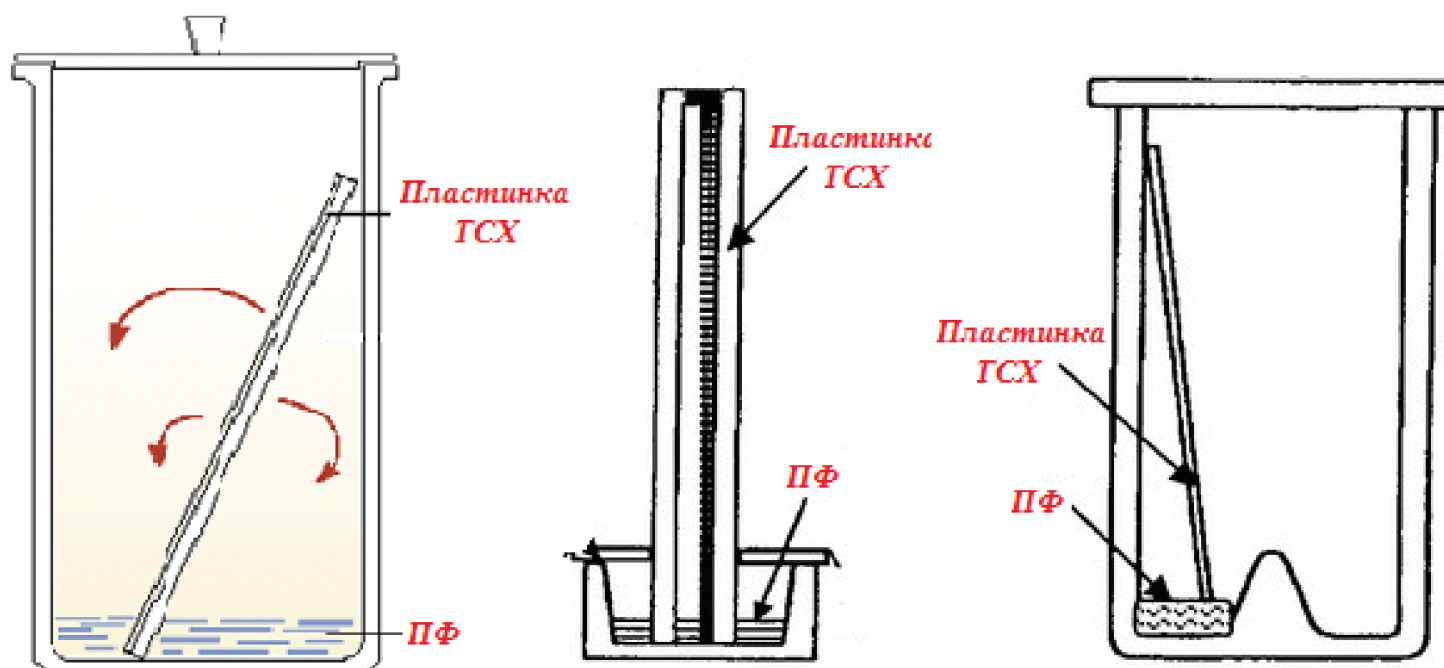


# Техника ТСХ. Хроматографические камеры



# Техника ТСХ.

## Хроматографические камеры



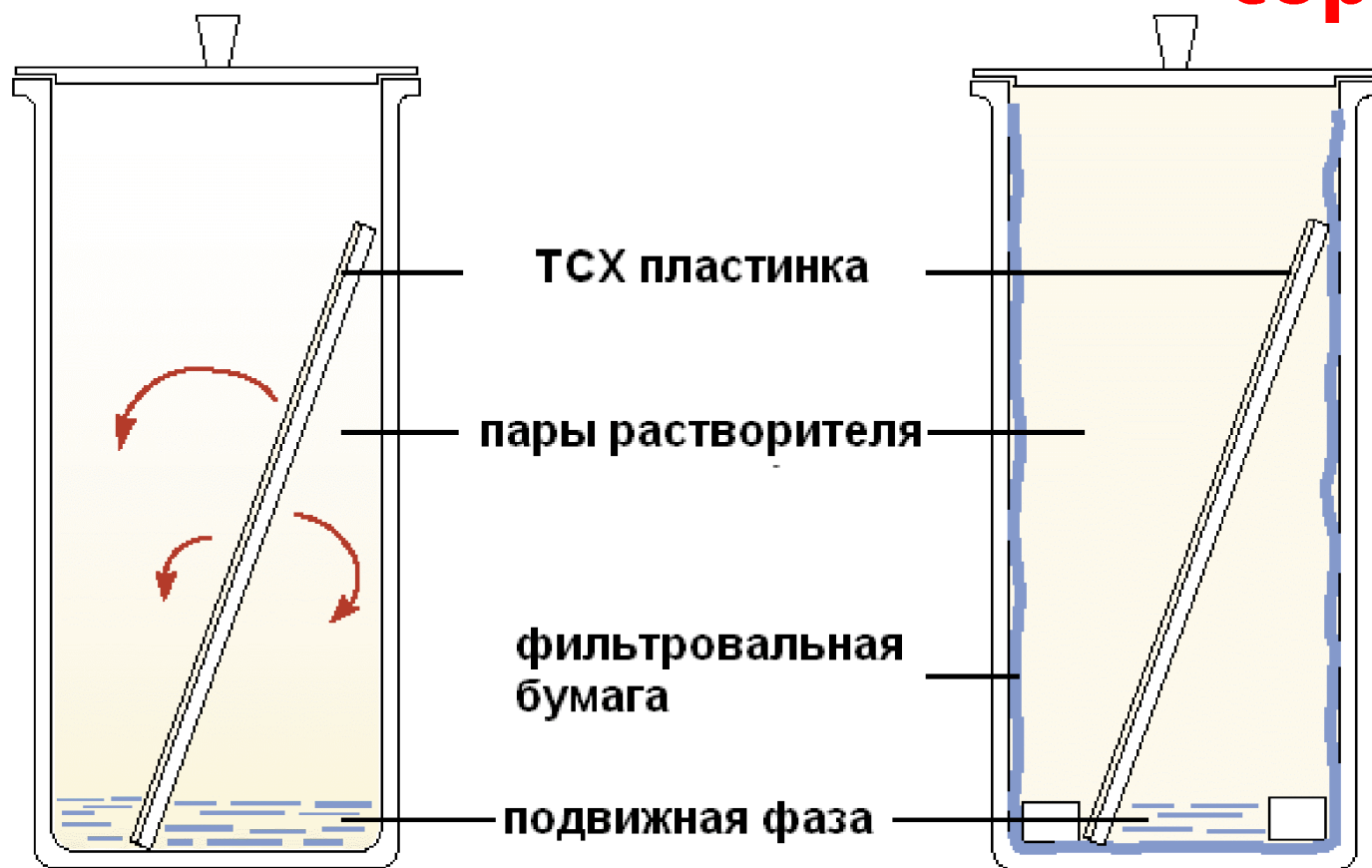
*N - камера*

*S - камера*

*Twin - камера*

# Техника ТСХ.

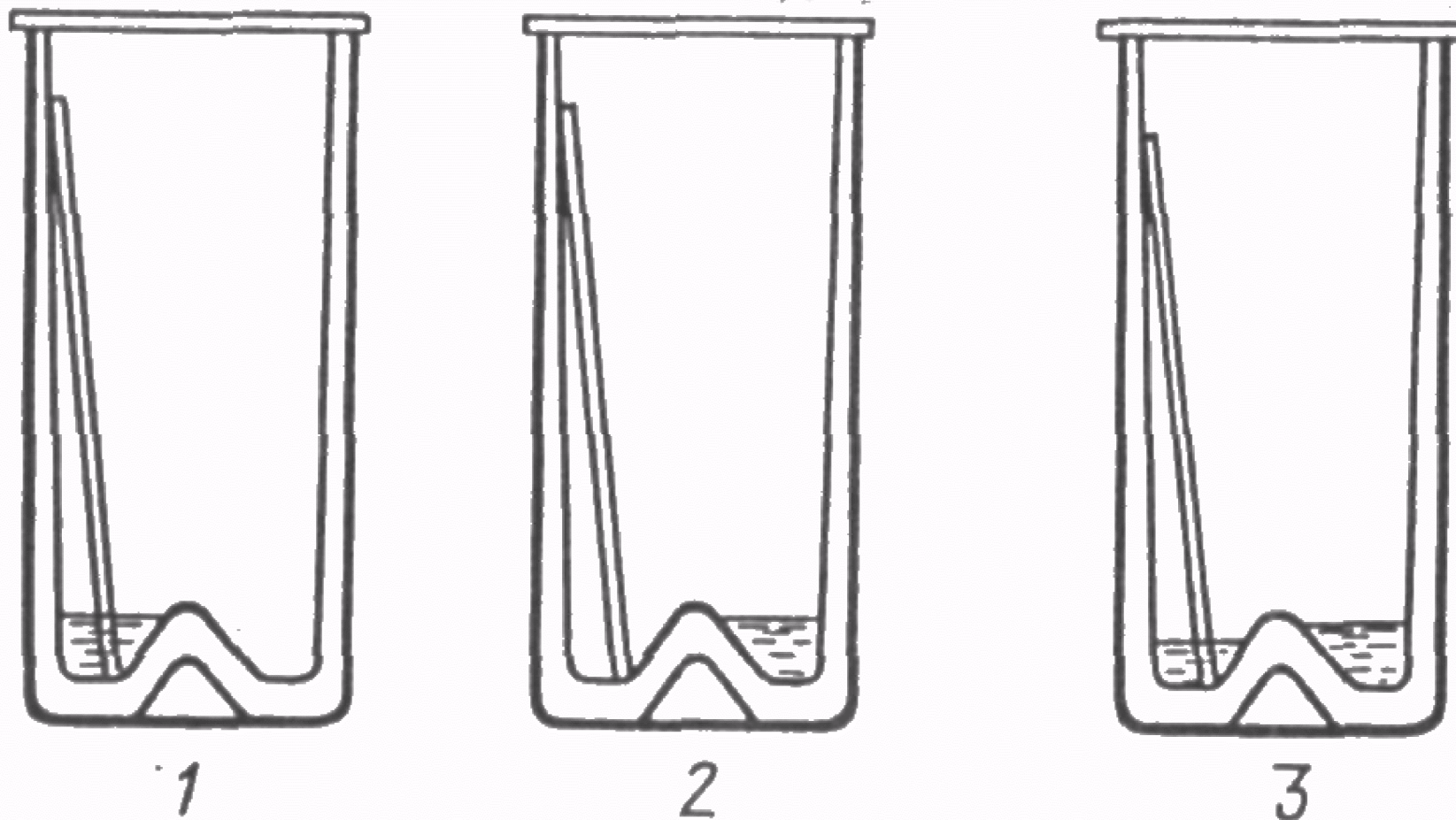
## Подготовка камеры и слоя сорбента.



ненасыщенная камера

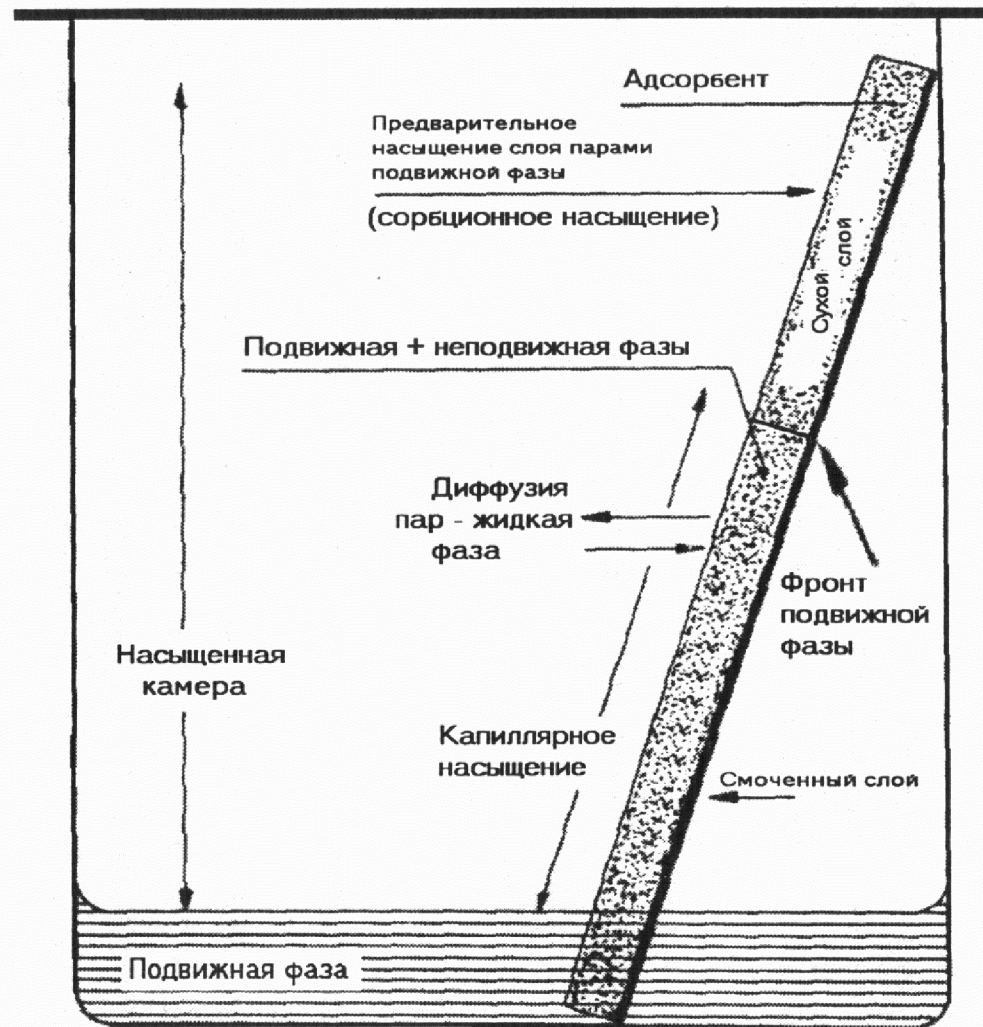
камера с насыщением

# Техника ТСХ. Twin-камера.



- 1) Хроматографирование (в частности, с использованием малых объемов подвижной фазы)
- 2) Предварительное насыщение парами подвижной фазы
- 3) Хроматографирование с насыщением парами растворителя

# Процессы, протекающие в насыщенной камере



# Техника ТСХ.

## Подготовка пластин

Варианты подготовки пластин:

- 1) Активация пластин путем выдерживания в сушильном шкафу при температуре около  $110^{\circ}\text{C}$  в течение 1 часа
- 2) Промывка пластины чистым растворителем (с последующей активацией)
- 3) Импрегнирование (опрыскивание) пластин специальными растворами для уменьшения влияния вторичных взаимодействий

# Техника ТСХ.

## Разметка пластин

*Фронт подвижной фазы*

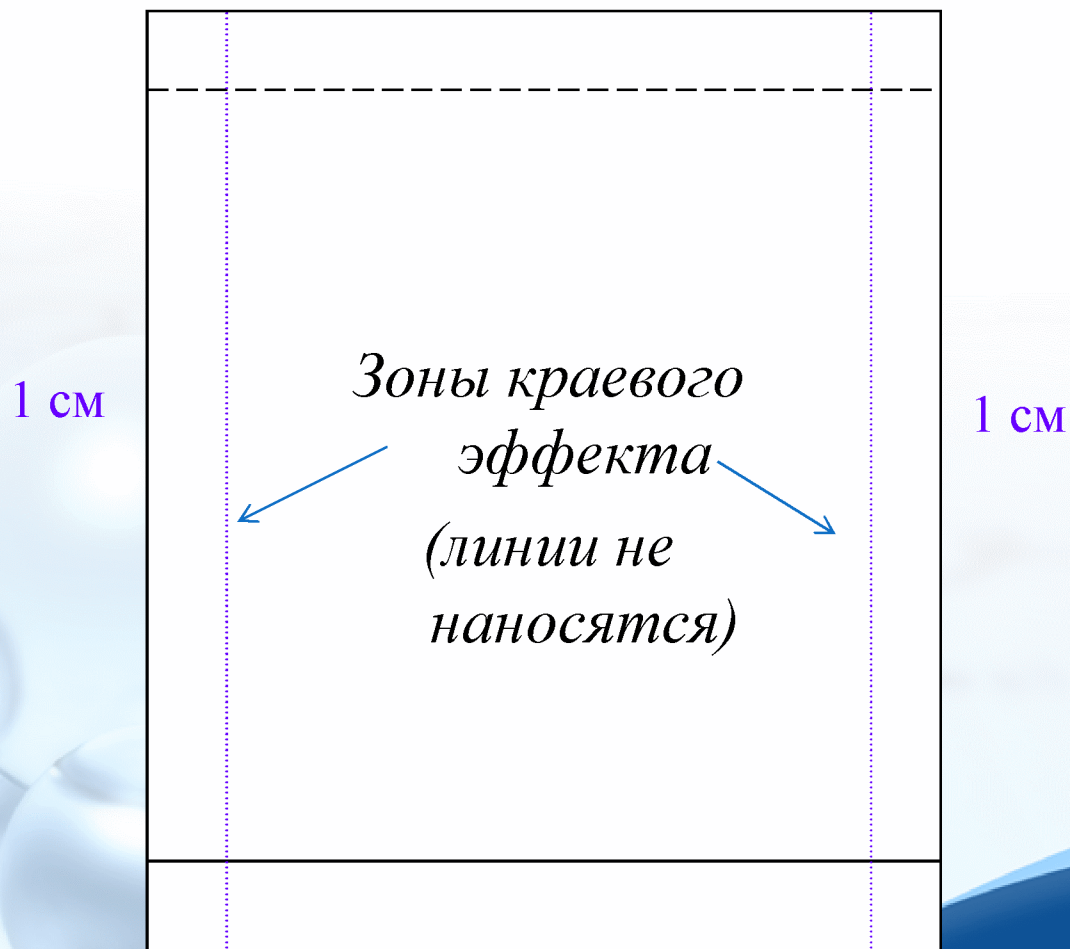
*Линия старта*

1-2 см



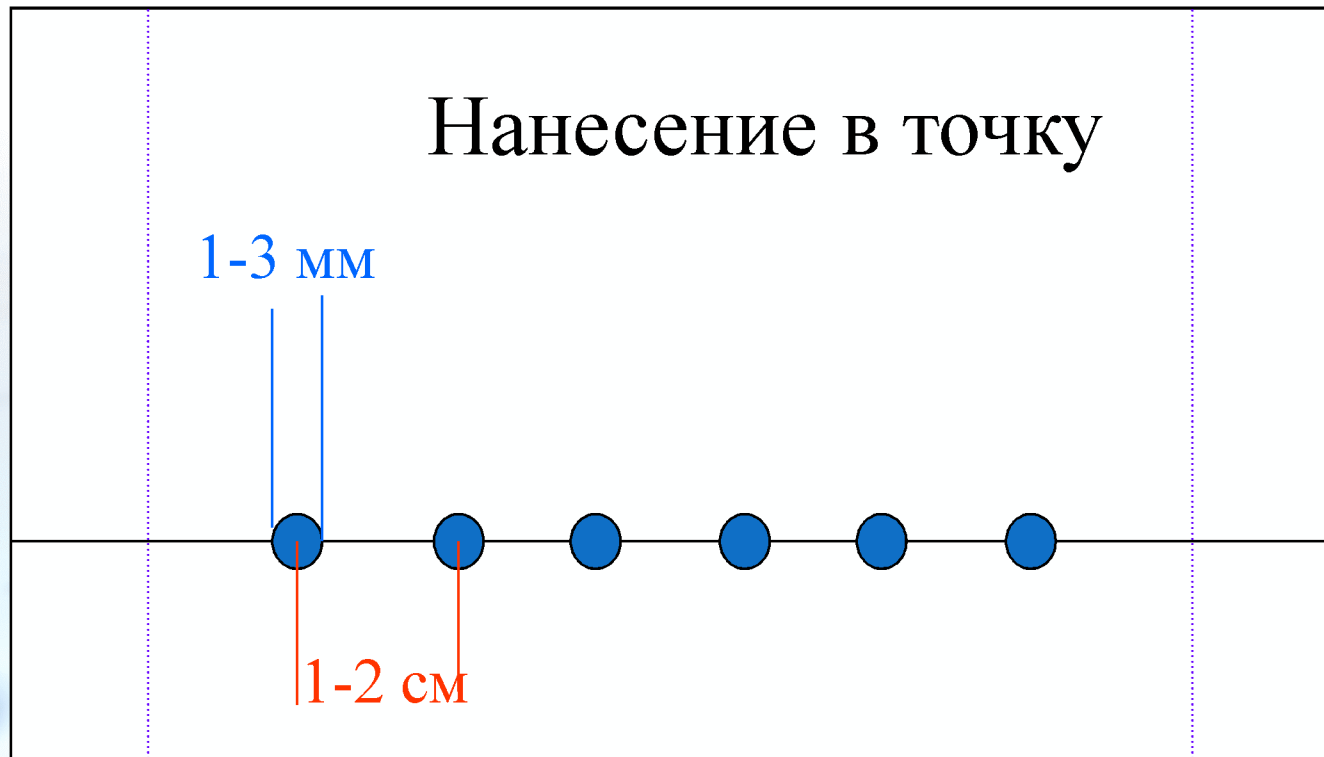
# Техника ТСХ.

## Разметка пластин

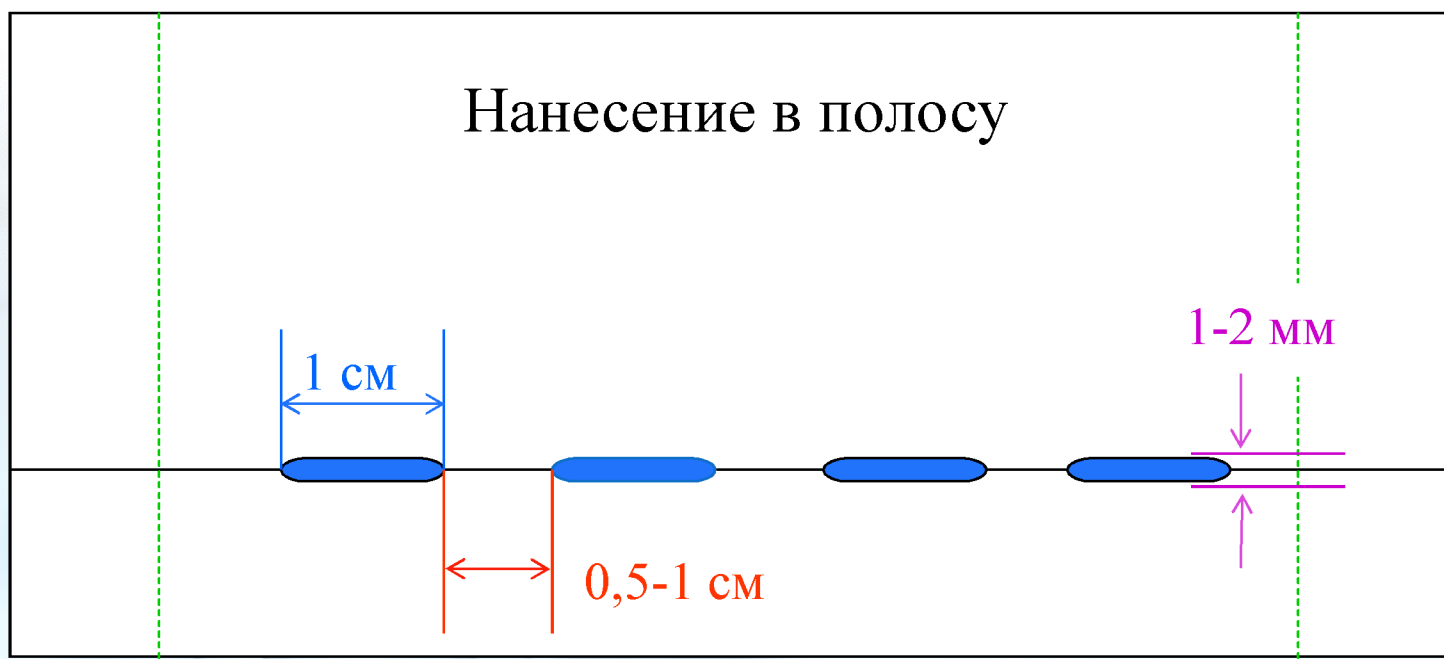


# Техника ТСХ.

## Нанесение проб



# Нанесение проб



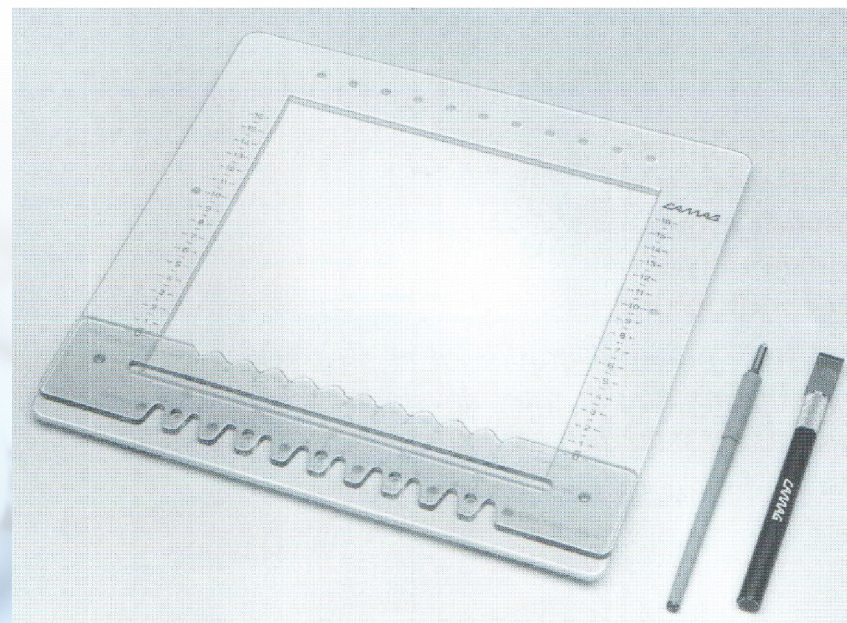
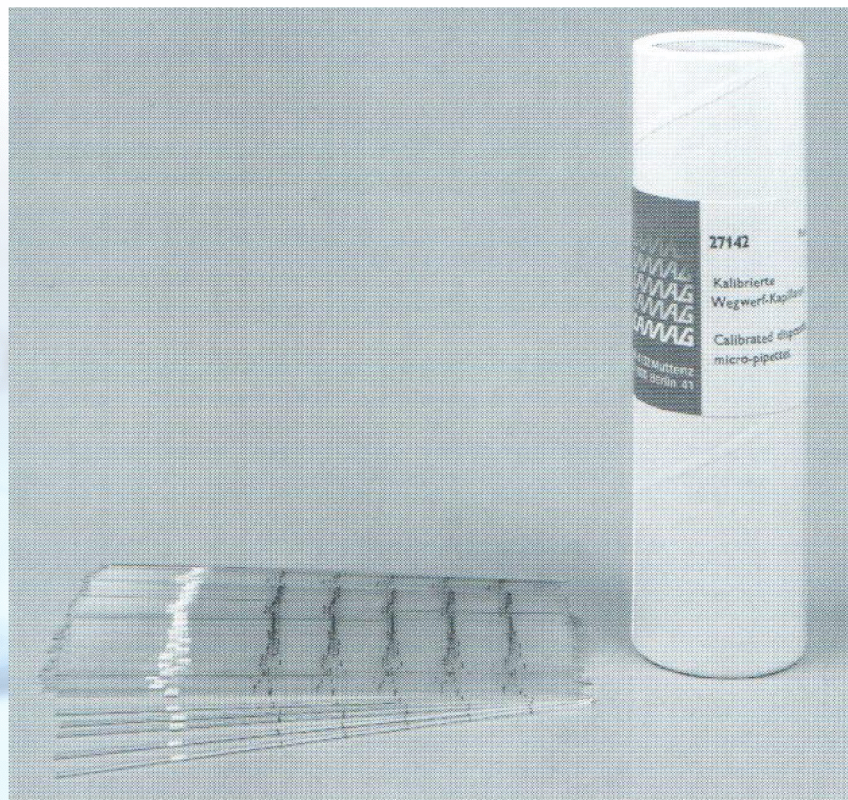
# Техника ТСХ.

## Пробоподготовка для ТСХ

- 1) Вещество должно хорошо растворяться в растворителе.
- 2) Растворитель должен быть достаточно летучим, чтобы его как можно быстрее испарить с пластинки для получения пятна малого диаметра.
- 3) Растворитель должен быть нетоксичным.
- 4) Растворитель не должен взаимодействовать с веществами пробы.
- 5) Не желательно использовать воду и водные растворы в качестве растворителей для пробы.
- 6) Для НФ-ТСХ для растворения пробы используют как можно более неполярный растворитель, в ОФ-ТСХ – наоборот.

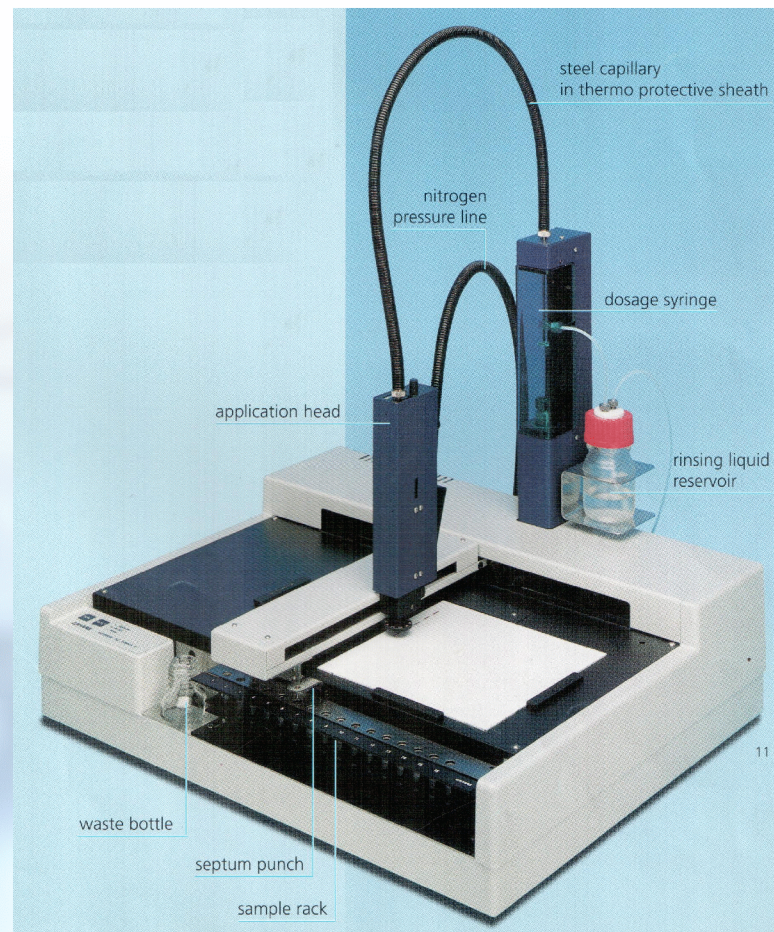
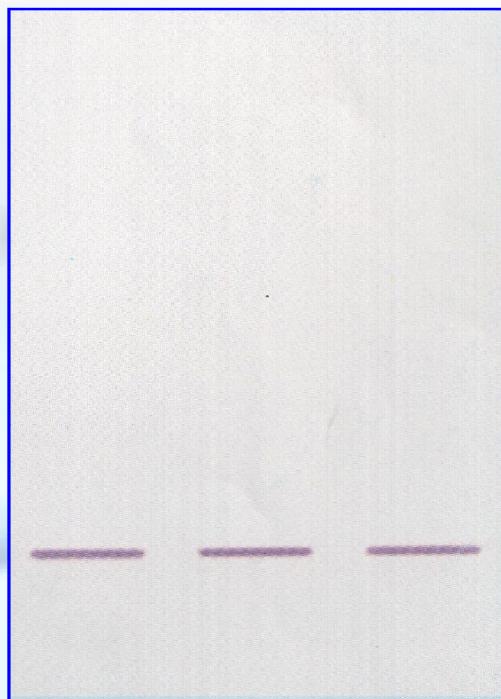
# Техника ТСХ.

## Устройства для нанесения проб



# Техника ТСХ.

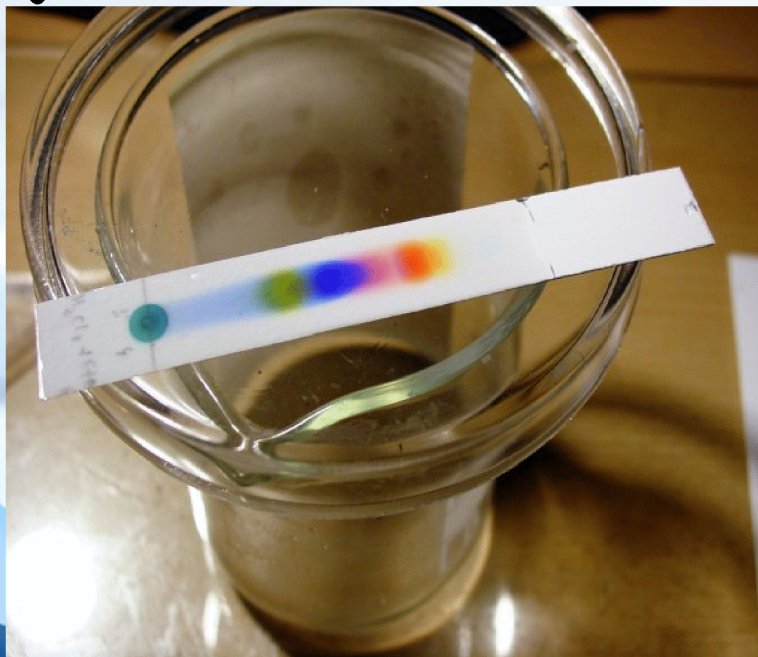
## Система автоматического нанесения проб



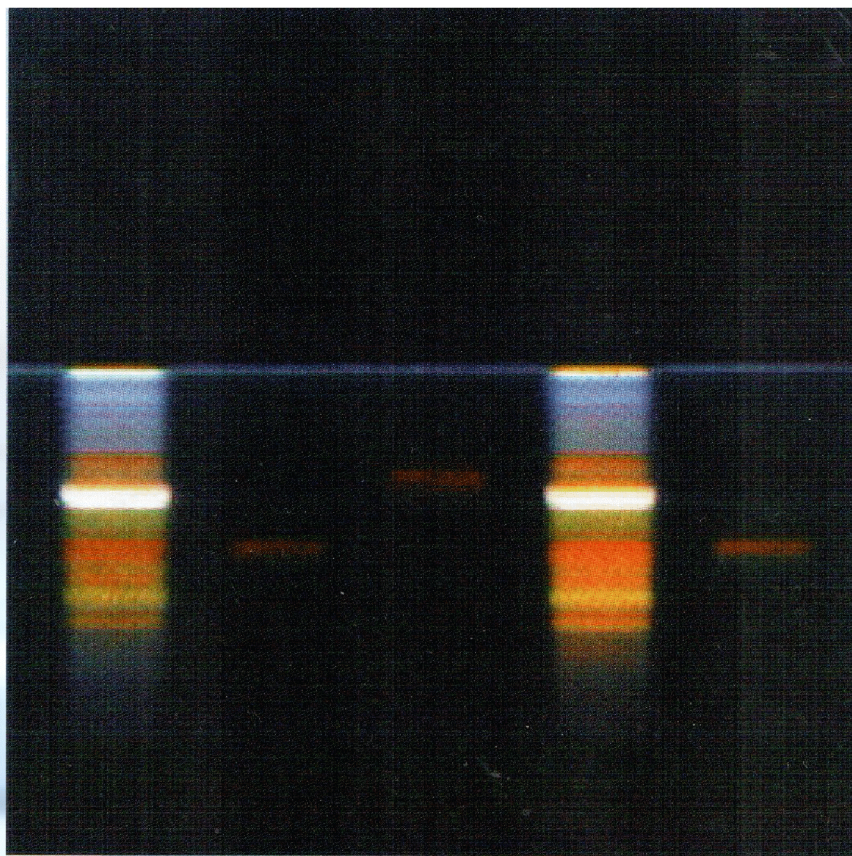
# КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

## Наблюдение хроматографических зон в ТСХ

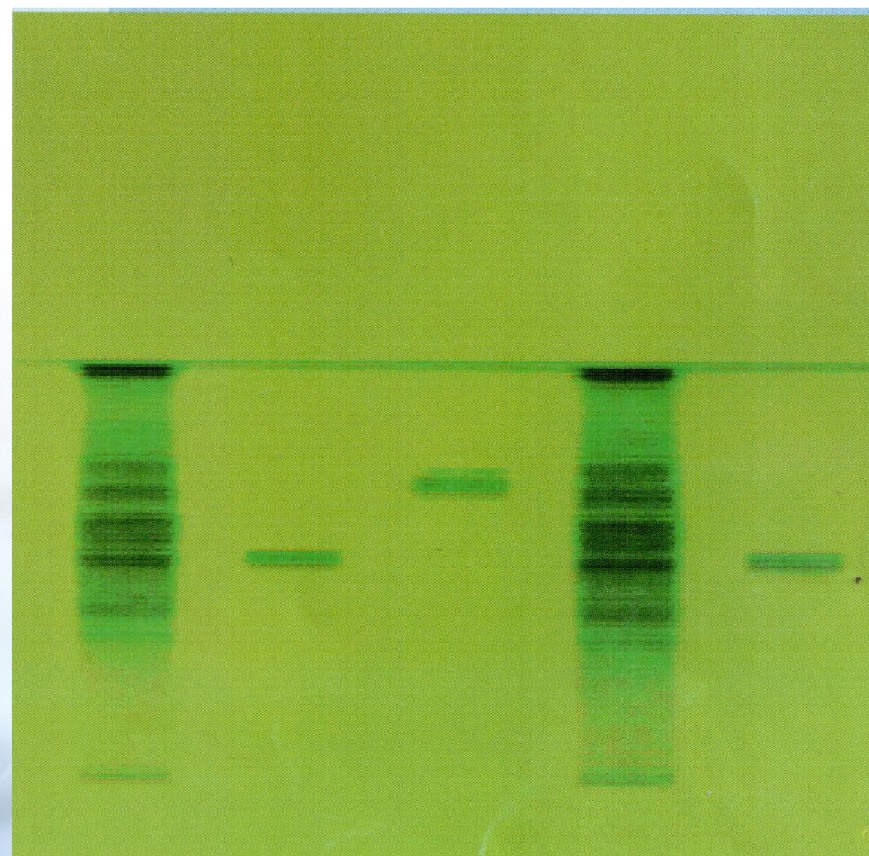
- **Окрашенные зоны** → визуальное наблюдение окраски пятен.
- **Неокрашенные зоны** → наблюдение под УФ-светом:
  - поглощение УФ;
  - флуоресценция под УФ.
- → прибавление проявляющих химических реагентов.
- **Сравнение величин  $R_f$ .**
- **Хроматоденситометрия.**



## Наблюдения под УФ-светом



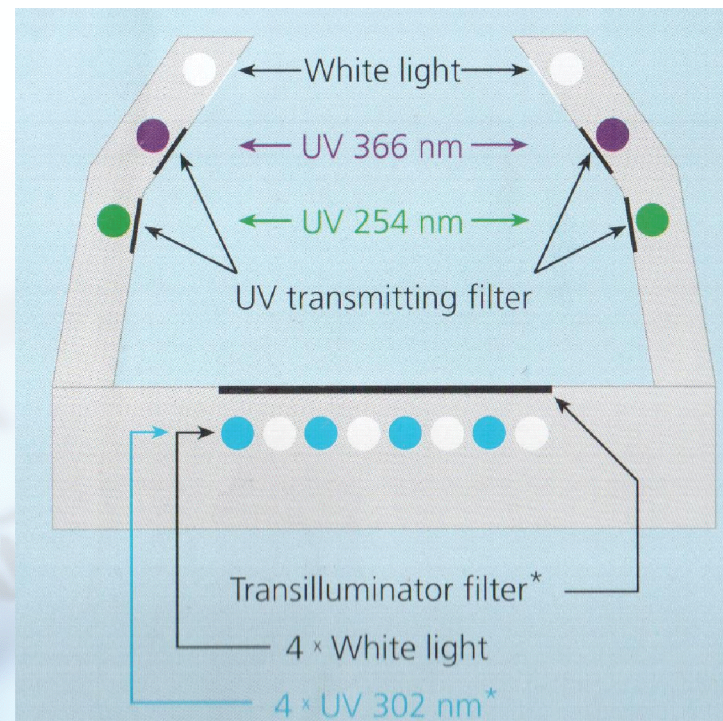
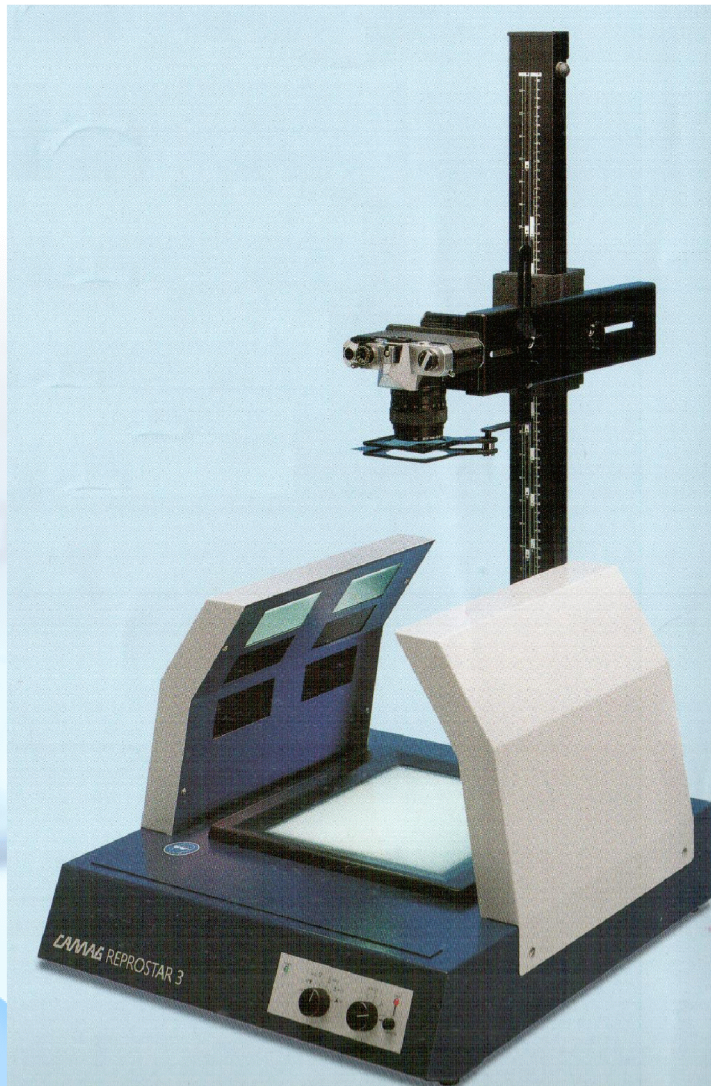
366 нм



254 нм



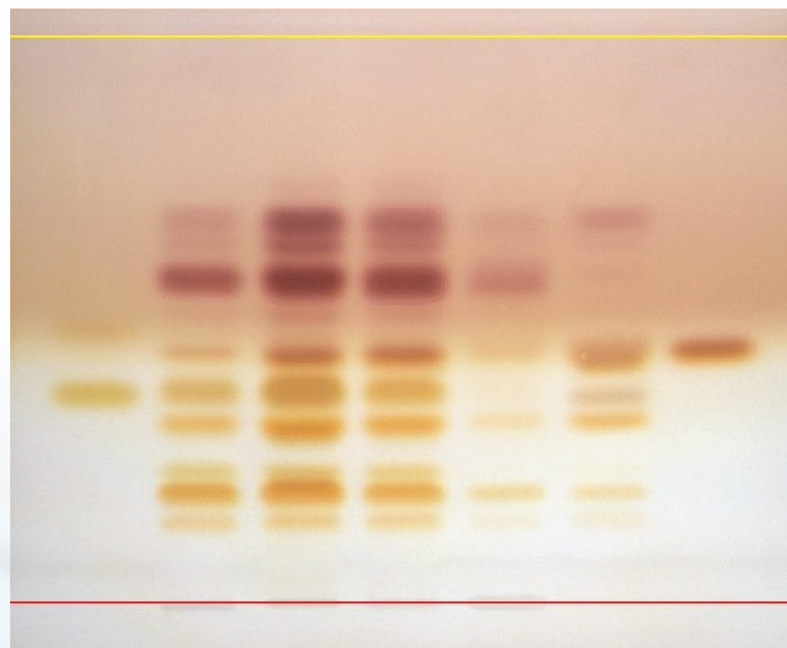
# Видеодокументирование



## Реагенты-проявители для ТСХ

- 1) Иодная камера или раствор иода в иодиде калия
- 2) 10% раствор серной кислоты в метаноле (нагревание)
- 3) Реактив Драгендорфа (калия иодовисмутат)
- 4) Сернокислый раствор перманганата калия
- 5) Спиртовый раствор хлорида алюминия
- 6) Сернокислый раствор анисового альдегида или п-диметиламинобензальдегида или ванилина
- 7) Раствор хлорида сурьмы в органическом растворителе
- 8) Нингидрин
- 9) Растворы кислотно-основных индикаторов
- 10) Раствор фосфорномолибденовой кислоты
- 11) Раствор нитрата серебра
- 12) Раствор гидроксида натрия в спирте

# ТСХ растительного сырья



Проявитель - нингидрин

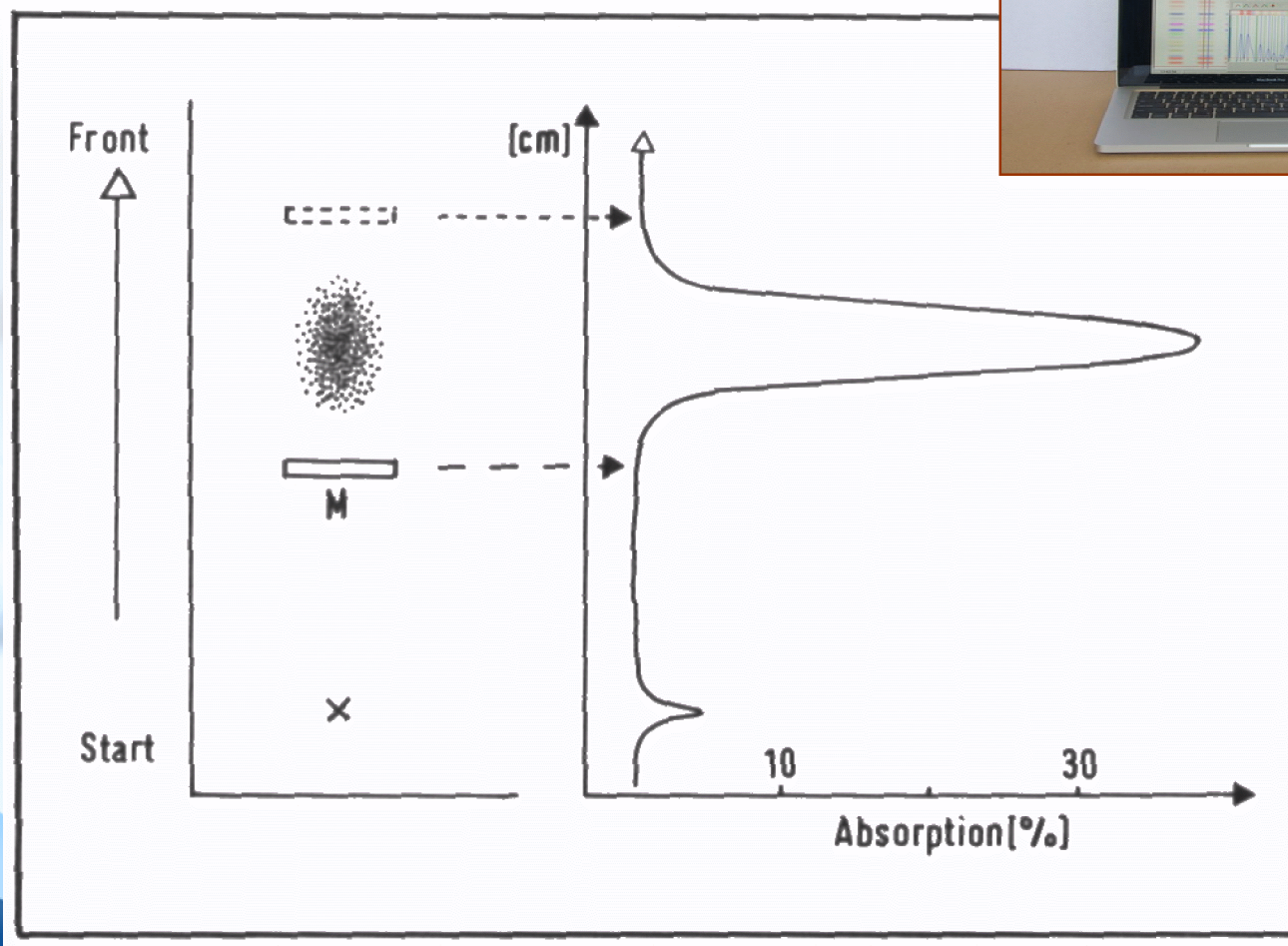
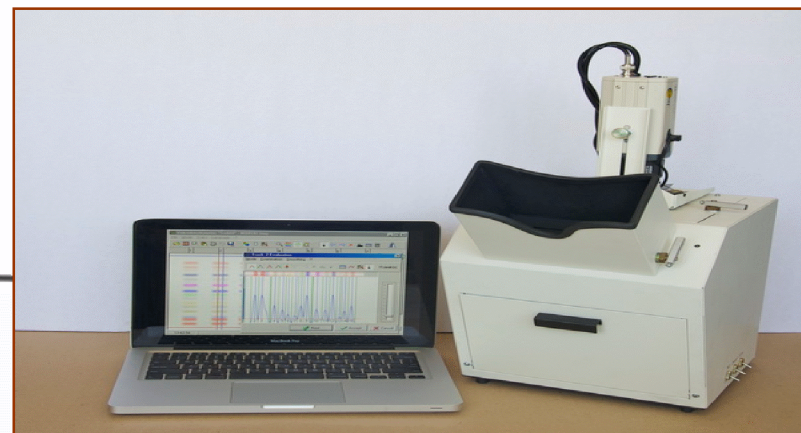
- Track 1: alliin
- Track 2: fresh garlic (authenticated)
- Track 3: garlic – dried extract (Flachsmann)
- Track 4: garlic powder (Frontier)
- Track 5: garlic oil
- Track 6: fresh onion
- Track 7: alanin

# Проявление хроматограмм



Система для опрыскивания и погружения

# Хроматоденситометрия



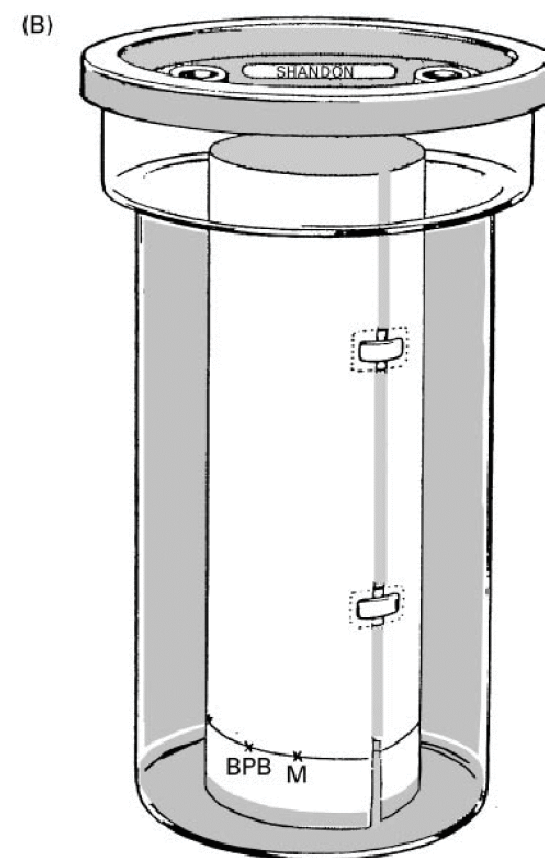
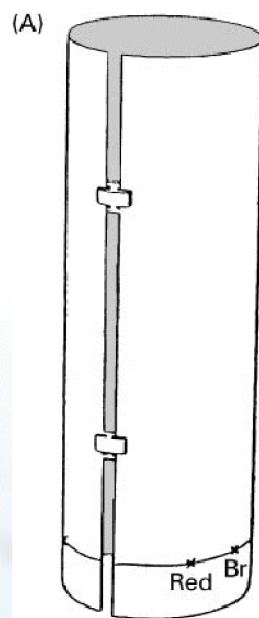
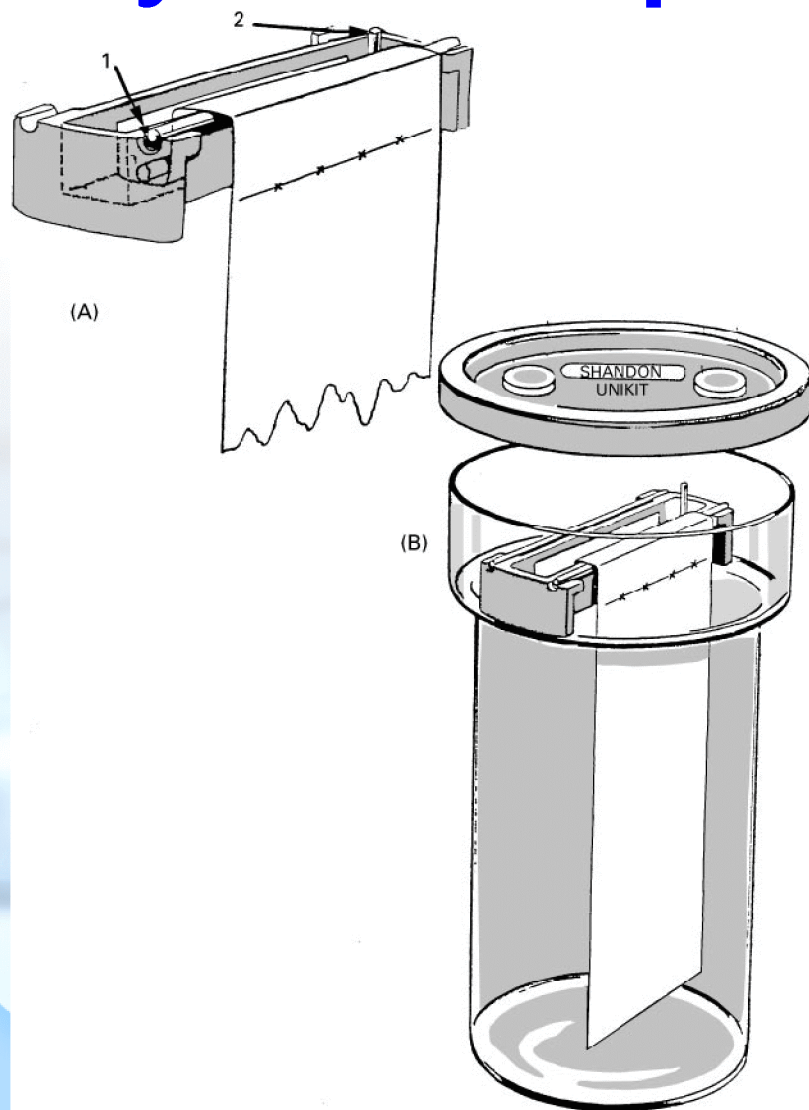
# КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

- **Определение непосредственно на пластинке**
  - по площади пятна;
  - по размеру пятна;
  - денситометрический метод;
  - прямой флуориметрический метод.
- **С использованием элюирования**

# БУМАЖНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ



# Бумажная хроматография



Способы закрепления бумаги  
(картона) в хроматографической  
камере



# Бумажная хроматография

## Недостатки:

- 1) Зависимость процесса разделения от состава и свойств бумаги
- 2) Изменение содержания воды в порах при хранении бумаги
- 3) Очень низкая скорость хроматографирования (до нескольких суток)
- 4) Низкая воспроизводимость результатов

## Преимущества:

- 1) Возможность выделения достаточно чистых образцов
- 2) Уникальная селективность, позволяющая разделить изомеры



**СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!**