ԴԵՂԵՐԻ ՎԵՐԼՈՒԾՄԱՆ ՔՐՈՄԱՏԱԳՐՄԱՆ ԵՎ ԷՔՍՏՐԱԿՑԻՈՆ ԵՂԱՆԱԿՆԵՐ

դասախոսությունների հավաքածու

Հեղինակներ՝ Ժամհարյան Արուսյակ
Աֆրիկյան Շուշանիկ
Մանջիկյան Աննա
Խաչատուրյան Միլենա
Խաչատուրյան Աննա
Պստիկյան Լիաննա

ԵՐԵՎԱՆ 2017

Քրոմատոգրաֆիկ եղանակի սկզբունքը և տեսական հիմունքները

Քրոմատոգրաֆիկ վերլուծության եղանակը հանդիսանում է նյութերի խառնուրդների բաժանման ամենաարդյունավետ և ունիվերսալ եղանակներից մեկը: Այն լայնորեն կիրառվում է գիտության տարբեր բնագավառներում: Այս մեթոդը կիրառելի է ցանկացած հեղուկ և գազանման, ինչպես նաև հատկություններով և բաղադրությամբ միմյանց նման նյութերի խառնուրդների բաժանման և նույնականացման համար:

Այս եղանակն առաջին անգամ հայտնաբերվել է 1903թ.-ին ռուս բուսաբան Միքայել Ցվետի կողմից, որն էլ անվանել է այն քրոմատոգրաֆիա-" գույնի գրանցում":

Ըստ էության քրոմատագրումը հիմնված է նյութերի (դեղերի) տարբեր բաշխման ունակության վրա երկու միմյանց հետ չխառնվող ֆազերում, որոնցից մեկն անշարժ է և իրենից ներկայացնում է բարձր ադսորբցիոն ունակությամբ օժտված նյութ, որն իր վրա ադսորբում է հետազոտվող նյութը, իսկ մյուսը շարժուն է և հիմնականում իրենից ներկայացնում է ցածր մոլեկուլյար կշռով հեղուկ կամ գազ, որը բավականին շարժուն է: Նյութերի բաժանումը տեղի է ունենում կամ ի հաշիվ դրանց սորբենտի մակերեսին կպչելու ունակության, կամ անշարժ ֆազում բաշխման շնորհիվ ի հաշիվ նյութերի՝ սորբենտի հետ առաջացրած տարբեր ֆիզիկոքիմիական փոխազդեցությունների: Քրոմատոգրաֆիայում անշարժ ֆազն անվանում են սորբենտ, շարժուն ֆազը՝ էլուենտը, իսկ քրոմատագրվող նյութը՝ սորբատ:

Քրոմատագրումը հանդիսանում է դինամիկ պրոցես: Յուրաքանչյուր նյութի տեղափոխումը տեղի է ունենում շարժուն ֆազի միջոցով անշարժ ֆազի շերտի վրայով: Սորբատի միգրացիայի արագության նվազումը տեղի է ունենում անշարժ ֆազի կողմից վերջինիս պահման շնորհիվ: Նյութերի բաժանման գործընթացին դիմադրում է դիֆուզիան, որը բերում է կոնցենտրացիաների հավասարեցմանը և դրանով իսկ նյութերի ևս մեկ անգամ միմյանց հետ խառնմանը: Դա նշանակում է, որ քրոմատոգրաֆիկ բաժանումն անհրաժեշտ է անցկացնել այնքան կարճ ժամանակահատվածում, որպեսզի դիֆուզիայով պայմանավորված նյութերի կրկնակի խառնումը մնա նվազագույն մակարդակի վրա: Մյուս կողմից շարժուն ֆազը չպետք է շարժվի շատ արագ, քանի որ անշարժ ֆազի կողմից նյութերի փոխանակության պրոցեսը պահանջում է որոշակի ժամանակ: Այսպիսով, յուրաքանչյուր քրոմատոգրաֆիկ համակարգի համար գոյություն ունի հոսքի օպտիմալ արագություն:

Ցանկացած քրոմատոգրաֆիկ բաժանում հիմնված է փորձանմուշի բաղադրիչների տեղափոխման արագությունների տարբերության վրա: Սակայն արագությունների տարբերությունը հանդիսանում է ոչ իրական, քանի որ նյութերի տեղափոխումը կատարվում է շարժուն ֆազի միջոցով, որը շարժվում է մշտական (հաստատուն) արագությամբ: Արդյունքում նյութերի տեղափոխման տարբեր արագությունները պայմանավորված են միացությունների անշարժ ֆազի կողմից տարբեր պահման ժամանակների ունակությամբ: Քրոմատոգրաֆիկ պրոցեսը պայմանավորված է մի շարք

պրոցեսներով՝ սորբցիայի և դեսորբցիայի, ինչպես նաև լուծման և էլուացման, որոնք ամեն անգամ բերում են նոր հավասարակշռային վիճակի ստեղծմանը:

Այս դեպքում անհրաժեշտ է հաշվի առնել երկու սահմանային վիճակ: Առաջին դեպքում նյութերը կարող են չփոխազդել անշարժ ֆազի հետ, որի արդյունքում նյութերը չեն պահվում անշարժ ֆազի կողմից: Այդ նյութերը խառնվում են շարժուն ֆազի հետ և բաժանում տեղի չի ունենում: Մյուս կողմից կա հավանականություն, որ այդ նյութերը չեն խառնվի շարժուն ֆազի հետ: Բոլոր քրոմատոգրաֆիկ բաժանումները գտնվում են այս երկու սահմանային վիճակների միջև:

Քրոմատոգրաֆիկ եղանակների դասակարգումը կարելի է կատարել՝

- **Ըստ շարժուն և անշարժ ֆազերի ագրեգատային վիճակի**: Համաձայն այս դասակարգման տարբերում են գազային և հեղուկ քրոմատոգրաֆիա: Գազային քրոմատոգրաֆիան իր մեջ ներառում է գազ-հեղուկային, գազ-ադսորբցիոն/պինդ քրոմատոգրաֆիկ եղանակները: Հեղուկ քրոմատոգրաֆիկ եղանակը բաժանվում է հեղուկ-հեղուկային, հեղուկ-ադսորբցիոն/պինդ և հեղուկ-հելային քրոմատոգրաֆիկ եղանակների: Այս դասակարգման մեջ առաջին բառը բնութագրում է շարժուն ֆազի ագրեգատային վիճակը, իսկ երկրորդը՝ անշարժ ֆազի:
- **Ըստ բաժանման մեխանիզմի**, այսինքն, ըստ սորբենտի և սորբատի միջև փոխազդեցության բնույթի: Համաձայն այս դասակարգման տարբերում են քրոմատոգրաֆիայի հետևյալ տեսակները՝

1. Ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիա-բաժանումը հիմնված է պինդ սորբենտի վրա բաժանվող նյութերի տարբեր ադսորբցիոն հատկությունների վրա:
2. Բաշխիչ քրոմատոգրաֆիա-բաժանումը հիմնված է բաժանվող նյութերի տարբեր լուծելիության վրա կամ միայն անշարժ ֆազում (գազային քրոմատոգրաֆիա) կամ շարժուն և անշարժ հեղուկ ֆազերում:
3. Իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիա, որը պայմանավորված է բաժանվող նյութերի տարբեր հատկություններով իոնափոխանակության նկատմամբ:
4. Էքսկլյուզիոն քրոմատոգրաֆիա-հիմնված է բաժանվող նյութերի մոլեկուլների տարբեր չափերի վրա:
5. Աֆինային քրոմատագրումը, որը հիմնականում կիրառվում է բիոմոլեկուլների բաժանման նպատակով ըստ դրանց բիոընտրողականության որոշակի լիգանդների հանդեպ:
6. Բաժանման այլ մեխանիզմներ, օրինակ նստեցնող քրոմատոգրաֆիա, բաժանումը հիմնված է բաժանվող նյութերի և սորբենտի հետ տարբեր լուծելիությամբ նստվածքների առաջացման վրա:

Անհրաժեշտ է ի նկատի ունենալ, որ բաժանման պրոցեսը հաճախ ընթանում է մի քանի տարբեր մեխանիզմներով:

- **Ըստ օգտագործվող տեխնիկայի՝**

1. Աշտարակային, այս դեպքում բաժանումն իրականացվում է հատուկ աշտարակներում (գազային, բարձրաէֆեկտիվ հեղուկային և այլն).

2. Հարթ քրոմատոգրաֆիա-թղթային, բաժանումն իրականացվում է հատուկ թղթի վրա, և նրբաշերտ, բաժանումը կատարվում է սորբենտի բարակ շերտի վրա:

Աշտարակային և նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիայում կարելի է օգտագործել վերը նշված բաժանման ցանկացած մեխանիզմ, թղթային քրոմատոգրաֆիայում հաճախ օգտագործվում է բաշխիչ և իոնափոխանակային մեխանիզմները:

Քրոմատոգրաֆիկ բաժանման արդյունքը դա քրոմատագիրն է: Տարբերում են երկու տիպի քրոմատագրեր՝

- Արտաքին քրոմատագիր, այս դեպքում առանձին նյութերը մեկը մյուսի հետևից սկսում են լքել բաժանիչ համակարգը (էլուացվում են) և հայտնվում են դետեկտորի վրա, որի ազդանշանը գրանցվում է որպես ժամանակի ֆունկցիա: Սա բնորոշ է հեղուկ և գազային քրոմատոգրաֆիային: Սորբենտի շերտը, որի վրա տեղի է ունենում բաժանումը, ներկայացված է քրոմատոգրաֆիկ աշտարակի տեսքով, այդ պատճառով ընդհանուր առմամբ խոսքը գնում է նաև աշտարակային քրոմատոգրաֆիայի մասին:
- Ներքին քրոմատագիր- քրոմատոգրման այս եղանակում բաժանված նյութերը մնում են քրոմատոգրաֆիկ համակարգում և կարող են հենց այդտեղ էլ որոշվել: Սա կիրառվում է նրբաշերտ և թղթային քրոմատագրաֆիայի դեպքում, երբ բաժանման գործընթացը դադարեցվում է հենց որ շարժուն ֆազը հասնում է անշարժ ֆազի շերտի վերջնագծին:

Քրոմատագրման մեթոդների դասակարգումն ըստ ֆազերի ագրեգատային վիճակի, բաժանման գործընթացի տեսակի և անցկացման տեխնիկայի:

Եղանակի անվանումը	Անգլերեն հապավումը	Շարժուն ֆազի ագրեգատային վիճակը	Անշարժ ֆազի ագրեգատային վիճակը	Բաժանման պրոցեսը	Բաժանման անցկացման տեխնիկան
Հեղուկ-հեղուկ քրոմատոգրաֆիա	LLC	Հեղուկ	հեղուկ	բաշխիչ	LC[1] HPLC[2]
Գազհեղուկային քրոմատոգրաֆիա	GLC	գազային	Հեղուկ	բաշխիչ	GC[5]
Հեղուկ/ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիա	LSC	Հեղուկ	Պիդ	ադսորբցիոն	LC HPLC TLC[3] PC[4]
Գազ/ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիա	GSC	գազային	պինդ	ադսորբցիոն	GC

1 LC-հեղուկ քրոմատոգրաֆիա (Liquid chromatography)

2 HPLC-բարձրաէֆեկտիվ հեղուկ քրոմատոգրաֆիա (High performance liquid chromatography)

3 TLC-նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիա (Thin layer chromatography)

4 PC-թղթային քրոմատոգրաֆիա (Paper chromatography)

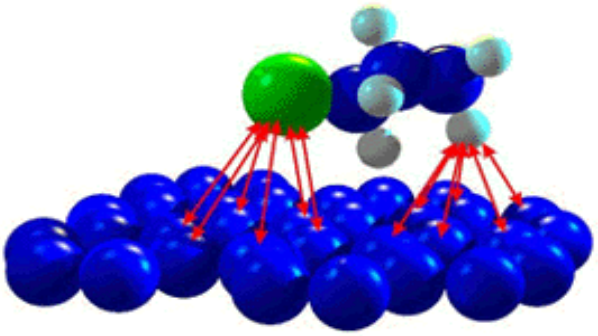
5 GC- գազային քրոմատոգրաֆիա (Gaz chromatography)

Ադսորբցիոն քրոմատագրություն

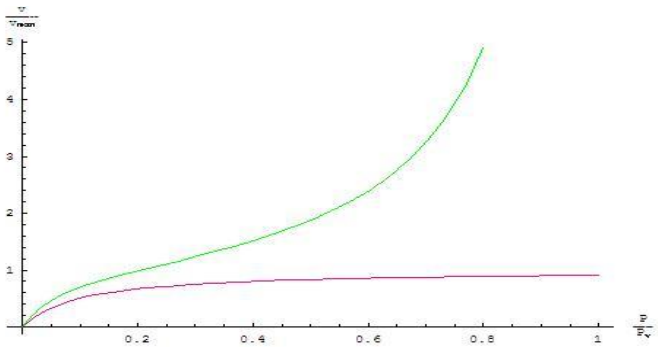
Ադսորբցիոն քրոմատագրությունն իրենից ներկայացնում է բաժանման եղանակ, որը հիմնված է որոշ պինդ նյութերի՝ ադսորբենտների մակերեսին այլ նյութեր ադսորբելու ունակության վրա (պինդ, հեղուկ, գազային): Ադսորբցիայի պրոցեսը կախված է ադսորբենտի ու ադսորբցվող նյութերի կառուցվածքից և լուծիչից: Առանձին նյութերի ադսորբցիան որոշվում է նրանց բնույթով և հանդիսանում է բնութագրական յուրաքանչյուր նյութի համար տվյալ պայմաններում:

Ադսորբցիան կարող է ունենալ քիմիական կամ ֆիզիկական բնույթ և այս երկու ձևերի միջև հստակ սահման դժվար է անցկացնել: Քիմիական ադսորբցիան առաջանում է ադսորբենտի և քրոմատագրման ենթարկվող նյութի միջև անկայուն քիմիական կապի առաջացմամբ: Ֆիզիկական ադսորբցիան որոշվում է շատ ֆիզիկո-քիմիական գործոններով, որոնք կախված են ծավալից և սորբենտի տիպից: Ադսորբցվող նյութի քանակը ավելացվում է մինչև որոշակի սահման՝ մինչև հագենա սորբենտի մակերեսը: Ադսորբցիան ավելի արագ է ընթանում հարթ մակերեսի վրա, քան խորդուբորդ կամ ծակոտկենի վրա: Անհարթ կամ ծակոտկեն մակերեսով սորբենտը իր վրա ավելի շատ նյութ կարող է ադսորբել, քան հարթ մակերեսովը: Ծակոտիների չափսերը մեծ դեր են խաղում նյութերի խառնուրդի ադսորբցիայի ժամանակ, որոնց մոլեկուլներն ունեն տարբեր չափսեր: Քրոմատագրման այս եղանակում շատ կարևոր է նաև դեղանյութի մոլեկուլային զանգվածը: Հիմնականում մեծ զանգված և չափսեր ունեցող մոլեկուլները վատ են ադսորբվում և քրոմատագրվում: Այս դեպքում նյութերի որոշման հիմնական ցուցանիշ է հանդիսանում RF-ի արժեքը, որն իրենից ներկայացնում է մեկնարկային գծից մինչև հետքի կենտրոնը եղած հեռավորության հարաբերությունը մեկնարկային գծից մինչև ճակատային գիծ եղած հեռավորությանը:

Մակերեսի այն հատվածները, որտեղ տեղի են ունենում ադսորբցիան, կոչվում են ակտիվ կենտրոններ:



Եթե ենթադրենք, որ գոյություն ունի միայն մեկ տիպի ակտիվ կենտրոն և կազմենք գրաֆիկական կախվածությունը ադսորբվող նյութի քանակի և լուծույթի կոնցենտրացիայի կամ ճնշման միջև հաստատուն ջերմաստիճանի դեպքում (գազերի համար), ապա կստանանք Լենգմյուրի ադսորբցիայի իզոթերմը:



Լենգմյուրի ադսորբցիայի իզոթերմ

Լուծված նյութի փոքր կոնցենտրացիայի (կամ ճնշման) դեպքում ադսորբցիայի իզոթերմն ունի համարյա գծային հատված: Իզոթերմի այդ հատվածում ադսորբցիայի գործակիցը, այսինքն, ադսորբցված նյութի քանակի հարաբերությունը լուծույթում լուծված նյութի քանակին հաստատուն մեծություն է :

K=CA /CR

որտեղ CA-ն ադսորբված նյութի քանակն է 1գ-ում կամ 1 մլ-ում, իսկ CR-ը՝նյութերի կոնցենտրացիան լուծույթում:

Հնարավոր են երկու ծայրահեղ դեպքեր, երբ նյութերը պրակտիկորեն չեն ադսորբվում, կամ, երբ անդարձելիորեն են ադսորբվում: Նյութերը չեն ադսորբցվում, երբ շատ լավ են լուծվում լուծիչում: Նյութերը անդարձելի են ադսորբվում, երբ ամուր կապվում են սորբենտի հետ և լուծիչի համակարգը թափանցում է նրա միջով՝ մեկնարկի գծին չխառնվելով: Նյութերի տեղափոխման արագությունը կախված է սորբցիայի և դեսորբցիայի պրոցեսի հավասարակշռության բնույթից և ադսորբցիոն քրոմատագրության համար կարող է դուրս բերվել ադսորբցիայի իզոթերմից: Եթե նյութերը դանդաղ են շարժվում, ապա ադսորբցիայի կորը սկզբնական հատվածում կտրուկ բարձրանում է: Ադսորբենտի մակերեսով նյութերի արագ տեղաշարժման ժամանակ ադսորբցիայի իզոթերմը մոտ է աբսցեսների առանցքին և գրաֆիկորեն արտահայտվում է համարյա հորիզոնական գծով:

Իդեալական դեպքում ադսորբցիայի իզոթերմը իրենից ներկայացնում է ուղիղ գիծ: Այդ ժամանակ ենթադրվում է, որ ադսորբցիոն հավասարակշռությունը հայտնվում է ակնթարթորեն և կախված չէ դիֆուզիայից: Ի հարկե իրականում ադսորբցիայի իզոթերմը ոչ գծային է, քանի որ յուրաքանչյուր ադսորբենտ տվյալ պայմաններում կարող է կապել միայն որոշակի քանակությամբ նյութեր: Ադսորբենտի քրոմատագրվող նյութեր կապելու հատկությունը կոչվում է ադսորբցիոն ակտիվություն: Ադսորբցիոն ակտիվությունը կարելի է մեծացնել հեռացնելով սորբենտի ակտիվ կենտրոնները արգելակող նյութերը (օր.ջուր) կամ լավացնելով սորբենտի մակերեսը (այլ ֆունկցիոնալ խմբեր ներմուծելով կամ ծակոտիների չափերը փոխելով և այլն):

Ադսորբենտի կարևոր բնութագրիչ է հանդիսանում ադսորբցիոն տարողունակությունը, որը սորբենտի ադսորբվող նյութեր կապելու հատկության քանակական արտահայտումն է: Ադսորբցիոն քրոմատագրման միջոցով նյութերի բաժանման ժամանակ հետքերի մակերեսները կախված են անցած ճանապարհի

երկարությունից և բաժանվող նյութերի քանակից: Որքան շատ նյութ է ադսորբենտը կրում իր վրա, այդքան լայն կլինեն բաժանվող բաղադրիչների հետքերը կամ համապատասխանորեն այդքան մեծ հետքի մակերեսը: Միևնույն քանակությամբ խառնուրդի անալիզի ժամանակ հետքերը կլինեն ավելի նեղ, ընդորում նվազագույն քանակությամբ լուծիչ ավելացնելիս կլինեն ավելի կոմպակտ: Վերլուծության ենթարկվող խառնուրդի կոնցենտրիկ լուծույթի դեպքում բաղադրիչների բաժանման որակը լավանում է:

Բաշխիչ քրոմատոգրություն

Բաշխիչ քրոմատոգրաֆիայի ժամանակ խառնուրդի բաղադրիչները բաշխվում են երկու իրար հետ չխառնվող ֆազերի միջև՝ իրենց բաշխման գործակցի համաձայն: Բաշխման սկզբունքը կարելի է նկարագրել Ներնստի համեմատությամբ, համաձայն որի տվյալ նյութի և տվյալ ֆազային համակարգի համար բաշխման գործակիցը հաստատուն է և կախված չէ նյութերի կոնցենտրացիայից:

$$C_1/C_2=\alpha=k$$

որտեղ C_1-ը և C_2-ը նյութերի մոլյար կոնցենտրացիաներն են առաջին և երկրորդ ֆազերում, իսկ α-ն բաշխման գործակիցն է:

Բաշխման գործակիցը որոշում է սորբենտի մակերեսին նյութերի տեղափոխման արագությունը: Ներնստի համեմատությունից հետևում է, որ բաշխման իզոթերմերը տեսականորեն գծային են: Քրոմատոգրաֆիկ բաժանման ժամանակ նյութերի տեղափոխման արագությունը հանդիսանում է այդ նյութի համար բնութագրիչ մեծություն և տվյալ պայմաններում հաստատուն է: Տեղափոխման արագությունը գնահատվում է RF մեծությամբ: Տվյալ նյութի RF-ը իրենից ներկայացնում է քրոմատոգրամի մեկնարկային գծից մինչև տվյալ նյութի հետքի կենտրոնի հարաբերությունը տվյալ պահին լուծիչի մեկնարկային գծից անցած ճանապարհին:

Իդեալական դեպքում բաշխիչ քրոմատոգրաֆիայի ժամանակ RF-ը կարելի է դուրս բերել իմանալով բաշխման գործակիցը.

$$1/R_F=1+K\alpha$$

որտեղ K-ն հաստատուն է՝ կախված բաշխիչ քրոմատոգրության ժամանակ օգտագործվող կրիչի տեսակից, իսկ α-ն բաշխման գործակիցն է:

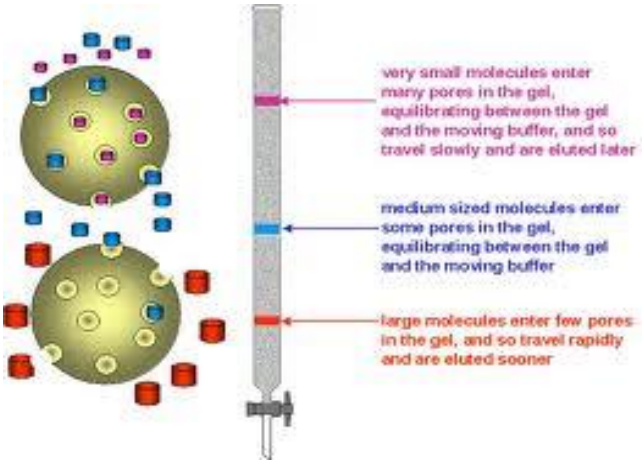
Բաշխիչ քրոմատոգրաֆիան կիրառվում է այն նյութերի բաժանման համար, որոնք լավ լուծվում են անշարժ ֆազում: Բևեռային անշարժ ֆազ օգտագործելու դեպքում ավելի լավ բաժանվում են ջրում լավ լուծվող նյութերը, քան օրգանական լուծիչներում լուծվողները, որոնք կարող են ծառայել որպես շարժուն ֆազ: Եթե որպես անշարժ ֆազ օգտագործվի ոչ բևեռային օրգանական լուծիչ և աշտարակը լվացվի բևեռային ֆազով,

գերազանց կբաժանվեն հիդրոֆոբ նյութերը: Բաշխիչ քրոմատոգրման աշտարակում նյութերի բաժանման համար անհրաժեշտ է, որ բաղադրիչները տեղափոխվեն բավականին դանդաղ և շարժուն ֆազով չլվացվեն: Այդ պատճառով անհրաժեշտ է, որ բաժանվող նյութերը լավ լուծվեն անշարժ ֆազում: Դա սահմանափակում է բաշխիչ քրոմատոգրաֆիայի կիրառումը բաշխման գործակցի 0.1-0.2 մինչև 5-10 ինտերվալով համակարգերի համար: Բաշխիչ քրոմատոգրման վրա ազդում է վերլուծության ենթարկվող նյութերի կոնցենտրացիան: Փոքր կոնցենտրացիաների դեպքում այդ ազդեցությունը կարելի է հաշվի չառնել, բայց մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում Ներնստի հավասարումը դառնում է անիրական, քանի որ սկսում է մոլեկուլի ասոցիացիայի և դիսոցացիայի պրոցեսների ազդեցությունը: Այդ դեպքում համակարգի երկու ֆազերի հարաբերությունն արտահայտող իզոթերմը դառնում է ոչ գծային: Կորը տարբերվում է բաշխիչ քրոմատոգրաֆիայի միջոցով նյութերի բաժանումը բնութագրող իդեալական ուղիղ իզոթերմից, և ունի կորագծային ձև՝ նման ադսորբցիան քրոմատոգրաֆիայի ոչ գծային իզոթերմին: Բաշխիչ քրոմատոգրության սորբենտները ադսորբցիոն քրոմատագրության սորբենտների համեմատ բնութագրվում են ավելի փոքր սորբցիոն տարողունակությամբ: Այդ դեպքում, ադսորբցիոն քրոմատոգրման համար նյութերի մասսայի և սորբենտի մասսայի միջև օպտիմալ հարաբերությունը տատանվում է 1:30-ից մինչև 1:100, իսկ բաշխիչ քրոմատոգրման ժամանակ այդ հարաբերությունը պետք է լինի 1:1000-ից 1:3000 (միայն ցելյուլոզայի օգտագործման ժամանակ է այն 1:30):

Բաշխիչ քրոմատոգրման եղանակը հարմար է հոմոլոգիական շարքի նյութերը բաժանելու համար, իսկ իզոմերների բաժանման համար ավելի հարմար է ադսորբցիոն քրոմատոգրությունը: Նախկինում բաշխիչ քրոմատոգրության միջոցով վերլուծության էին ենթարկվում հիմնականում բևեռային նյութերը, իսկ վերջերս այս եղանակը կիրառվում է նաև ոչ բևեռային նյութերի բաժանման համար:

Էքսկլյուզիոն քրոմատագրություն

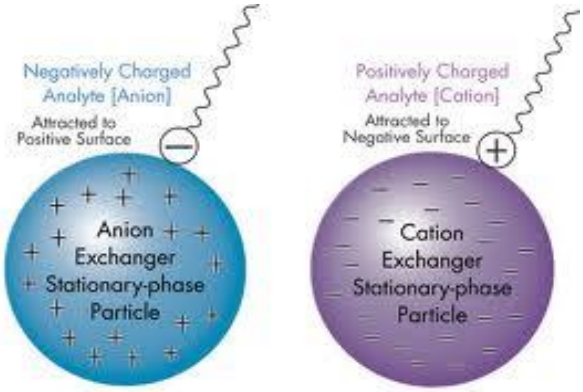
Էքսկլյուզիոն քրոմատագրությունում բաժանումը տեղի է ունենում ըստ մասնիկների չափերի և կիրառվում է միայն 10^3 –ից ավելի մոլեկուլային զանգված ունեցող միացությունների համար:



Այս եղանակի տարատեսակներից է գել-ֆիլտրացիոն քրոմատագրումը, որտեղ կիրառվում են որոշակի ծակոտիներով հիդրատացված գելային մասնիկներով լցված աշտարակներ: Ընդ որում այս քրոմատագրման եղանակում շատ կարևոր է դեղանյութի մոլեկուլային զանգվածը: Հիմնականում մեծ զանգված և չափսեր ունեցող մոլեկուլները վատ են ադսորբվում և քրոմատագրվում, այսինքն, դուրս են գալիս ավելի շուտ, այնուհետև ավելի փոքր զանգվածով նյութերն են քրոմատագրվում:

Իոնափոխանակային քրոմատագրություն

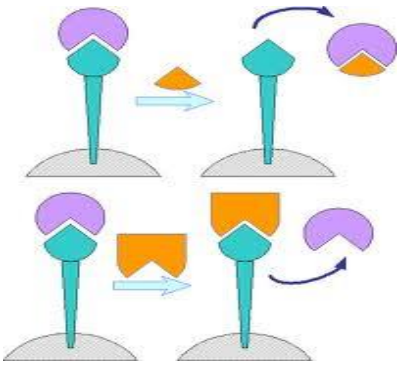
Իոնափոխանակային քրոմատագրությունն իրենից ներկայացնում է իոնների որոշման անալիտիկ եղանակ, որը հիմնված է հետազոտվող նյութի իոնների դարձելի քեմադսորբցիայի վրա սորբենտի իոնոգեն խմբերի հետ: Կախված իոնոգեն խմբերի բնույթից տարբերում են կատիոնիտներ և անիոնիտներ: Կատիոնիտների մակրոմոլեկուլները պարունակում են տարբեր թթվային ուժի խմբեր, ինչպիսիք են սուլֆոխմբերը, կարբոքսիլ և օքսիֆենիլ խմբերը: Անիոնիտների մակրոմոլեկուլները պարունակում են տարբեր չափսով տեղակալված ալիֆատիկ և արոմատիկ ամինոխմբեր:

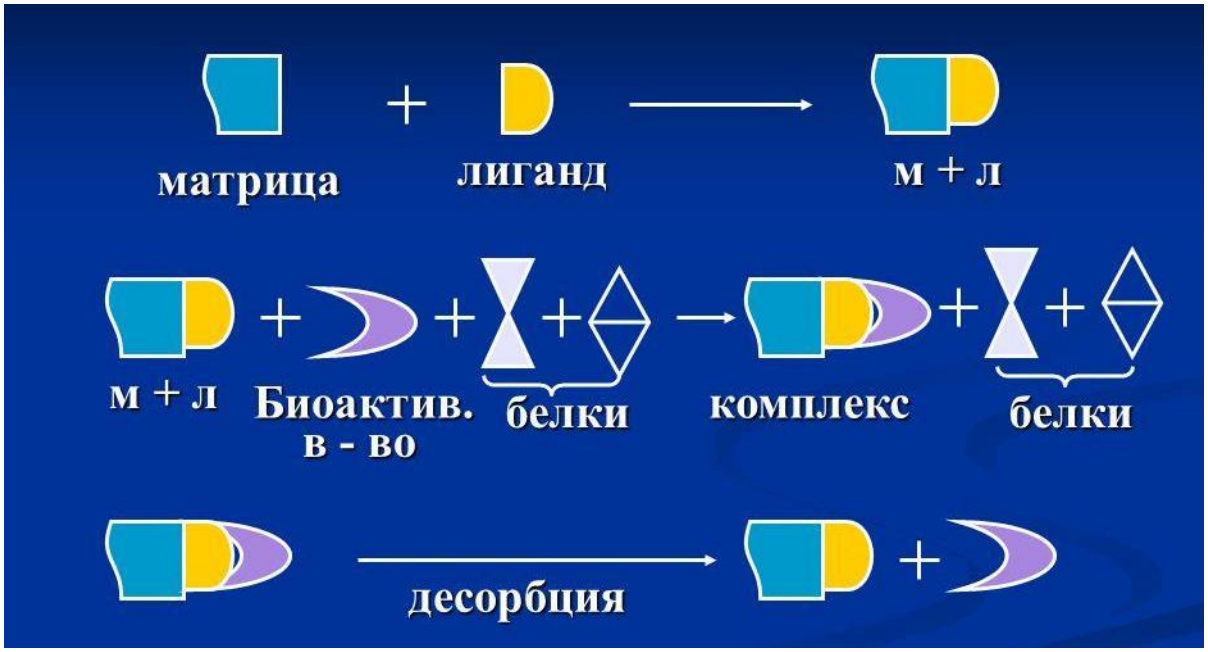


Ինչքան մեծ է անիոնի կամ կատիոնի լիցքը, այնքան մեծ է նրա դուրս մղման ժամանակը, այսպիսով կալցիումն արտազատվում է նատրիումից հետո: Մյուս կողմից ինչքան մեծ է իոնի շառավիղը, այնքան մեծ է դուրս մղման ժամանակը, այս պարագայում ավելի փոքր շառավիղ ունեցող մագնեզիումի իոնը դուրս է գալիս կալցիումի իոնից առաջ: Նույնը կարելի է ասել անիոնների դուրս բերման ժամանակամիջոցների մասին: Տվյալ եղանակում շատ կարևոր է միջավայրի pH-ը: Այսպես, օրինակ, չեզոք միջավայրում բացասական լիցքավորված իոնները ֆիքսվում են սորբենտի դրական լիցքավորված մակերեսին, իսկ թթվային միջավայրում շրջապատվելով դրական լիցքավորված ջրածնի իոններով արագ են դուրս գալիս:

Աֆինային քրոմատագրում

Աֆինային քրոմատագրումը, որը հիմնականում կիրառվում է բիոմոլեկուլների բաժանման նպատակով ըստ դրանց բիոընտրողականության որոշակի լիգանդների հանդեպ, որոնք կովալենտ կապով կապված են մատրիքսի, այսինքն անշարժ ֆազի հետ:





Այս եղանակը հիմնականում կիրառվում է ֆերմենտների, սպիտակուցների անջատման համար արյան պլազմայից կամ այլ կենսաբանական հեղուկներից:

Քրոմատագրության հիմքում ընկած ֆիզիկո-քիմիական հիմունքները

Քրոմատագրության ենթարկվող նյութը ենթարկվում է մեկ կամ մի քանի նյութերի ազդեցությանը՝ սորբենտի կամ լուծիչի համակարգի կողմից:

1.Իոնական փոխազդեցության ուժերը դասվում են ավելի արդյունավետ ուժերի շարքին: Այդ ուժերը ի հայտ են գալիս ուժեղ թթվային կամ ուժեղ հիմնային սորբենտների, կամ իոնափոխանակիչների վրա քրոմատոգրաֆիայի ժամանակ: Փոխազդեցության այս ձևն իր տեղն ունի անիոնային միացությունների (օր. օրգանական թթուների քրոմատոգրաֆիան ալյումինի հիմնային օքսիդի վրա) կամ կատիոնների (օր. օրգանական հիմքերի քրոմատոգրաֆիան սիլիկագելի վրա, որը հիմնականում ունի թթվային բնույթ) քրոմատագրության ժամանակ: Իոնական ուժերի ազդեցության փոքրացնամ համար անհրաժեշտ է կիրառել բարձր դիէլեկտրիկ թափանցելիությամբ և մեծ դիպոլ մոմենտով լուծիչների համակարգեր (ջուր, բևեռային օրգանական լուծիչներ), որոնց մոլեկուլներն ի վիճակի են էկրանացնել իոնները, նվազեցնել լիցքերը և դրանով ապահովել իոնների շարժունակությունը: Այս համակարգերի թերությունը այն է, որ նրանք ցուցաբերում են բարձր քրոմատագրաֆիկ ակտիվություն և թույլ չեն տալիս լավ բաժանել այն նյութերը, որոնք տարբերվում են միմյանցից մոլեկուլում քիչ բևեռային խմբերով: Այդ պատճառով, մեծամասամբ կիրառվում են այնպիսի սորբենտներ և լուծիչների համակարգեր, որոնցում իոնների առաջացումն ընկճվում է:

2.Կոորդինացիոն փոխազդեցության ուժերը առաջանում են գերազանցապես այն սորբենտների միջև, որոնք ունեն ազատ օրբիտալ պարունակող ատոմներ (Al, Si, Ca, Mg, Fe և այլն) և ատոմների կամ ֆունկցիոնալ խմբերի միջև որոնք ունեն չբաժանված էլեկտրոնային զույգ պարունակող հետերոատոմներ (օր. –O–, **–N–,–S–, C=C,** հալոգեն և այլն): Կոորդինացիոն ուժերն ի հայտ են գալիս այն դեպքում, երբ քրոմատագրվող նյութերն կարող են դուրս մղել սորբենտի մակերեսին կապված լուծիչի մոլեկուլներին: Ֆունկցիոնալ խմբերի կոորդինացիոն ուժը նվազում է հետևյալ շարքում՝ NR2>**C≡N>CONH2>OR>OH>C=O>COOH>SR>NO2>C=C>**հալոգեն: Այս շարքը ճիշտ է միայն այն կոորդինացիոն փոխազդեցության ուժերի համար, որոնք հանդիսանում են սորբենտի մակերեսին ֆունկցիոնալ խմբերի փոխազդեցության ուժերից մեկը: <u>Արդյունքի բերող</u> ուժը՝ ֆունկցիոնալ խմբերի ադսորբելիությունը, որոշվում է ադսորբցիոն կենտրոնում այդ խմբերի փոխազդեցությունների բոլոր ուժերի գումարով: Այդ շարքում օր. ամինոխումբը կարող է դուրս մղել ջրի մոլեկուլներին սորբենտի մակերեսից, իսկ նիտրոխումբը կամ հալոգենը՝ ոչ:

Կոորդինացիոն կապերի առաջացումը և ամրությունը կախված է ինչպես քրոմատագրվող նյութի մոլեկուլում ֆունկցիոնալ խմբերի առկայությունից, այնպես էլ սորբենտում համապատասխան մետաղի ատոմի պարունակությունից: Այսպիսով, այդպիսի կապեր առաջացնելու ունակությամբ օժտված պինդ սորբենտների վրա քրոմատոգրումը կիրառելի է ֆունկցիոնալ խմբերի հասանելիությամբ տարբերվող իզոմերների բաժանման համար:

3.Դիպոլային փոխազդեցությունը հանդիսանում է միջին ուժերի փոխազդեցություն: Այս փոխազդեցության տեսակը պետք է հաշվի առնել մոլեկուլում ուժեղ հաստատուն դիպոլի առկայության դեպքում, երբ մոլեկուլում առկա են այնպիսի ֆունկցիոնալ խմբեր, ինչպիսիք են նիտրիլային, ամիդային, լակտամային, կարբոնիլային, կարբոքսիլային, հիդրոքսիլ խմբերը, նիտրոխմբերը և երբեմն հալոգենները: Կոորդինացիոն ուժերը մեծ դեր են խաղում հաստատուն ուժեղ դիպոլով համակարգերի քրոմատագրման ժամանակ (սպիրտեր, կետոններ, հալոգեն տեղակալված ածխաջրածիններ, եթերներ և այլն) կամ լավ արտահայտված դիպոլային բնույթով անշարժ ֆազերի ժամանակ (պոլիամիդ, պոլիակրիլոնիտրիլ, իոնափոխանակիչներ և այլն): Որոշ դեպքերում նրանք դրսևորվում են ալյումինի օքսիդի կամ սիլիկագելի վրա քրոմատագրության ժամանակ:

4.Ջրածնական կապերը հանդիսանում են քրոմատագրվող նյութերի վարքի բնորոշման ավելի իրական գործոն: Ջրածնական կապերն առաջանում են այն խմբերի միջև, որոնցում կա ակտիվ ջրածին՝ պրոտոնի տեսքով հանդես եկող, և չբաժանված էլեկտրոնային զույգով տեղակալիչ (Լյուիսի հիմք):

$$\mathbf{X–H} \quad + \quad \mathbf{D} \quad \rightarrow \quad \mathbf{X–H……D}$$

ջրածնի դոնոր	ջրածնի ակցեպտոր	ջրածնական կապ

որտեղ **D**-ն Լյուիսի հիմքն է, իսկ X=O, N, Cl, S երբեմն C: Այդ դեպքում, որպես կանոն, ջրածնական կապը այնքան ուժեղ է, որքան թույլ է կապված ջրածինը (որքան շատ է արտահայտված նյութի թթվային հատկությունը) և որքան ուժեղ է Լյուիսի հիմքը: Փոխազդեցության այս ձևը դասվում է միջին ուժերի շարքին, քանի որ կապի առավելագույն էներգիան չի գերազանցում 10 կկալ/մոլը:

Ջրածնի դոնոր կամ ակցեպտոր կարող է լինել ինչպես լուծիչը, այնպես էլ անշարժ ֆազը: Ըստ ջրածնական կապի առաջացման հեշտության, նյութերը կարելի է բաժանել 5 հիմնական խմբերի, որտեղ նյութերը դասավորված են կապի ամրության թուլացման ուղղությամբ: Օր.

ա) ջրածնի դոնորներ՝ CHCl3>**CH2Cl2>ClCH2CH2Cl**

բ) ջրածնի ակցեպտորներ՝ **R2N**>ալկիլհիդրազիններ> ազոմիացություններ> նիտրիլներ (առանց ջրածնի α-ածխածնի մոտ)>պարզ եթերներ>կետոններ>բարդ եթերներ> >նիտրոմիացություններ>արոմատիկ ածխաջրածիններ>օլեֆիններ,

գ) միացություններ, որոնք պարունակում են միաժամանակ և ջրածնի ակցեպտոր, և դոնոր խմբեր: Օր.՝ **–OH, –NH–**՝ թթուներ>ֆենոլներ>օքսիդներ>սպիրտներ>իմիդներ> >ամիդներ>հիդրազինի ածանցյալներ>առաջնային և երկրորդային ամիններ:

դ) նյութեր, որոնք մոլեկուլում պարունակում են ծայրահեղ դեպքում 2 վերը նշված խմբերից, որոնք միմյանցից բավարար հեռավորության վրա են գտնվում, և կարող են միջմոլեկուլային ջրածնական կապերի օգնությամբ առաջացնել ամուր տարածական ցանց (բազմահիմք թթուներ, սպիրտներ, ամիդներ և այլ բազմաֆունկցիոնալ նյութեր):

ե) նյութեր, որոնք չեն մասնակցում ջրածմական կապերի առաջացմանը՝ ծծմբաածխածին, քառաքլորածխածին, ցիկլոհեքսան, ալիֆատիկ ածխաջրածիններ:

Իզոմերների քրոմատագրաֆիկ վարքի զգալիորեն տարբերություն կարելի է դիտել համեմատելով այն իզոմերները, որոնք ունեն ջրածնական կապի առաջացման տարբեր ունակություն: Այս տեսանկյունից, եթե համեմատենք օ- և պ-նիտրոֆենոլները, օր. կարելի է տեսնել, որ պ-նիտրոֆենոլը կարող է կապվել ջրածնի ակցեպտոր հանդիսացող խմբի հետ, իսկ օ-նիտրոֆենոլը այդպիսի ունակություն չի ցուցաբերում, նրա ջրածինը մասնակցում է միայն ներմոլեկուլային ջրածնական կապի առաջացմանը:

Քրոմատագրվող նյութերի մոտ ջրածնական կապի առաջացման համար անշարժ ֆազը պետք է դեզակտիվացնել կամ ջրով, օրգանական թթվով, ամինով, ամիդով, գլիկոլով և այլն, կամ այն պետք է պարունակի իր ցանցում սեփական դոնոր և ակցեպտոր խմբեր (–**OH, –NH**–), այն կարևոր է թթվային և հիմնային իոնափոխանակիչների, պոլիամիդների, քիչ քանակությամբ ակտիվացված սորբենտների համար (սիլիկագել, ալյումինի օքսիդ, կրեմնեզեմ):

5.Խելատային կոմպլեքսի առաջացումը բնորոշ է այն սորբենտների համար, որոնք մետաղի ատոմի մոտ ունեն ազատ հիդրոքսիլ խումբ: Այս տիպի կապ կարող են առաջացնել հատկապես այն նյութերը, որոնք առաջացնում են ներմոլեկուլային ջրածնական կապեր: Այս տիպի կապերն առաջանում են α- և β-ամինոսպիրտների, α- և β-օքսիալդեհիդների կամ կետոնների, օ-ամինոֆենոլի, օ-օքսիբենզոական թթվի և այլնի քրոմատագրության ժամանակ ալյումինի օքսիդով, երկաթի օքսիդով, մագնեզիումի հիդրոքսիդով: Կախված սուբստրատի հատկություններից վերը նշված միացությունները առաջացնում են կամ խելատ (այդ դեպքում նշանակալիորեն մեծանում է սորբենտի և նյութի միջև փոխազդեցությունը) կամ ներմոլեկուլային ջրածնական կապ (այդ դեպքում սորբենտի և նյութի միջև փոխազդեցությունը նշանակալիորեն թուլանում է): Սա բացատրվում է օրինակ այն փաստով, որ վերը նշված միացություններից որոշների ալյումինի օքսիդով քրոմատագրության ժամանակ Rf-ի արժեքը ստացվում է փոքր, քան նրանց իզոմերներինը, մինչդեռ թղթի կամ սիլիկագելի վրա անալիզի անցկացման դեպքում նկատվում է հակառակ պատկերը:

6.Դիսպերսիոն (վանդերվալսյան) ուժերը դասվում են ավելի թույլ փոխազդեցության տիպին, նրանք պատասխանատու են մոլեկուլի ածխաջրածնային մասի հիդրոֆոբ փոխազդեցության համար, որոնք առաջանում են լուծիչի հետ քրոմատագրվող նյութի փոխազդեցության ժամանակ: Հատկապես այս ուժերն են պատասխանատու հոմոլոգների բաժանման համար, այնպես որ, որքան երկար է ածխածնային շղթան, այնքան արդյունավետ է լուծիչի հետ փոխազդեցությունը: Ինչպես վերը նշվել է, մոլեկուլում առանձին ֆունկցիոնալ խմբերը կարող են մասնակցել միաժամանակ տարբեր կապերի առաջացմանը: Սորբենտները և լուծիչները կարելի է գնահատել քրոմատագրվող նյութի հետ այս կան այն տիպի փոխազդեցություն առաջացնելու ունակությամբ:

Եթե անհրաժեշտ է բաժանել այն նյութերը, որոնք տարբերվում են միայն –CH2– խմբերի թվով (հոմոլոգներ), ապա պետք է ընտրել այնպիսի սորբենտ, որի բաժանող

ունակությունը պայմանավորված է հիմնականում դիսպերսիոն փոխազդեցության ուժով: Այդպիսի բաժանման համար (նրբաշերտ քրոմատագրության ժամանակ) ավելի նպատակահարմար է կիրառել այնպիսի սորբենտ, որը մշակված է պարաֆինային յուղով, փոշենման պոլիէթիլենը, ցելյուլոզան և ինակտիվացված սիլիկագելը, իսկ ալյումինի օքսիդը և ակտիվացված սիլիկագելը պիտանի չեն:

Անշարժ ֆազեր (սորբենտներ)

Բոլոր սորբենտները, ինչպես և ԲԷՀՔ-ում, բաժանվում են երկու խմբի՝

- բևեռային(հիդրոֆիլ) ֆազեր, կոչվում են նաև ուղիղ կամ նորմալ ֆազեր,
- ոչ բևեռային (լիպոֆիլ), կոչվում են նաև շրջված ֆազեր:

Կան նաև միջին բևեռայնության ֆազեր, մեծամասամբ դրանք մոդիֆիկացված սորբենտներ են ցիանո, դիոլ, ամինո խմբերով: Կախված էլուենտի բնույթից օգտագործվում են կամ բեևեռային կամ ոչ բևեռային ֆազեր: Բևեռային ֆազերը, որպես կանոն, կոմբինացվում են այնպիսի ոչ բևեռային շարժուն ֆազերի հետ, ինչպիսին է քլորոֆորմ/մեթանոլ խառնուրդը: Շրջված ֆազերը, հակառակը, օգտագործում են ջրային էլուենտների հետ: Որպես սորբենտներ լավ հայտնի են սիլիկագելը և ալյումինի օքսիդը, ունիվերսալ են և կիրառվում են տարբեր նյութերի վերլուծության համար: Բացի այդ, այս սորբենտները հարմար են նրանով, որ հեշտ է կարգավորել նրանց ակտիվությունը, փոխել pH-ը, հատիկավորումը և այլն: Կիրառվում է նաև ցելյուլոզա, պոլիամիդ:

<u>Սիլիկագել</u>

Սիլիկագելը բարձրածակոտկեն նյութ է, որն իրենից ներկայացնում է սիլիցիումի ջուր պարունակող օքսիդ: Այն ստացվում է ալկալիական մետաղների սիլիկատները թթվեցնելով և լվանալուց հետո ստացված սիլիկաթթուների գերհագեցած լուծույթը(դոնդողը) չորացնելով: Ստացվում է պինդ հիդրոֆիլ սորբենտ:

$$Na_2SiO_3+2HCl=2NaCl+H_2SiO_3$$

$$(n.SiO_2.mH_2O)= n.SiO_2+mH_2O$$

Սիլիկագելն ունի հսկայական մակերես, որը բաղկացած է միմյանցից 0,5նմ հեռավորության վրա գտնվող սիլանոլային (SiOH) խմբերից: Այդ խմբերն ունակ են առաջացնել ջրածնական կապեր միմյանց հետ կամ բեևեռային նյութի հետ: Դրանք ակտիվ կենտրոններ են, որոնց ակտիվությունից և քանակից կախված է սիլիկագելի ակտիվությունը: Եթե ադսորբենտի վրա ադսորբցված ջուրը հեռացվի, շատ կենտրոններ կակտիվանան: Ամենաշատ Si-OH խմբեր ունեցող և ամենաբարձր ակտիվությամբ օժտված է այն սիլիկագելը, որն ակտիվացված է 150^{0}C-ում: 200^{0}C-400^{0}C տաքացնելիս ջրի մոլեկուլներն անջատվում են և ակտիվությունը վերանում է Si-O կապեր առաջանալու պատճառով: Այս պրոցեսը դարձելի է: 400^{0}C-ից բարձր տաքացնելիս սիլիկագելի մակերեսը անդարձելի փոքրանում է:

Ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիայում օգտագործվում է չմոդիֆիկացված սիլիկագելը:

Սիլիկագելն իրեն նաև լավ է դրսևորում որպես անշարժ ֆազի կրիչ: Չափը, թե որքանով կբարձրանա միացությունը սիլիկագելից կազմված ադսորբենտով, կախված է նրա բևեռացման

աստիճանից: Քանի որ սիլիկագելը հանդիսանում է բևեռային անշարժ ֆազ, ապա բևեռային նյութերը ավելի քիչ հեռավորություն կանցնեն, քան ոչ բևեռայինները:

Սորբատի պահումը տեղի է ունենում բեևեռային խմբերի և սիլանոլային խմբերի փոխազդեցության շնորհիվ: Բևեռային սորբատը կարող է մտնել ուժեղ փոխազդեցության մեջ սիլիկագելի մակերեսի հետ, ինչի հետևանքով կարող են առաջանալ վատ բաժանված զոնաներ: Այդ պատճառով ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիայում այն կիրառվում է օրգանական լուծիչներում թույլ բևեռային նյութերի համար: Ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիային բնորոշ թերությունը դա լուծիչում առկա ջրի հետքերի ուժեղ ազդեցությունն է բաժանման վրա: Ջուրն ադսորբցվում է սիլիկագելի մակերեսին, որը դեակտիվացնում է սիլանոլային խմբերը: Տարբեր արտադրողների սիլիկագելերն ունեն բաժանման տարբեր հնարավորություններ, որը կախված է տարբեր հատիկավորումից, մակերեսի տարբեր մեծությունից, սիլանոլային խմբերի տարբեր տեսակից, ինչպես նաև մասնիկների ձևից և ծակոտիների չափերից:

Նրբաշերտ քրոնատագրման ժամանակ որպես անշարժ ֆազ կիրառում են նաև սիլիկագելի տարբեր մոդիֆիկացիաները:

Սիլիկագել G	+$CaSO_4$ D~15նմ	լայն կիրառում
Սիլիկագել GF_{254}	+ֆլուորեսցենցող նյութեր	դիտարկում են ՈւՄ լույսի տակ
Կիզելգուռ G	դիատոմիտ+$CaSO_4$	անշարժ ֆազի հիմք է (հեղուկ պարաֆին)

Առկա է նաև քիրալային խմբերով (օպտիկապես ակտիվ) սիլիկագել, որը հնարավորություն է տալիս բաժանել օպտիկապես ակտիվ նյութերն էնանտիոմերների:

Վերջերս թողարկվել է նաև սիլիկագել սիլպիրլ ՈւՄ$_{254}$-ը՝ աշտարակային և նրբաշերտ քրոմատագրման համար: Այս սիլիկագելն ունի լյումինոֆորի խառնուրդ և չի պարունակում կապակցող նյութեր: Սիլպիրլի առավելությունը նրա ունիվերսալությունն է: Կիրառվում է նաև սիլուֆոլ ՈՒՄ$_{254}$-ը, նույնպես ունիվերսալ սորբենտ է, ինչը թույլ է տալիս կիրառել մի քրոմատագրաֆիկ եղանակից մյուսին անցնելու ժամանակ:

Սիլիկագելի որակը որոշվում է ոչ միայն բաժանման էֆեկտիվությամբ, այլ նաև որոշ քիմիական անկայուն նյութերի կայունացմամբ քրոմատագրման ժամանակ: Սիլիկագելում խառնուրդների պարունակությունը կարող է բերել սխալների՝ նյութերի մաքրության որոշման և նրանց նույնականացման ժամանակ:

Ալյումինի օքսիդ

Սիլիկագելի հետ միասին առաջարկվում է նաև ալյումինի օքսիդի թիթեղներ: (կապող և չկապող, որոշակի pH-ի արժեքով, օրգանական և անօրգանական լյումինոֆորի հետ խառնուրդի ձևով, որը թույլ է տալիս հետազոտել քրոմոֆոր խմբերով նյութերը ՈւՄ-լույսով և այլն):Հարկ է ուշադրություն դարձնել, որ առկա են թթվային, չեզոք և հիմնային ալյումինի օքսիդներ: Ալյումինի այդ օքսիդների արտադրությունը կատարվում է ալյումինի հիդրօքսիդի դեհիդրատացման ճանապարհով: Ալյումինի օքսիդները հանդիսանում են բարձր ակտիվությամբ օժտված սորբենտներ, սակայն դրանք շատ արագ

կորցնում են ակտիվությունը օդից խոնավություն կլանելով: Բաժանման համար օգտագործվում է հիմնականում ոչ բևեռային լուծիչներ:

Համաշխարհային ճանաչում ունեն նաև կիզելգել G-ն և ալյումինի օքսիդ G-ն:

Ցելյուլոզա

Օգտագործվում է բնական կամ միկրոբյուրեղային ցելյուլոզան թելիկների տեսքով D<30նմ: Հիմնականում օգտագործվում է ացետիլացված ցելյուլոզան ացետիլացման տարբեր աստիճաններով: Ացետիլացման աստիճանի բարձրացման հետ մեծանում է հիդրոֆոբ հատկությունները: Սակայն լուծիչի ընտրության հարցն այստեղ բավականին սուղ է ացետիլ ցելյուլոզայի լուծելիության պատճառով: Ցելյուլոզան օգտագործվում է նաև դիէթիլամինոացետիլցելյուլոզայի և պոլիէթիլենիմինցելյուլոզայի տեսքով որպես անիոնափոխանակիչ սորբենտ ՆՇՔ-ի բաժանման համար, օրինակ, նուկլեինաթթուների և տետրացիկլինների բաժանման համար սորբենտ:

Պոլիամիդ

Որպես անշարժ ֆազ պոլիամիդը հիմնականում օգտագործվում է ֆենոլային միացությունների բաժանման համար, սակայն ամինաթթուները, պոլիցիկլիկ արոմատիկ ածխաջրերը նույնպես կարող են հեշտությամբ բաժանվել պոլիամիդով: Ֆենոլային հիդրոֆիլ և ամիդային խմբերի միջև առաջանում է ջրածնական կապեր: Ջրածնական կամրջակներով պոլիամիդի հետ կապվում են նաև կարբոնաթթուները, ընդ որում, մոնոկարբոնաթթուներն ունեն թույլ խնամակցություն, իսկ դիկարբոնաթթուները և արոմատիկ թթուներն ունեն ուժեղ խնամակցություն պոլիամիդի նկատմամբ:

Որպես ստանդարտ կրիչներ առաջարկվում են պոլիամիդների հետևյալ տեսակները՝ պերլոն և նեյլոն: Պերլոնը դա պոլիկապրոլակտամն է (պոլիամիդ 6), նեյլոնը՝ պոլիհեքսամեթիլենդիամինադիպինատ (պոլիամիդ 66): Ջրածնական կամրջակների շնորհիվ առաջացած կապերի արդյունքում դրանք բավականին դժվար են լուծվում հիդրոֆիլ լուծիչներում, սակայն ունակ են ուռչեցման: Պոլիամիդը կիրառվում է տարբեր բնական ֆենոլային միացությունների անջատման և կառուցվածքային անալիզի համար: Կախված արոմատիկ օղակում հիդրոքսիլ խմբերի քանակից և դիրքից պոլիամիդի նկատմամբ ֆենոլային միացությունների խնամակցության վրա էականորեն ազդում է օգտագործվող լուծիչը:

Պոլիամիդի վրա հնարավոր է բաժանել նաև նիտրոարոմատիկ միացություններ: Նիտրոածանցյալների փոխազդեցությունը պոլիամիդի հետ նման է Լյուիսի թթուների և հիմքերի հետ փոխազդեցությանը, ուստի նիտրոարոմատիկ միացությունների բաժանումը կարող է դիտվել որպես իոնափոխանակություն:

Շրջված ֆազեր

Սիլիկագելի սիլանոլային խմբերի ալկիլացումը բերում է այսպես կոչված շրջված ֆազերի առաջացմանը: Այն դեպքում, երբ նորմալ ՆՇՔ ֆազերի դեպքում անշարժ ֆազը միշտ հանդիսանում է ավելի բևեռային, քան շարժուն ֆազը, շրջված ֆազերի դեպքում այդ հարաբերակցությունը հակառակն է: Այս դեպքում ածխաջրածնային շղթայի մեծացման

դեպքում հիդրոֆոբությունը մեծանում է: Ինչպես ԲԷՀՔ-ում, այնպես էլ ՆՇՔ-ում օգտագործվում է էթիլ ($C_2OՖ2$), օկտիլ ($C_8OՖ8$) կամ օկտադեցիլ ($C_{18}OՖ18$) խմբեր:

Որպես էլուենտ օգտագործվում է մեթանոլի և ացետոնիտրիլի ջրային խառնուրդը: Բաժանվող նյութերի պահումը կախված է օրգանական լուծիչում ջրի պարունակությունից: Ջրի քանակի շատացման դեպքում, բաժանման ժամանակը մեծանում է այնքան ժամանակ, քանի դեռ էլուացումը չի դադարել: Շրջված ֆազային ռեժիմում բաժանումը կարելի է օպտիմիզացնել փոխելով շարժուն ֆազերը: Էլուենտում օրգանական լուծիչի քանակի շատացման դեպքում, նյութերի պահումը դանդաղում է: Ընդհանուր առմամբ ենթադրվում է, որ նմուշի մոլեկուլի բևեռայնության մեծացման հետ պետք է մեծանա ջրի քանակը շարժուն ֆազում:

Քրոմատագրման համակարգի ընտրություն

Իմանալով քրոմատագրվող նյութի բևեռայնությունը, կարելի է ընտրել համապատասխան ակտիվությամբ սորբենտ և համապատասխան բևեռայնությամբ լուծիչի համակարգի, որը կապահովի արդյունավետ բաժանումը:

<u>Սորբենտի ընտրություն:</u> Սորբենտի ընտրության համար մեծ նշանակություն ունեն որոշվող նյութերի մոլեկուլում ֆունկցիոնալ խմբերի քանակը և բնույթը: Որպես կանոն, սորբենտի հետ նյութերի փոխազդեցության ուժը աճում է ֆունկցիոնալ խմբերի քանակի և դրանց ադսորբցիոն հատկությունների մեծացման հետ: Բրոկմանն ու Վոլպերսը զբաղվել են առանձին ֆունկցիոնալ խմբերի ադսորբցիոն ակտիվության ուսումնասիրությամբ, և դասավորել են այդ խմբերը ըստ բևեռայնության աճի՝

Cl<H<OCH3<NO2<N(CH3)2<COOCH3<OAc<NH2<OH<CONH2<COOH:

Այս շարքն ունի զուտ տեղեկատվական բնույթ, դրանում հերթականությունը կախված է և սորբենտի բնույթից, և լուծիչի համակարգից, և վերջապես մոլեկուլի մնացած հատվածներից, էլեկտրոնային խտությունից, որոնք ազդում են ֆունկցիոնալ խմբերի վրա: Այդ պատճառով, միշտ խելամիտ է դատել տվյալ նյութի քրոմատագրաֆիկ բաժանման հնարավորությունները՝ հիմնվելով դրանց քիմիական բնույթի անալիզի հիման վրա: Ըստ վերը նշվածի, պետք է առաջնորդվել հետևյալ կանոններով.

1.Այն նյութերը, որոնք տարբերվում են շղթայում ածխածնի ատոմների քանակով կամ շղթայի ճյուղավորման բնույթով, անհրաժեշտ է բաժանել այն սորբենտների վրա, որոնք ընդունակ են առաջացնել դիսպերսիոն փոխազդեցություն (սորբենտները, որոնք ներծծված են ածխաջրածիններով կամ սիլիկոնային յուղով, և ավելի քիչ՝ թույլ ակտիվությամբ սորբենտները):

2.Նյութերը, որոնք միմյանցից տարբերվում են կրկնակի կամ եռակի կապերի քանակով, կարելի է բաժանել այն սորբենտներով, որոնք կարող են առաջացնել ուժեղ կոորդինացիոն կապեր (ակտիվացված ալյումինի օքսիդ, սիլիկագել, գիպս): Հատկապես հստակ բաժանում է իրականացվում է սիլիկագելի վրա, որը ներծծված է ազոտաթթվային արծաթով, քանի որ արծաթի իոններն օլեֆինների և ացետիլենի հետ առաջացնում են կայուն կոմպլեքս միացություններ:

3.Նյութերը, որոնք տարբերվում են միայն ֆունկցիոնալ խմբի դիրքով և տարածական դասավորությամբ, ակտիվ սորբենտների վրա բաժանվում են շատ ավելի լավ, քան թույլ ակտիվությամբ սորբենտների վրա:

4.Մեկ ֆունկցիոնալ խումբով նյութերը, որոնք տարբերվում են միմյանցից այդ խմբի բնույթով համեմատաբար հեշտ են բաժանվում բոլոր տիպի սորբենտներով:

5.Մեծ քանակությամբ բևեռային խմբեր պարունակող նյութերի բաժանման պայմանների ընտրության ժամանակ, անհրաժեշտ է գնահատել յուրաքանչյուր նյութում առանձին խմբերի միմյանց վրա փոխադդեցության հնարավորությունները և միայն հետո իրար հետ համեմատել առանձին նյութերը: Բևեռային խմբերի քանակի մեծացման հետ ակտիվ սորբենտի զգայունությունը ամեն հաջորդ խմբի հանդեպ նվազում է: Այդ պատճառով, սիլիկագելի և ալյումինի օքսիդի վրա քրոմատագրման համար խելամիտ է նվազեցնել ֆունկցիոնալ խմբերի բևեռայնությունը (օր.հիդրօքսիլ և կարբօքսիլ խմբերի էսթերիֆիկացիա): Այն դեպքում, երբ բևեռային խմբերի այդպիսի մոդիֆիկացիան չի բերում բավարար բաժանման, անհրաժեշտ է դիմել բաշխիչ քրոմատոգրությանը, որը զգայուն է որոշակի թվով և բնույթով ֆունկցիոնալ խմբերի հանդեպ: Մոլեկուլում մի քանի բևեռային խմբեր պարունակող նյութերի բաժանման համար կարելի է կիրառել ուժեղ ինակտիվացված սիլիկագել, կիզելգուռ, սիլոն և կիզելգուռ՝ ներծծված պարաֆինով, ֆորմամիդով և այլն:

Լուծիչների համակարգի ընտրություն: Ինչպես փորձը ցույց է տվել, լուծիչների համակարգի բաժանող ունակությունն առավելագույնն է RF – ը 0.5- ի մոտ , և նվազում է ինչպես մեկնարկի կողմը, այնպես էլ ճակատի կողմը: Դրա հետ կապված, քրոմատոգրության միջոցով տվյալ նյութերի խառնուրդի բաժանման համար անհրաժեշտ է օգտագործել այնպիսի լուծիչների համակարգ, որում առանձին բաղադրիչները դասավորված են սիմետրիկ և մոտ են RF=0.5 գծին: Տարբեր լուծիչներ ցուցաբերում են նյութերի տարբեր էլյուիրացնող ունակություն:Դրա հիման վրա որոշ հեղինակներ փորձել են համակարգել լուծիչները՝ կազմելով, այսպես կոչված, էլյուոտրոպ շարքեր: Այս շարքերը նման են մեկը մյուսին, բայց ամբողջությամբ չեն համընկնում: Լուծիչների հաջորդականությունն էլյուոտրոպ շարքում ճիշտ է միայն սահմանափակ թվով բաժանման դեպքերի համար և կախված է նյութերի այն խմբերի բնույթից, որոնց հիման վրա այն կառուցվել է: Օր. Տրապի տվյալներով դիէթիլեթերը ցուցաբերում է ավելի մեծ քրոմատոգրաֆիկ ակտիվություն, քան քլորոֆորմը, իսկ այլ հեղինակների մոտ այդ պատկերը հակառակն է: Այդ շարքերի համեմատ, ավելի շատ տարբերություն կա Ստրեյնի շարքում, որում դիէթիլեթերը և ացետոնը գտնվում են բենզոլից առաջ:

Այդ տարբերությունները բացատրվում են նրանով, որ լուծիչի էլյուիրացնող ունակությունը որոշվում է քրոմատագրվող նյութի հետ բոլոր տիպի փոխազդեցությունների գումարով: Այն դեպքում, երբ ուժերը իրենցից ներկայացնում են դիսպերսիոն փոխազդեցության ուժեր և դիպոլների ասոցացիա, լավ ցուցանիշ է հանդիսանում լուծիչի դիէլեկտրիկ թափանցելիությունը, որը պրակտիկորեն համեմատական է լուծիչի և նյութի միջև փոխազդեցության ուժին: Այն դեպքում, երբ կարող

են առաջանալ ջրածնական կապեր, պետք է հաշվի առնել, թե որքան ուժեղ դոնոր կամ ակցեպտոր է լուծիչը: Այդ չափանիշը կարելի է կիրառել նաև այն դեպքում, երբ ենթադրվում է կոորդինացիոն կապերի առաջացում: Այսպիսով լուծիչների գնահատման համար անհրաժեշտ է հաշվի առնել առանձին փոխազդեցությունների ձևերը:

Յուրաքանչյուր լուծիչի համար գերակշռում է փոխազդեցության որոշակի ձև: Օր. քրոմատագրվող նյութի փոխազդեցությունը հեքսանի հետ իրականանում է միայն ի հաշիվ դիսպերսիոն փոխազդեցության: Քլորոֆորմը փոխազդում է դիպոլների ասոցիացիայի միջոցով, ցուցաբերելով բաժանվող նյութերը կապելու թույլ արտահայտված ունակություն, ի հաշիվ դիսպերսիոն ուժերի և ջրածնական կապերի միայն այն դեպքում, երբ քրոմատագրվող նյութը հանդիսանում է ջրածնի ակցեպտոր: Նման կերպով է դրսևորում իրեն դիէթիլեթերը, միայն ի տարբերություն քլորոֆորմի կարող է առաջացնել ամուր ջրածնական կապեր, երբ բաժանվող բաղադրիչը ջրածնի դոնոր է: Այս օրինակներից երևում է, որ էլյուտրոպ շարք կազմելու փորձը անհաջող է և լուծիչների համակարգի էլյուտրոպ ունակության գնահատման համար պետք է հաշվի առնել բոլոր տիպի փոխազդեցությունները և նրանց ինտենսիվությունը:

Ցանկացած էլյուիրացնող ունակությամբ համակարգ ստանալու ամենապարզ եղանակը դա երկու տարբեր բևեռայնությամբ լուծիչների իրար խառնելն է: Ավելի բևեռային լուծիչի կոնցենտրացիայի գծային մեծացման դեպքում, օր.1-4%, համակարգի էլյուիրացնող ունակությունը աճում է ոչ թե գծային, այլ՝ համարյա էքսպոնենցիալ, այսինքն, սկզբում ավելի բևեռային լուծիչի քիչ քանակություն ավելացնելու դեպքում՝ շատ արագ: Որքան շատ է երկու լուծիչների բևեռայնությունների տարբերությունը, այնքան շատ էէքսպոնենցիալ կորի սկզբնական վերելքի թեքությունը (կորությունը):

Տարբեր բևեռայնությամբ երկու լուծիչների խառնումից կարելի է պատրաստել ցանկացած էլյուիրացնող հատկությամբ համակարգ: Ոչ բոլոր համակարգերն են, որոնցում քրոմատագրվող նյութի RF=0.5 ապահովում են տվյալ խմբի նյութերի բաժանումը: Այդ պատճառով, երբեմն անհրաժեշտ է լինում փորձել տարբեր բնույթով մի քանի լուծիչների համակարգեր՝ միանման էլյուտրոպ ունակությամբ և կանգ առնել այն համակարգի վրա, որում բաժանումը օպտիմալ է: Այդպիսի ադեկվատ համակարգերի օրինակ կարող է ծառայել քլորոֆորմի, եթերի և էթանոլի 5%-անոց լուծույթը բենզոլում, որում քլորոֆորմը ջրածնի դոնոր է, եթերը՝ ջրածնի ակցեպտոր, իսկ երրորդ համակարգը ունի դոնոր-ակցեպտորային բնույթ: Այդ համակարգերի բաժանող ունակության տարբերությունները պետք է ուսումնասիրել քիչ բևեռային կամ միջին բևեռայնությամբ նյութերի խառնուրդների քրոմատոգրության ժամանակ:

Նրբաշերտ քրոմատագրություն

Նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիան (ՆՇՔ) հայտնի է դարձել 1930թ.-ին որպես միկրոգրոմատոգրաֆիա: Նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիայում խառնուրդի բաժանումը տեղի է ունենում անշարժ և շարժուն ֆազերի միջև բաղադրիչների բաշխման միջոցով և ի տարբերություն աշտարակային քրոմատոգրաֆիայի բաժանման պրոցեսը տեղի է ունենում բաց համակարգում՝ հարթ շերտի վրա:

Նրբաշերտ քրոմատագրման ժամանակ հետազոտվող նյութն անցնում է անշարժ ֆազով շարժուն ֆազի օգնությամբ, որը տեղաշարժվում է սորբենտի վրայով մազանոթային ուժերի ազդեցությամբ: Նրբաշերտ քրոմատագրումը կարող է ընթանալ տարբեր մեխանիզմներով, բայց առավել հաճախ այն ադսորբցիոն է: Այս եղանակը կիրառվում է դեղանյութերի բաժանման, որակական և քանակական, ինչպես նաև այլ թույլատրելի և անթույլատրելի խառնուրդների որոշման համար: Քրոմատագրման այս եղանակի առավելություններն են հանդիսանում՝

- ընտրելով համապատասխան ազդանյութերը՝ կարելի է կիրառել տարբեր միացությունների որոշման համար:
- դենսիտոմետրիկ որոշման հետ համատեղ կիրառվում են այն նյութերի քանակական վերլուծման համար, որոնք հնարավոր չէ որոշել քրոմատագրման այլ եղանակներով:
- կարող է կիրառվել մի քանի նմուշների միաժամանակյա բաժանման համար միևնույն պայմաններում,
- նմուշի պատրաստումը բավականին պարզ է,
- բաժանման արդյունքը հնարավոր է գնահատել վիզուալ,
- էժան որոշման եղանակ է,
- բաժանման պրոցեսը պարզ է և արագ,
- ունի լավ վերարտադրողականություն, քանի որ քրոմատոգրաֆիկ թիթեղն օգտագործվում է միայն մեկ անգամ,
- քրոմատագիրը պահպանվում է թիթեղի վրա, ինչը ամրապնդում է արդյունքների գնահատումը և դրանց փաստաթղթավորումը,
- բացառվում է աղտոտվածության վտանգը, քանի որ թիթեղն օգտագործվում է միայն մեկ անգամ,
- օգտագործվում է լուծիչի քիչ քանակություն,
- բավականին ճկուն եղանակ է, քանի որ քրոմատագրման թիթեղները կարող են մշակվել տարբեր ռեագենտներով, որոնք անշարժ ֆազին կհաղորդեն անհրաժեշտ հատկություններ:

ՆՇՔ-ի հիմնական թերությունը դա ցածր զգայունությունն է և բաժանումը ավելի վատ է տեղի ունենում, քան գազային և ԲԷՀՔ-ի դեպքում: Բացի այդ, այս եղանակը պահանջում է հետազոտողի բարձր հմտություններ:

ՆՇՔ-ի ժամանակ հիմնական ուշադրությունը պետք է դարձնել այն փաստի վրա, որ, ի տարբերություն քրոմատագրման այլ եղանակների, այստեղ բաժանումը ընթանում է բաց համակարգում: Աշտարակային քրոմատոգրաֆիայում անշարժ ֆազը գտնվում է փակ

համակարգում, որն անընդհատ լվացվում է շարժուն ֆազով: Այդ դեպքում երկու ֆազերը գտնվում են հավասարակշռության մեջ:

ՆՇՔ-ի ժամանակ քրոմատոգրաֆիկ ֆազը սկզբում գտնվում է լաբորատոր օդի պայմաններում: Այստեղ արդեն մակերեսային ակտիվ շերտը կարող է ադսորբել նյութեր շրջակա միջավայրից: Նմուշի անցկացումից հետո միայն անշարժ ֆազը շփվում է էլուենտի հետ, հավասարակշռությունը կարող է չհասցնի հաստատվել: Գործնականում աշխատում են "բաց աշտարակով", չնայած որ շրջակա օդն ազդում է քրոմատոգրաֆիկ բաժանման վրա: Նյութերի պահման մեծության չափը կարող է տարբեր լինել, եթե օրինակ, խցիկի օդը հագեցած է հեղուկ ֆազով (հագեցած խցիկներ) կամ եթե դա տեղի չի ունենում:

ՆՇՔ անալիզի անցկացում

Նրբաշերտ քրոմատագրման անցկացման համար անհրաժեշտ է ապակյա կամ պլաստիկ թիթեղ, որի վրա անցկացված է սիլիկագելի բարակ շերտ, որտեղ մասնիկների չափսերը 2-25նմ է: Թիթեղի ծայրից մոտ 1սմ հեռավորության վրա մատիտով անցկացվում է մեկնարկային գիծ, որի վրա միկրոմազանոթի օգնությամբ ավելացվում է հետազոտվող նմուշի մոտ 1նլ լուծույթ:Նմուշի չորանալուց հետո թիթեղը տեղադրվում է քրոմատագրման խցիկի մեջ, որի հատակում մինչև 0,5սմ խորությամբ լցված է շարժուն ֆազը: Շարժուն ֆազը մազանոթային ուժերի ազդեցությամբ սկսում է բարձրանալ թիթեղով և երբ հասնում է ճակատային գծին, թիթեղն արագ հանում են խցիկից և հորիզոնական վիճակում թողնում են մինչև լուծիչների լրիվ հեռացումը: Այնուհետև կատարում են քրոմատագրի հայտածում և ստացված հետքերի հետազոտում:

Հայտածումից հետո թիթեղի վրա ի հայտ է գալիս քրոմատագիրը հետքերի ձևով: Քրոմատոգիրն ուսումնասիրում են տեսանելի կամ ՈւՄ լույսի (254 կամ 365նմ ալիքի երկարության) տակ: Անհրաժեշտության դեպքում կատարում են հայտածում համապատասխան ազդանյութերով, որոնք տալիս են բնորոշ գունավորում հետազոտվող նյութերի հետ:

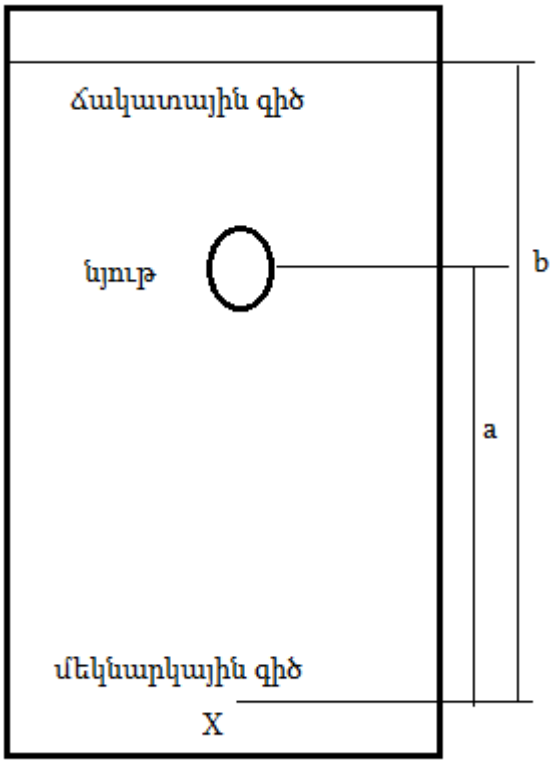
Նյութերի հայտնաբերման կարևոր ցուցանիշ է հանդիսանում Rf-ի արժեքը, որը բնորոշ մեծություն է տվյալ նյութի համար ընտրված լուծիչների համակարգում: Rf-ի արժեքն իրենից ներկայացնում է մեկնարկային գծից մինչև հետքի կենտրոնը եղած հեռավորության հարաբերությունը մեկնարկային գծից մինչև ճակատային գիծ եղած հեռավորությունը:

$$R_f=a/b$$

Նյութերի քանակական որոշման համար մինչ այսօր օգտագործվում են հետևյալ մոտեցումները՝

- Վիզուալ համեմտաում են հետքերի մակերեսները
- Էքստրակցիա կամ նյութերի որոշում այլ եղանակներով

- Սպեկտրոսկոպիկ եղանակներ



Քրոմատագրի մշակում

Էլուացման պրոցեսից հետո նրբաշերտ թիթեղները հանում են խցիկից և միանգամից չորացնում, որպեսզի կանխեն նյութերի հետքերի հետագա դիֆուզիան: Այդ ընթացքում քրոմատոգիրը կարծես թե ,սառում էե և բաժանված նյութերը նույնականացվում են թիթեղի վրա: Դա շատ ավելի հեշտ է ստացվում գունավոր միացությունների դեպքում, որոնք անմիջապես երևում են թիթեղի վրա: Որպեսզի բաժանված նյութերը դառնան տեսանելի, ՆՇՔ-ում գրեթե միշտ օգտագործվում են ցայտացրող ռեագենտներ: Դրանք սորբենտի մակերեսի վրա նյութերի հետքերի հետ առաջացնում են գունավոր կոմպլեքսներ:

Շատ նյութեր դառնում են տեսանելի կլանման կամ ֆլյուորեսցենցիայի շնորհիվ, եթե նրբաշերտ թիթեղը ուսումնասիրում են կարճ ալիքային կամ հեռակա ՈւՄ լամպի տակ:

ՈւՄ լույսի տակ ուսումնասիրում

ՈւՄ լույսի տակ ուսումնասիությունը դա բաժանված նյութերի հայտնաբերման արագ և պարզ եղանակ է: Որպես ՈւՄ լույսի աղբյուր կարելի է կիրառել □Ֆիլորան□, որը ունի լայն անընդհատ սպեկտր, կամ □Քրոմատոլայտը□, որը տալիս է կլանում 254 կամ 366 նմ-ում:

Այն նյութերը, որոնք կլանում են ուլտրամանուշակագույն ճառագայթները 254նմ-ում, շերտի վրա կարող են հայտնաբերվել ֆլյուրոսցենտային ինդիկատորի միջոցով, որի դրդող ալիքի երկարությունը 254նմ է և ունի կանաչ ֆլյուորեսցենցիա:

Այն նյութերը, որոնք դրդվում են ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներով մինչև իրենց սեփական ֆլյուորեսցենցիան, թիթեղների վրա կարելի է հայտնաբերել առանց որևէ

ֆլյուորեսցենտային ինդիկատորի: ՈւՄ ճառագաթների ազդեցության տակ մուգ ֆոնի վրա դրանք դառնում են տեսանելի որպես լուսարձակող գունավոր ֆլյուորեսցենտային զոնաներ: Այս երկու եղանակն էլ չի խախտում հետազոտվող միացության քիմիական կառուցվածքը և հաճախ հարմար է օգտագործել գործնական նպատակներով: Հայտնի է նաև, որ որոշ նյութեր սենյակային ջերմաստիճանում ՈւՄ լույսով չեն ֆլուորեսցենցում կամ ֆոսֆորեսցենցում, այդ նյութերը տեսանելի են դառնում հեղուկ ազոտի միջավայրում՝ թիթեղի վրա կաթեցնում են հեղուկ ազոտ և այնուհետև լուսաբանում ՈւՄ լույսով:

Քրոմատագրի ուսումնասիրումը դերիվատիզացիայի միջոցով

Կան շատ միացություններ, որոնք անգույն են, ՈւՄ սպեկտրում տալիս են աննշան կլանում և չունեն ֆլյուորեսցենցիա: Դերիվատիզացիայի ռեակցիաներն օգտագործվում են այն դեպքում, երբ առանձին բաժանված ֆրակցիաները հնարավոր չէ հայտնաբերել ՈւՄ ճառագայթների օգնությամբ կամ դրանց հայտնաբերման զգայնությունը բավարար չէ: Իրականում կարոր չէ, թե դերիվատիզացնող ազդանյութը օգտագործվում է նմուշի անցկացումից առաջ (նախաքրոմատոգրաֆիկ դերիվատիզացիա), թե էլուացումից հետո (հետքրոմատոգրաֆիկ դերիվատիզացիա):

Նախաքրոմատոգրաֆիկ դերիվատիզացիան անհրաժետ է վիզուալիզացիայի համար, բացի դրանից, որպեսզի բարձրացնեն նաև հետազոտվող միացությունների բաժանման ընտրողականությունը, կամ որպեսզի անկայուն միացություններին դարձնեն կայուն: Հետ քրոմատոգրաֆիկ դերիվատիզացիան առաջին հերթին ծառայում է բաժանված նյութերի վիզուալիզացիայի համար կամ հայտնաբերման զգայնության բարձրացման համար: Շնորհիվ մի շարք ազդանյութերի բաժանված նյութերը դառնում են տեսանելի: Այդ ազդանյութերից որոշներն առկա են պատրաստի ձևով, իսկ որոշները անհրաժեշտ է պատրաստել լաբորատոր պայմաններում: Ազդանյութերով ցայտացրումը պետք է կատարել այնպես, որպեսզի նյութերի հետքերը չմաքրվեն:

Որոշ ազդանյութեր կարող են տրվել գազային ֆազի միջոցով կամ շարժուն ֆազի հետ խառնելով: Հաճախ ազդանյութերով հայտածումից հետո ռեակցիան արագացնելու համար քրոմատոգիրը պետք է տաքացնել չորացնող պահարանում կամ էլեկտրական վառարանի վրա:

Ունիվերսալ հայտածիչներ

Ավելի տարածված ոչ սպեցիֆիկ հայտածիչներ են հանդիսանում թթվային հայտածիչները: Կոնցենտրիկ կամ երբեմն մեթանոլային լուծույթով ծծմբական թթվի ցայտացրելը, հաջորդական տաքացումը մինչև 100^{0}C, իրենից ներկայացնում է շատ զգայուն մեթոդ, որը տալիս է նյութերի առանձին խմբերի հետքերի բնորոշ գունավորում: Գունավորության զգայունությունը և խորությունը երբեմն կարելի է մեծացնել ավելացնելով քիչ քանակությամբ արոմատիկ ալդեհիդ (օրինակ վանինիլին):

Այլ թթվային հայտածիչներից հաճախ օգտագործում են ամոնիումի մոլիբդատի և ծծմբական թթվի խառնուրդը, ֆոսֆորոմոլիբդենային թթուն և այլն:

Ունիվերսալ հայտածիչ է յոդը: Հետազոտությունը իրականացնում են քրոմատագրաֆիկ թիթեղի վրա յոդի 1%-անոց սպիրտային լուծույթ ցայտացրելով կամ նրա մշակումով յոդի գոլորշիներով փակ տարածքում: Արդյունավետ միջոց է, համաձայն որի, մաքուր ապակե թիթեղի վրա կաթեցնում են թարմ պատրաստված յոդի լուծույթ ացետոնում, թողնում են ացետոնը ցնդի: Թիթեղի վրա մնում են յոդի մանր բյուրեղներ: Այդ թիթեղը պահում են անմիջապես քրոմատոգրամի մոտ, մի քանի վայրկյան հետո սկսում են ի հայտ գալ շագանակագույն հետքեր:

Յոդով հայտածումն ունի այն առավելությունը, որ յոդը որոշ ժամանակ անց ցնդում է թիթեղի մակերեսից, ինչը թույլ է տալիս այնուհետև օգտագործել այլ հայտածիչներ: Յոդով հայտածումը հարմար է պրեպարատիվ բաժանման համար կամ քանակական վերլուծության ժամանակ: Հետքերը կարելի է ավելի կոնտրաստ դարձնել քրոմատագրի վրա օսլայի լուծույթ ցայտացրելով: Հայտածումից անմիջապես հետո հետքերը պետք է եզրագծել:

Հայտածման ժամանակ հաճախ կիրառվում են ֆլյուորեսցենտող նյութեր:

Ունիվերսալ հայտածման ոչ սպեցիֆիկ եղանակ է հանդիսանում նաև քրոմատագրի մշակումը էֆեկտիվ օքսիդիչով, օրինակ, 0,1ն կալումի պերմանգանատի վրա քացախաթթվի լուծույթ ավելացնելով: Այս դեպքում մի շարք նյութեր հայտածվում են դեղին/սպիտակ/ հետքերի տեսքով վարդագույն ֆոնի վրա:

Ստորև բերված աղյուսակում ներկայացված են առավել տարածված ազդանյութերը, որոնք օգտագործվում են տարբեր միացությունների դասերի համար:

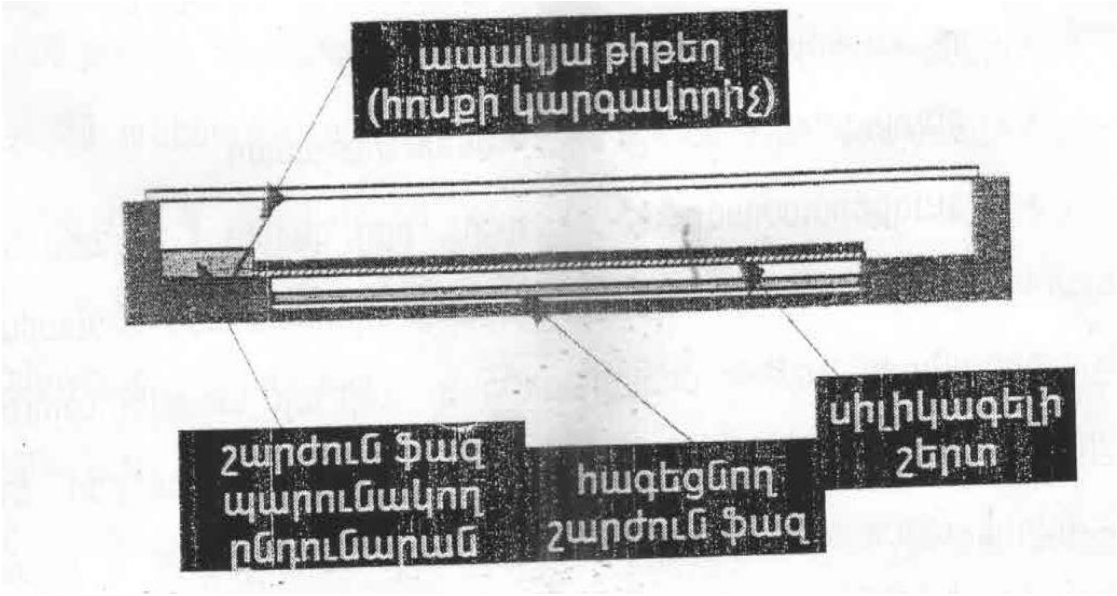
Հայտածող ազդանյութը	**Որակական ռեակցիան**
Նինհիդրին	Ամինաթթուներ և դրանց ածանցյալներ, պեպտիդներ, սպիտակուցներ, արոմատիկ ամիններ
Յոդի գոլորշիներ	Չհագեցած միացություններ, միացություններ, որոնք հարուստ են ջրածնով
Ռոդամին Բ	Լիպիդներ, ստերոիդներ, եթերներ, ինչպես նաև ածխաջրեր
Ֆոսֆորմոլիբդենային թթու	Վերականգնիչ միացություններ, օրինակ նյութեր հիդրոքսիլ խմբերով
Դիմեթիլամինբենզալդեհիդ	Առաջնային ամինոխմբեր
Բրոմկրեզոլ կանաչ	Թթուներ

ՆՇՔ-ի հատուկ եղանակներ

Երբեմն ավելի արդյունավետ բաժանման համար կիրառվում են բազմակի (կրկնակի) և երկչափ քրոմատագրման եղանակները: Կրկնակի քրոմատագրման դեպքում թիթեղը չորացնելուց հետո նորից են անցկացնում նույն կամ այլ լուծիչների համակարգով նույն ուղղությամբ: Իսյ երկչափ քրոմատագրման ժամանակ հաջորդ քրոմատագրումն իրականացնում են նույն կամ այլ լուծիչների համակարգով ուղղահայաց ուղղությամբ: Երկչափ քրոմատագրման դեպքում նպատակահարմար է կիրառել քառակուսի թիթեղներ, որոնց անկյունագծի վրա որևէ անկյան մոտ ավելացվում է հետազոտվող նմուշը:

Բարձրաէֆեկտիվ նրբաշերտ քրոմատագրում

ԲԷՆՇՔ իրականացվում է այնպիսի քրոմատագրման թիթեղներով, որոնք պատված են մաքուր սիլիկագելով, որի մասնիկների չափը 2-10նմ է, ի տարբերություն ստանդարտ ՆՇՔ թիթեղների, որոնց դեպքում սիլիկագելի մասնիկների չափը 2-25նմ է: Մասնիկների չափսի ավելի նեղ տիրույթը ենթադրում է ավելի մեծ բաժանման հնարավորություն, որի արդյունքում ստացված հետքերը լինում են ավելի խիտ: Այս եղանակը հիմնականում իրականացվում է թիթեղների հորիզոնական դիրքում համապատասխան սարքավորման միջոցով:



Հորիզոնական դիրքի առավելություններն են՝

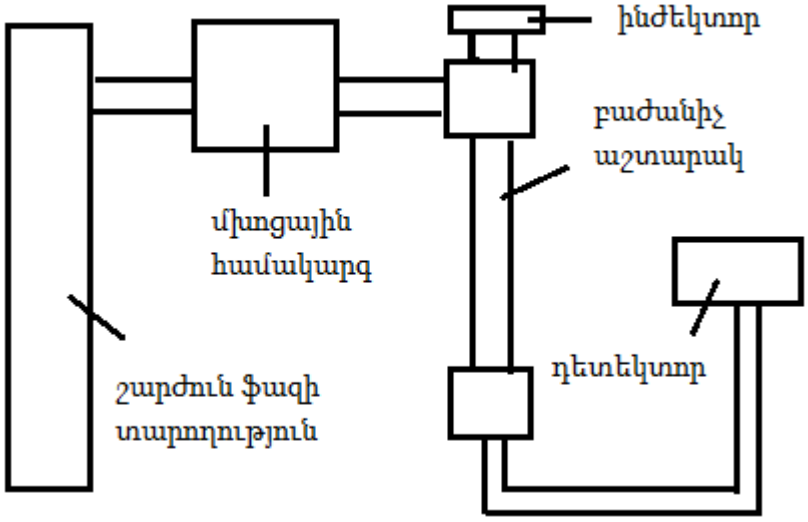
- Շարժուն ֆազը տեղաշարժվում է ավելի արագ,
- Թիթեղի մակերեսի մոտիկությունը շարժուն ֆազի լուծիչների խառնուրդին նպաստում է լուծիչների ավելի քիչ գոլորշիացմանը թիթեղի մակերեսից, այն դեպքում, երբ ուղղահայաց դիրքի դեպքում շարժուն ֆազի բարձրացման ընթացքում կարող է փոխվել լուծիչների խառնուրդի բաղադրությունը,

- Ուղղահայաց դիրքում, եթե օդը հագեցած չէ գոլորշիներով թիթեղի ծայրից արագ գոլորշիանում են՝ ձգելով կենտրոնում գտնվող լուծիչներին, որի արդյունքքում լուծիչների համակարգը վերջում սկսում է բարձրանալ ավելի արագ և բաժանումն ավելի վատ է ընթանում: Այս երևույթը չի նկատվում թիթեղի հորիզոնական դիրքի դեպքում:

Աշտարակային քրոմատոգրաֆիա

Աշտարակային քրոմատոգրաֆիայում, համաձայն անվանման, անշարժ ֆազը գտնվում է աշտարակում: Այս տեխնիկան կիրառվում է գազային և հեղուկայի քրոմատոգրաֆիայում: Քրոմատագրի ստացման համար անհրաժեշտ է քրոմատոգրաֆ, որի կառուցվածքը ներկայացված է նկարում: Ներկայացված սխեման կիրառելի է ինչպես գազային, այնպես էլ հեղուկային քրոմատոգրաֆիայի համար, սակայն յուրաքանչյուր դեպքում կառուցվածքային մասերը զգալիորեն տարբերվում են և ավելի մանրամասն կնկարագրվեն համապատասխան բաժիններում: Շարժուն ֆազը գազային քրոմատոգրաֆիայում կոչվում է գազ-կրիչ, իսկ հեղուկային քրոմատոգրաֆիայում՝ էլուենտ:

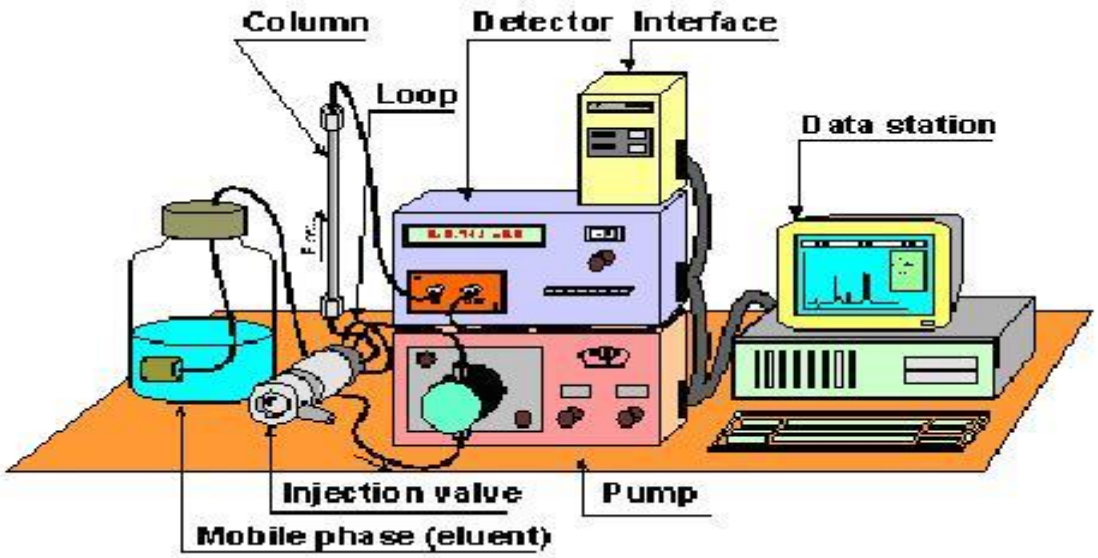
Փոխադրող համակարգը ռեզերվուարից անընդհատ մղում է շարժուն ֆազը դեպի աշտարակ՝ բաժանող համակարգ: Նմուշի որոշակի քանակ ներմուծվում է բաժանիչ աշտարակի մեջ նմուշառման և ներարկման համակարգի (ինժեկտոր) օգնությամբ, շարժուն ֆազի անընդհատ հոսքի պայմաններում: Շարժուն ֆազը աշտարակում անցկացնում է նմուշն անշարժ ֆազի միջոցով:



Բոլոր խողովակները և միացնող մասերը պետք է լինեն հնարավորինս կարճ և առանց “մեռյալ ծավալի”, որպեսզի կանխվի բաժանված նյութերի դիֆուզիան:

Նմուշի բաժանումն առանձին բաղադրիչների տեղի է ունենում աշտարակում տարբեր մեխանիզմներով՝ կախված նմուշի և անշարժ ֆազի միջև առաջացող փոխազդեցության տեսակից: Բաժանված նյութերը հերթականությամբ լքում են աշտարակը և շարժուն ֆազով մտնում են դետեկտոր, որը յուրաքանչյուր բաղադրիչի կոնցենտրացիան վերածում է էլեկտրական ազդանշանի: Այդ ազդանշանը հետո կարող է փոխանցվել ինքնագրիչին, որը գրանցում է համապատասխան քրոմատագիրը: Ինքնագրիչով գրանցված, յուրաքանչյուր նյութի քրոմատագիրը անվանում են “պիկ”

(լարվածակետ): Առանձին պիկերի միջև դետեկտորի միջով անցնում է միայն շարժուն ֆազը, որը քրոմատագրի վրա տալիս է հիմնական գիծ:



Աշտարակի ընտրողականությունը կախված է բազմաթիվ գործոններից, որոնց ձևափոխումներով կարելի է ընտրել խելամիտ խառնուրդներ խառնուրդի քրոմատագրման համար: Ելնելով բաղադրամասերի քիմիական բնույթից ընտրում են լուծիչների համակարգ (շարժուն ֆազ) և համապատասխան սորբենտ: Ընտրողականության վրա որոշակի ազդեցություն են թողնում նաև ջերմաստիճանը, ճնշումը աշտարակում, նյութերի բաշխման գործակիցը շարժուն և անշարժ ֆազերի միջև:

<u>Բաշխման գործակից:</u> Աշտարակային քրոմատագրման ժամանակ աշտարակի կարևոր ցուցանիշն է հանդիսանում բաշխման գործակիցը, որն իրենից ներկայացնում է անշարժ ֆազում գտնվող նյութի զանգվածի հարաբերությունը շարժուն ֆազում եղած զանգվածին:

$$K = \frac{M_{st}}{M_{mob}}$$

Բաշխման գործակիցը կախված է հետևյալ գործոններից՝

ա/ նյութի բնույթից, բ/ անշարժ ֆազի բնույթից և քանակից գ/ աշտարակի ջերմաստիճանից, ինչպես նաև դ/ շարժվող ֆազի հոսքի շարժման արագությունից:

ա/ Այսպես բևեռային նյութերը ավելի լավ են ադսորբվում բևեռային սորբենտների վրա;

բ/ ինչքան շատ է սորբենտի քանակը այնքան շատ նյութ է ֆիքսվում;

գ/ ջերմաստիճանը բարձրացնելիս նյութի քանակը շարժուն ֆազում մեծանում է, իսկ անշարժում փոքրանում և հակառակը;

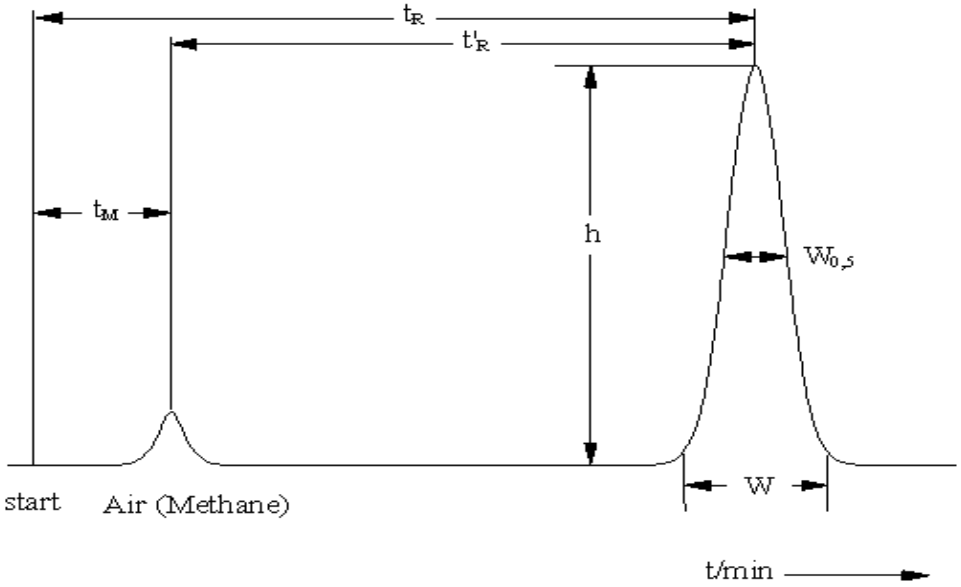
դ/ ինչքան արագ է իներտ գազի հոսքի շարժման արագությունը, այնքան քիչ նյութ է ֆիքսվում անշարժ ֆազի վրա: Օրինակ, առավել օպտիմալը հելիումի և ջրածնի

դեպքում 30-50 սմ/վ արագությունն է, իսկ ազոտի դեպքում՝ 10-20սմ/վ հոսքի արագությունը:

Քրոմատագրի բնութագրիչները

Քրոմատոգրաֆիկ բաժանման ժամանակ ստացված քրոմատագիրն իրենից ներկայացնում է աշտարակի ելային մասի շարժուն ֆազում նմուշի կոնցենտրացիայի ժամանակից ֆունկցիան: Տեսականորեն այն կարող է արտահայտվել որպես բաշխման նորմալավորման ֆունկցիա: Պիկը միաժամանակ պարունակում է ինչպես որակական, այնպես էլ քանակական տեղեկատվություն հետազոտվող խառնուրդի մասին:

Քրոմատագրական պարամետրերից են՝



- Քրոմատագրական լարվածակետ (պիկ) - քրոմատագրի այն մակերեսը, որը սահմանափակվում է աշտարակից դուրս գալու պահին որոշվող բաղադրամասի քրամատագրական ֆունկցիայով և հիմնական գծով:
- Զրոյական (հիմնական) գիծը քրոմատագրի վրա - շարժուն ֆազում փորձարկվող նյութի զրոյական կոնցենտրացիային համապատասխան գիծն է:
- Պիկի մակերեսը՝ S - պիկով և հիմքով սահմանափակված մակերեսն է

$$S=hW_b/2$$

- Պիկի բարձրությունը, h - պիկի բարձրակետից մինչև հիմքն ընկած տարածությունն է,
- Պիկի լայնությունը հիմքի վրա՝ W_b
- Պիկի լայնությունը հիմքի կիսաբարձրության վրա ՝ W_h
- Բաղադրամասերի բացարձակ պահման ժամանակամիջոցը՝ t_R-աշտարակում փորձարկվող նյութի մնալու ժամանակը: Այն քրոմատագրում հավասար է նյութի

ներմուծումից մինչև համապատասխան պիկի մաքսիմումի դուրս գալու ժամանակամիջոցին:

Պահման նկարագրման համար սկզբունքորեն առկա է երկու ժամանակ, որոնք տարբերվում են մեռյալ ժամանակների մեծությամբ:

ա) t_0 - մեռյալ ժամանակն աշտարակում,այն ժամանակն է, որն անցնում է շարժուն ֆազը նմուշի ներմուծման հատվածից մինչև դետեկտորի: Անշարժ ֆազի կողմից չպահված նյութերը կհայտնվեն աշտարակի վերջում t_0 ժամանակ անց:

բ) t_R - պահման ժամանակ, այն ժամանակն է, որի ընթացքում հետազոտվող նյութն անցնում է նմուշի ներմուծման հատվածից մինչև դետեկտոր:

գ) t'_R - պահման մաքուր ժամանակը, իրենից ներկայացնում է պահման ժամանակի և մեռյալ ժամանակի տարբերությունը:

$$t'_R = t_R - t_0 \text{ կամ } t_R = t_0 + t'_R$$

t_0-ն նույնն է բոլոր էլուացվող նյութերի համար և իրենից ներկայացնում է այն ժամանակահատվածը, երբ նյութերը գտնվում են շարժուն ֆազում: Բաժանվող նյութերը միմյանցից տարբերվում են t'_R-ով, որը ցույց է տալիս անշարժ ֆազում դրանց պահման ժամանակահատվածը: Ինչքան երկար ժամանակ են նյութերը գտնվում անշարժ ֆազում, այնքան դրանք ուշ են էլուացվում աշտարակից:

Պահման ժամանակը կախված է նաև շարժուն ֆազի հոսքի արագությունից և աշտարակի երկարությունից: Շարժուն ֆազի հոսքի արագության փոքրացումը կամ աշտարակի երկարության մեծացումը բերում է t_0 –ի մեծացմանը, և դրանով պայմանավորված նաև t_R-ի մեծացմանը: Այդ պատճառով պահման ժամանակը հարմար չէ կիրառել քրոմատոգրաֆիայում նյութերի բնութագրման համար: Ավելի հարմար է օգտագործել պահման գործոնը, որը նշանակում են k' և իրենից ներկայացնում է անշարժ ֆազում նյութի քանակի հարաբերությունը շարժուն ֆազում նյութի քանակին: Պահման գործոնը ներկայացվում է նաև որպես սորբատի մաքուր պահման ժամանակի հարաբերությունը աշտարակում մեռյալ ժամանակին՝

$$k' = t'_R/t_0 = (t_R - t_0)/t_0$$

- Աշտարակի երկրաչափական ծավալ՝ Vc- դատարկ աշտարակի ներքին տարողությունն է:
- Ազատ ծավալ՝ Vo-սորբենտով չզբաղեցրած աշտարակի ծավալն է:

Որակական անալիզ

Քրոմատոգրաֆիայի անցկացման միևնույն պայմաններում մեկ բաղադրիչի պահման ժամանակը հանդիսանում է հաստատուն մեծություն: Պահման ժամանակը դա այն ժամանակն է, որը սկսվում է նմուշի ներմուծման պահից մինչև ազդանշանի “մաքսիմումի” գրանցումը: Պահման ժամանակի վրա ազդող քրոմատոգրաֆիայի պայմաններն են՝

- Աշտարակի տեսակը
- Շարժուն ֆազի բաղադրությունը
- Շարժուն ֆազի հոսքի արագությունը և
- Ջերմաստիճանը

Որակական վերլուծությունը, այսինքն, եզրակացություն այն մասին, թե նմուշն ինչ նյութերից է բաղկացած, հնարավոր է իրականացնել միայն պահման ժամանակի որոշմամբ, եթե ենթադրվող նյութերը որպես ստանդարտ ներմուծվում են աշտարակի մեջ և դրանց պահման ժամանակը համապատասխանում է նմուշի պահման ժամանակի հետ: Այստեղ կարևոր է իհարկե, ստանդարտի և նմուշի քրոմատագրման նույն պայմանների առկայությունը:

Կիրառում են քրոմատագրի վերլուծության երկու եղանակներ՝

1.**Վկա նյութերի եղանակը** կայանում է նրանում, որ կամ առանձին նույն պայմաններում կատարվում է նմուշի և վկա նյութի քրոմատագրում և ըստ պահման ժամանակահատվածի որոշվում է հետազոտվող նյութը: Վկա նյութը կարելի է ներմուծել նաև հետազոտվող նմուշի մեջ, այս դեպքում նկատվում է հետազոտվող բաղադրիչի պիկի մեծացում:

2.Հարաբերական պահման եղանակի դեպքում նմուշին ավելացնում են որոշակի քանակով համեմատության նյութը և որոշում հարաբերական պահումը ըստ բանաձևի՝

$$r=(t(R)-t_0)/(t(Rs)-t_0)$$

որտեղ՝

t_0-այն ժամանակն է, որն անցնում է շարժուն ֆազը նմուշի ներմուծման հատվածից մինչև դետեկտորի,

t(R)- պահման ժամանակն է, որի ընթացքում հետազոտվող նյութն անցնում է նմուշի ներմուծման հատվածից մինչև դետեկտոր,

tRs պահման ժամանակն է, որի ընթացքում համեմատության նյութն անցնում է ներմուծման հատվածից մինչև դետեկտոր:

Սակայն հնարավոր է, որ քրոմատոգրաֆիայի ընտրված պայմաններում երկու տարբեր նյութեր ունենան նույն պահման ժամանակը, որը կարող է բերել սխալ եզրակացության: Վստահելի որակական անալիզ կատարելու համար կա երկու հնարավորություն՝

- և նմուշը և ստանդարտը քրոմատագրում են երկու անգամ տարբեր քրոմատոգրաֆիկ պայմաններում և համեմատում են պահման ժամանակները առաջին և երկրորդ դեպքերում: Այս դեպքում քիչ հավանական է, որ երկու տարբեր նյութեր լավ ընտրված քրոմատոգրաֆիկ պայմաններում նորից կունենան նույն պահման ժամանակները:
- Ընտրում են համապատասխան դետեկտոր, որը կարող է տալ հետագա տեղեկատվություն հետազոտվող նյութի մասին:

Քանակական վերլուծություն

Որակական վերլուծությունից հետո, երբ նյութերը նույնականացված են բարձր հավաստիությամբ, հնարավոր է իրականացնել քանակական վերլուծություն: Քանակական որոշման համար օգտագործում են երկու ցուցանիշ՝ պիկի բարձրությունը և մակերեսը: Առավել հաճախ օգտվում են պիկի մակերեսի որոշումից, որը որոշում են բազմապատկելով երկարությունը նրա լայնության հետ՝ որոշված բարձրության կեսի վրա: Օգտագործում են քանակական որոշման երեք հիմնական եղանակ՝

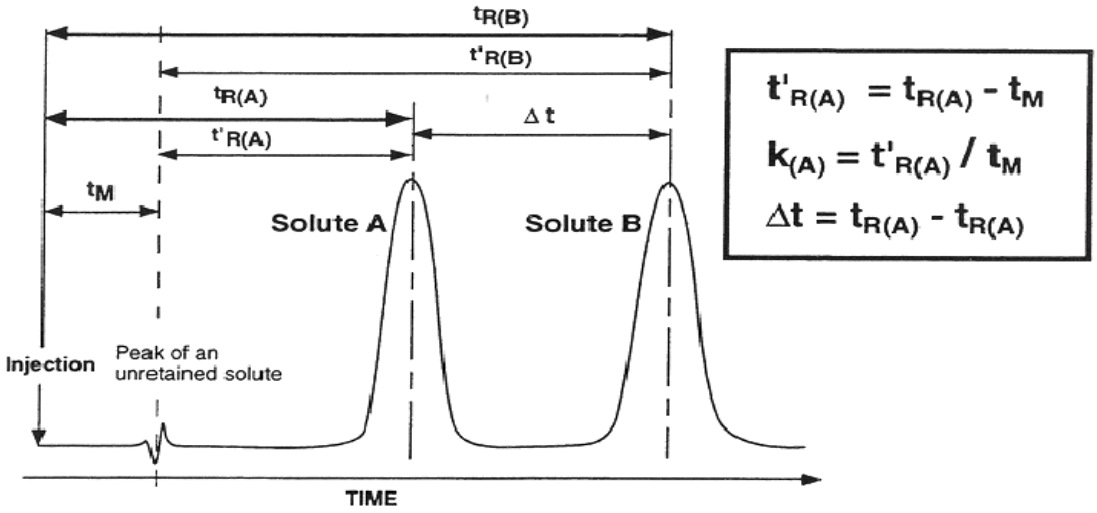
1.բացարձակ սանդղակավորման եղանակի դեպքում նախորոք կառուցում են հետազոտվող նյութի քանակի և նրա պիկի մակերեսի միջև կախվածությունն արտահայտող կորը: Անհայտ քանակի դեպքում ստացված մակերեսի մեծությամբ որոշում են նյութի կոնցենտրացիան,

2. ներքին նորմալավորման եղանակի դեպքում քրոմատագրի բոլոր պիկերի մակերեսների գումարն ընդունում են 100% և որոշում թե հետազոտվող նյութի մակերեսին ինչ տոկոս է համապատասխանում,

3. ներքին ստանդարտի եղանակում նմուշի մեջ ներմուծում են համեմատման նյութ որոշակի հայտնի քանակով: Այնուհետև ստացված համեմատության նյութի մակերեսը համեմատելով հետազոտվող նյութի մակերեսի հետ որոշում են հետազոտվոց նյութի պարունակությունը:

Քրոմատոգրաֆիկ համակարգի պիտանելիության որոշում

Համակարգի պիտանելիության որոշումը գազային և հեղուկ քրոմատոգրաֆիկ վերլուծության բաղկացուցիչ մասն է: Այն օգտագործվում է հաստատելու քրոմատոգրաֆիկ համակարգի բաժանման աստիճանի և որոշման պայմանների համապատասխանությունը անալիզի իրականացման պահանջներին: Եղանակները հիմնված են այն հասկացողության վրա, որ սարքավորումները, էլեկտրոնիկան, անալիտիկ գործողությունները և վերլուծվող նմուշները կազմում են ինտեգրալ համակարգ, որը կարող է գնահատվել հետևյալ ցուցանիշներով՝



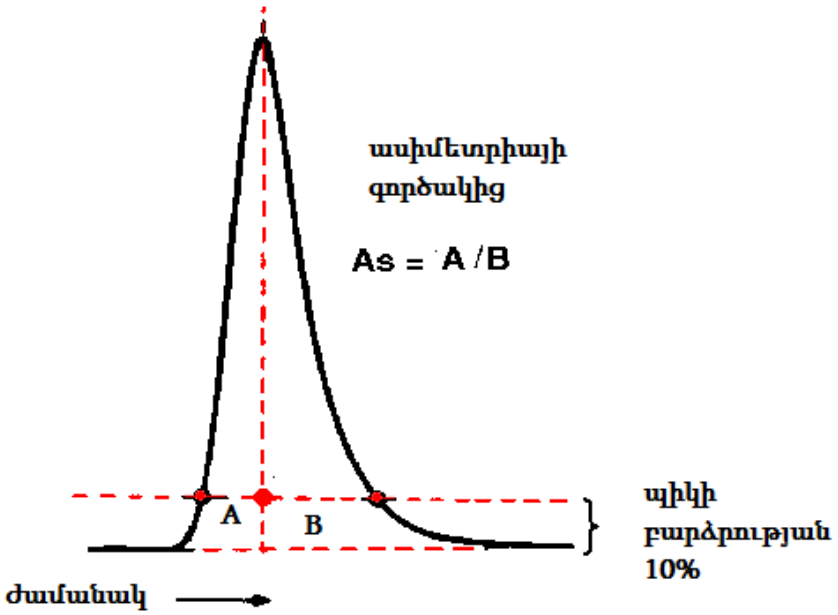
Քրոմատոգրաֆիկ բաժանման աստիճանը կամ բաժանումը R (resolution) աշտարակի էֆեկտիվության բնութագիրն է, ընտրված երկու հարևան պիկերի մաքսիմումների միջև եղած տարածությունը բաժանած դրանց հիմքերի լայնությունների կիսագումարին: Այն ապահովում է մոտ գտնվող էլուացվող միացությունների կորերի բաժանումը իրարից, գնահատում է համակարգի ընդհանուր բաժանման ուժը և ապահովում է ներքին ստանդարտների բաժանումը դեղից

$$R = 2 * (tR1 - tR2)/(w1 + w2)$$

կամ

$$R = \frac{\Delta l}{\mu_{0.5(1)} + \mu_{0.5(2)}}$$

- ***Ծայրային գործոն*** T (tailing factor) կամ ասիմետրիայի գործակից՝ պիկի սիմետրիայի չափն է, As-պիկի հիմքից սկսած h բարձրության վրա 10%-ի վրայով տարված հորիզոնական գծի և պիկի գագաթից իջեցված ուղղահայացի հատման կետում առաջացած երկու հորիզոնական հատվածների հարաբերությունը՝ As=A/B: Վերջինիս արժեքը բարձրանում է, երբ ծայրը դառնում է ավելի արտահայտված: Պիկի ասիմետրիան մեծանալիս, բաժանումը և ճշտությունը դառնում են քիչ վստահելի:



Այս փորձերն իրականացնում են հավաքելով տվյալները ստանդարտի կրկնակի ներարկումներից կամ այլ լուծույթներից, ինչպես բնութագրված է մասնավոր հոդվածում:

Տեսական ափսեներ

Տեսականորեն ափսեներն իրենցից ներկայացնում են անշարժ ֆազի այն հատվածները, որոնցից յուրաքանչյուրում տեղի է ունենում միավոր բաժանման գործընթաց (ադսորբցիա-դեսորբցիա): Աշտարակի արդյունավետությունն այս դեպքում

արտահայտվում է տեսական ափսեների թվով: Այս մեծությունն իրենից ներկայացնում է քրոմատոգրաֆիկ աշտարակի քրոմատագրման ունակության թույլատրելի չափը: Հաճախ ափսեների թիվը վերահաշվարկում են աշտարակի երկարության վրա, որը հնարավորություն է տալիս հեշտությամբ համեմատել տարբեր չափերի աշտարակները: Դա արտահայտվում է աշտարակի միավոր մետրի վրա հաշվառված ափսեների թվով (ափսեների թիվ/մետր): ,Տեսական ափսեե և ,ափսեների թիվե արտահայտությունները նկարագրում են միևնույն ցուցանիշը: 1993թ.-ին IUPAC-ի կողմից առաջարկվել է օգտագործել երկրորդ տերմինը: Միևնույն ֆազով երկու աշտարակների դեպքում, օպտիմալ պայմաններում, ամենաշատ ափսեներ ունեցող աշտարակում բաժանումը կլինի ավելի լավ: Միևնույն ֆազով երկու աշտարակների դեպքում, որոնք ունեն նաև միևնույն չափերը, ամենաքիչ ափսեներ ունեցող աշտարակում իրար մոտ էլուացվող բաղադրիչները դժվարությամբ կբաժանվեն, իսկ մյուս աշտարակում այդ նյութերը կբաժանվեն մինչև հիմնական գիծ: Աշտարակի արդյունավետության նման տարբերությունը բերում է խնդիրների առաջացմանը որակական և քանակական անալիզում: Աշտարակի բարձր արդյունավետության դեպքում յուրաքանչյուր բաղադրիչի պիկի լայնությունը կլինի փոքր: Արդյունքում պիկերը ստացվում են ավելի նեղ և սուր, իսկ ազդանշան/աղմուկ հարաբերությունը բարելավվում է: Ինչքան շատ է տեսական ափսեների թիվը, այնքան աշտարակի արդյունավետությունը բարձր է, բարձր է նաև տարբեր բաղադրիչների բաժանման պոտենցիալը:

Տեսական ափսեների թիվը ՝ Nth որոշվում է հետևյալ արտահայտությամբ՝

$$N_{th}=5,54x(t_{R1}/W_h)^2$$

որտեղ t_{R1}-ը ստանդարտի պահման ժամանակն է, W_h-պիկի լայնությունն է բարձրության կեսի վրա:

Աշտարակի էֆեկտիվությունը նույնպես կարող է օգտագործվել որպես համակարգի պիտանելիության գնահատման համար, հատկապես եթե առկա է միայն մեկ պիկ քրոմատագրի վրա: Աշտարակի էֆեկտիվությունը պիկի սրության չափն է: Աշտարակի էֆեկտիվությունը կարևոր է հետքային միացությունների որոշման համար:

Քանակական վերլուծման ժամանակ ստանդարտ պրեպարատը ներարկում են կրկնակի անգամ կամ համեմատվում է այլ ստանդարտ լուծույթի հետ համոզվելու համար, որ ճշտությունը համապատասխանում է պահանջներին: Չնայած երբեմն կիրառվում է հետազոտվող նյութի հինգ ներարկումներից ստացված տվյալները հարաբերական ստանդարտ շեղումը /S_R/ հաշվելու համար, եթե պահանջը 2% է կամ քիչ է 2%-ից, իսկ եթե հարաբերական ստանդարտ շեղման պահանջը 2%-ից ավել է օգտագործվում են վեց ներարկումներ:

- Աշտարակի արդյունավետություն - աշտարակի որակի բնութագիր, որը որոշվում է տեսական ափսեների թվով (N) և դրանց բարձրությամբ: Աշտարակի

արդյունավետությունն այնքան բարձր է, որքան նեղ է պիկը (նույն պահման ժամանակով), այսինքն, բաղադրամասը դուրս է գալիս նեղ խտացված տիրույթով: Աշտարակի արդյունավետությունն ուղիղ համեմատական է տեսական ափսեների թվին:

- Հարաբերական տեսական ափսեների թիվ, N'-տվյալ երկարությամբ աշտարակի և մեկ մետր երկարությամբ պայմանական աշտարակի ճշգրիտ ստացված տեսական ափսեների թվերի հարաբերությունն է:
- Տեսական ափսեին համարժեք բարձրություն, H-աշտարակի որակը բնութագրող մեծություն է և որոշվում է աշտարակի երկարության և տեսական ափսեների թվի հարաբերությամբ՝ H=L/N:
- Տեսական ափսեներին համարժեք հարաբերական բարձրություն

$$H'=H/d,$$

որտեղ d-ոսորբենտի մասնիկների միջին տրամագիծն (մկմ), որը նաև աշտարակի արդյունավետության չափանիշն է: Լավագույն աշտարակներ համարվում են H=2d:

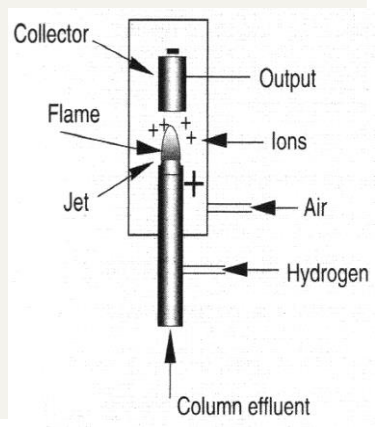
Գազային քրոմատագրում

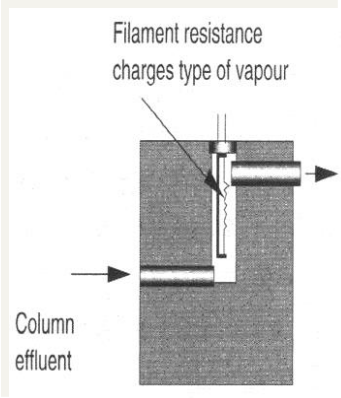
Գազային քրոմատագրման եղանակում շարժուն ֆազը գտնվում է գազային կամ գոլորշի վիճակում: Հետազոտվող նյութերը ներմուծվում են գազ- կրիչի հոսքի մեջ և գոլորշի վիճակում անցնում են սորբենտով պատված աշտարակի միջով՝ տեղաբաշխվելով շարժվող և անշարժ ֆազերի միջև: Այս եղանակը հիմնականում օգտագործվում է ցնդող հեշտ գոլորշիացող և ջերմակայուն նյութերի համար, որոնց մոլեկուլային զանգվածը 400-ից փոքր է: Որպես անշարժ ֆազ այս եղանակում կարող են օգտագործվել ինչպես հեղուկներ պինդ կրիչի վրա անցկացված, այնպես էլ պինդ ադսորբենտներ: Հեղուկ անշարժ ֆազի դեպքում եղանակը կոչվում է՝ գազհեղուկային, իսկ պինդ նյութերի դեպքում՝ գազադսորբցիոն քրոմատագրում: Բաժանված նյութերը այնուհետև դուրս են գալիս աշտարակից գազ-կրիչի հոսքով և որոշվում են դետեկտորով, որը ֆիքսում է դրանց քրոմատագրի վրա պիկերի ձևով:

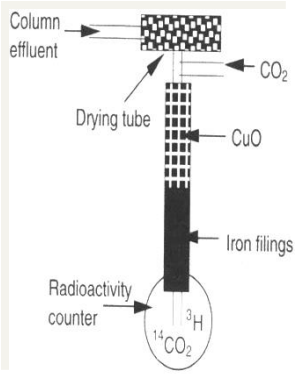
Գազային քրոմատագրի հիմնական բաղկացուցիչ մասերն են հանդիսանում՝

- գազ կրիչի և այլ օժանդակ կիրառվող գազերի (դետեկտորի համար) չափման և արագության կարգավորման համակարգը: Որպես գազ կրիչ հիմնականում օգտագործում են հելիում, ազոտ, արգոն և այլ իներտ գազերը, որոնք ունեն բարձր ջերմահաղորդչականություն,
- հետազոտվող նմուշի ներմուծման տեղամաս,
- գազքրոմատագրման ջեռուցիչ, որը կարող է ինչպես պահպանել որոշակի հաստատուն ջերմաստիճան, այնպես էլ ծրագրավորված աստիճանաբար բարձրացնել այն: Ջերմաստիճանային ռեժիմի ծրագրավորումը ունի այն առավելությունը, որ հետազոտվող նմուշի տարբեր եռման ջերմաստիճանով նյութերը տարբեր ժամանակներում են ներմուծվում աշտարակ, ինչպես նաև նմուշը ներմուծվում է աշտարակ ամենացածր ջերմաստիճանով և ալվ կլանվում է, իսկ այնուհետև ջերմաստիճանը բարձրանալով այն քրոմատագրվում է,
- գազքրոմատագրման սորբենտով լցված աշտարակներ: Որպես պինդ սորբենտներ հաճախ օգտագործում են սիլիկագել, ալյումինիումի օքսիդ, որպես հեղուկ՝ յուղերը, եթերներ, սպիրտներ, ածխաջրածիններ,
- դետեկտոր, որը ֆիքսում է միացությունները: Գազային քրոմատագրման դետեկտորները կարող են լինել ըստ ջերմահաղորդականության (կատարոմետր), բոցաիոնիզացնող, բոցաֆոտոմետրիկ, ջերմաիոնային, ռադիոքիմիական, ԻԿ-ֆուրյե սպեկտրոմետր և այլն (նկար.1):

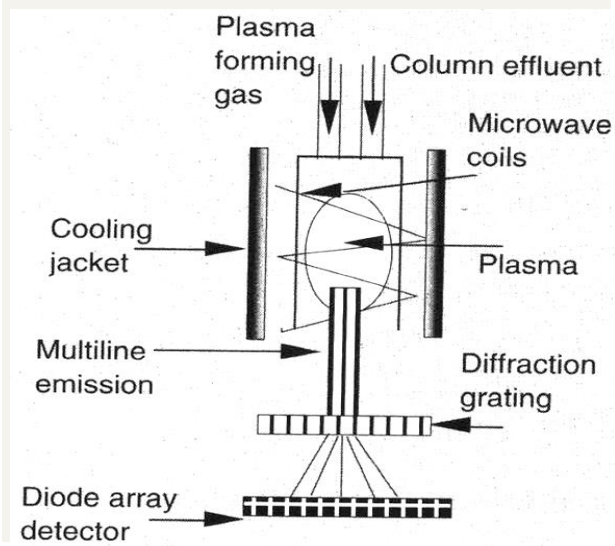
Նկար 1. Գազային քրոմատագրման ժամանակ օգտագործվող դետեկտորների հիմնական տեսակները:

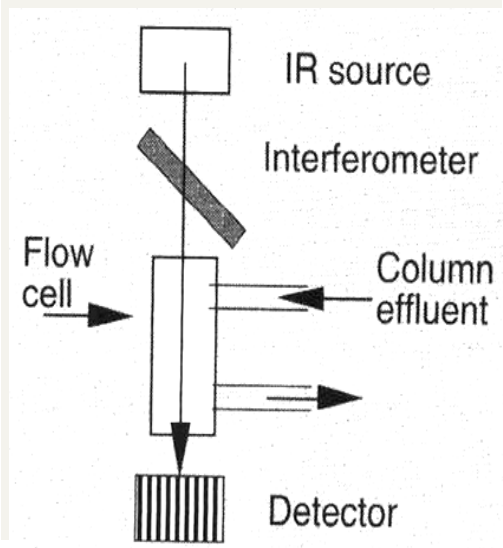






1. բոցաիոնիզացնող 2. ըստ ջերմահաղորդականության 3.ռադիոքիմիական

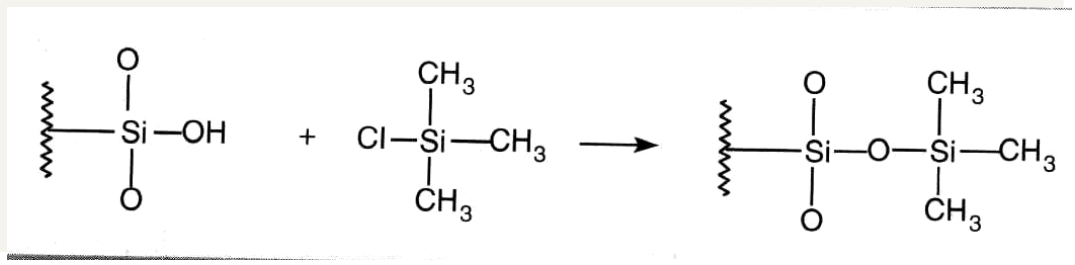




4. պլազմային ատոմաադսորցիոն 5.ԻԿ-ֆուրյե-սպեկտրոֆոտոմետր

Գազային քրոմատագրման ժամանակ կիրառվող աշտարակները լինում են երկու տեսակի՝

1. ***կոմպլեկտավորված աշտարակներ:*** Իրենցից ներկայացնում են ապակյա խողովակներ, որոնք սիլանացված են հիդրոֆիլ սիլանոլային խմբերը (SiOH) մակերեսից հեռացման համար: Այս աշտարակները ունեն 2-5մմ ներքին տրամագիծ և մակերեսին պարունակում են պինդ կրիչի մասնիկները, որոնք պատված են անշարժ ֆազը ներկայացնող հեղուկներով: Որպես պինդ կրիչ կիրառում են այնպիսի նյութեր, որոնք ունեն բարձր մեխանիկական ամրություն և իներտ են հեղուկ ֆազի և հետազոտվող նյութերի հանդեպ: Դրանցից են դիատոմիտը, կիզելգուռը և տարբեր սինթետիկ պոլիմերները: Կոմլեկտավորված աշտարակներում հիմնականում որպես շարժիչ ֆազ կիրառում են ազոտը: Այն ունի համեմատաբար ավելի ցածր բաժանման հնարավորություն, քան մազանոթային աշտարակը (որպես կանոն 4000-6000 տեսական ափսե 2մ աշտարակի համար, այն դեպքում որ մազանոթայինը՝ >100.000 տեսական ափսե 25մ երկարությամբ): Կոմլեկտավորված աշտարակներում առավելագույն ջերմաստիճանը կազմում է 280(C, քանի որ դրանից բարձր ջերմաստիճանում անշարժ հեղուկ ֆազը սկսում է չափից ավելի գոլորշիանալ՝ ստեղծելով մեծ ֆոնային ազդանշան:



2. ***Մազանոթային աշտարակները*** կազմված են հալված կվարցից ներքին մակերեսից պատված պոլիամիդով, որը հաղորդում է ճկունություն: Բարձր ջերմաստիճաններում աշխատանքի համար աշտարակները կարող են պատված լինել ալյումինով (>400(C): Աշտարակի ներքին տրամագիծը կազմում է 0.15-0.1 մմ: Աշտարակի պատին բարակ շերտով 0,5նմ անցկացված է անշարժ հեղուկ ֆազը, որը քիմիապես միացված է կվարցի սիլանոլային խմբերին: Այս աշտարակները կարող են աշխատել 325(C-ից բարձր ջերմաստիճանում: Կան նաև ոչ սիլիկոնային աշտարակներ, որոնց ջերմաստիճանը մոտ 270(C է: Մազանոթային աշտարակների դեպքում հիմնականում կիրառվում է որպես շարժվող ֆազ հելիումը:

Բարձրաէֆեկտիվ հեղուկային քրոմատոգրաֆիա (ԲԷՀՔ)

Բարձրաէֆեկտիվ հեղուկային քրոմատոգրաֆիան կարևոր տեղ է զբաղեցնում լուծելի միացությունների քանակական և որակական անալիզում որպես բարձր ճշտությամբ մեթոդ: Այս եղանակում, ինչպես նշվել էր շարժուն ֆազը հանդիսանում է հեղուկը:

ԲԷՀՔ-ն հանդիսանում է հեղուկում լուծվող նյութերի խառնուրդների բաժանման անալիտիկ մեթոդ: ԲԷՀՔ-ով բաժանվող նյութերի խառնուրդը պետք է ամբողջությամբ լուծվի շարժուն ֆազում և ադսորբվի անշարժ ֆազում: Շարժուն և անշարժ ֆազերը չպետք է քիմիապես փոխազդեն միմյանց հետ, ինչպես նաև նմուշի հետ: Ի տարբերություն սովորական աշտարակային քրոմատոգրաֆիայի, որի դեպքում նմուշը լուծված է շարժուն ֆազում և տեղափոխվում է անշարժ ֆազով ծանրության ուժի ազդեցության տակ կամ ոչ մեծ ճնշման տակ, ԲԷՀՔ- ի ժամանակ շարժուն ֆազը մեծ ճնշման տակ է անցկացվում անշարժ ֆազի աշտարակի միջով:

Ի տարբերություն գազային քրոմատոգրաֆիայի, որի կիրառման սահմանափակումներից է չցնդող կամ թերմիկ ոչ կայուն միացությունների համար օգտագործումը, հեղուկային քրոմատոգրաֆիայում կա միայն մեկ պայման, դա այն է, որ նմուշը լուծվի որևէ հեղուկում: Մյուս տարբերությունը կայանում է նրանում, որ գազային քրոմատոգրաֆիայում բաժանման խնդիրները հաղթահարելու համար հնարավոր է փոխել միայն ստացիոնար (անշարժ) ֆազը, մինչդեռ ԲԷՀՔ-ում միացությունների բաժանումն ապահովելու համար կարող են կարգավորվել ինչպես անշարժ, այնպես էլ շարժուն ֆազերը:

Գազերը և գոլորշիները ևս լուծվում են հեղուկում: Սակայն, քանի որ գազային քրոմատոգրաֆիան ի համեմատ հեղուկայինի ավելի արագ, զգայուն, ստույգ և ավելի էժան մեթոդ է, որը հնարավորություն է տալիս բաժանել և անալիզի ենթարկել առանց քայքայման գոլորշիացվող կամ քայքայումից հետո վերականգնվող միացությունները, ապա այսպիսի խառնուրդների բաժանումը ավելի լավ է իրականացնել գազային քրոմատոգրաֆիայով, հատկապես, եթե շեշտը դրվում է բաժանման ունակության վրա:

Սկզբում, հեղուկային քրոմատոգրաֆիայում շարժուն ֆազի տեղաշարժման համար օգտագործել են ծանրության ուժը, այսինքն էլուենտի հիդրոստատիկ ճնշումը սեղմում էր նրան, որ անցնի բաժանիչ աշտարակի սորբենտի շերտերի միջով: Սորբենտն ուներ խոշոր հատիկավորում, իսկ հոսքի արագությունը չափավոր էր: Այս դեպքում աշտարակներն աշխատում էին Վան-Դեեմտերի դիագրամի ոչ օպտիմալ պայմաններում,պիկի լայնությունը զգալի էր: Ժամանակակից քրոմատոգրաֆիայի հեղինակներ՝Մարտինը և Սինջը, արդեն 1941թ.տեսականորեն հիմնավորեցին, որ էֆեկտիվ քրոմատոգրաֆիայի համար հեղուկ ֆազում անհրաժեշտ են՝

1.ստացիոնար ֆազի շատ մանր հատիկավորում

2.բարձր ճնշում շարժուն ֆազի անցման համար:

Շարժուն ֆազի արագ տեղաշարժման համար անհրաժեշտ են բարձր ճնշմամբ պոմպեր:

Ժամանակակից հեղուկային քրոմատոգրաֆիան սարքերի նկատմամբ ներկայացնում է բարձր պահանջներ: Արագ անալիզների իրականացումը կարճ աշտարակներով, որոնք լցված են մանր մասնիկներով, հնարավոր են միայն, եթե հոսքը տրվում է բարձր ճնշմամբ առանց ընդհատումների: Հոսքի կայունությունն անհրաժեշտ է, որպեսզի իջեցվի դետեկտորների աղմուկը: Միայն անընդհատ հոսքի ժամանակ է հնարավոր սովորական, զգայուն դետեկտրներով անել հստակ քանակական անալիզներ: Սարքերը կոռոզիայից պաշտպանելու համար բարձր պահանջներ են ներկայացվում օգտագործվող էլյուենտի և օպտիմալ բաժանման համար անհրաժեշտ հավելումների քիմիական հատկություններին: Վերջնական արդյունքում սարքերի հետագա կատարելագործումը իրականացվում է չորս ուղղություններով:

1) Ավելի բարձր էֆեկտիվություն

Առավել բարձր էֆեկտիվություն ստանալու համար աշտարակները լցնում են ավելի փոքր մասնիկներով: Մասնիկների չափսերը սովորաբար 5 մկմ է, իսկ վերջին ժամանակներում օգտագործում են նաև 3 մկմ չափսով մասնիկներ: Փոքր չափսի մասնիկները թույլատրվում են ավելի կարճ աշտարակներում: Աշտարակներում, որոնք լցված են 3 մկմ չափսի մասնիկներով, հոսքի օպտիմալ արագություն ստանալու համար անհրաժեշտ է ճնշումը պահել 10 բարից ոչ պակաս՝ աշտարակի յուրաքանչյուր սանտիմետրում: Համապատասխան մեռյալ ժամանակը կլինի 10վ: Այս պայմաններում աշտարակի յուրաքանչյուր սանտիմետրին համապատասխանում է 1500 տեսական ափսե: 5 մկմ չափսի մասնիկների դեպքում համապատասխան մեծությունների արժեքներն են՝ ճնշումը՝ մոտ 2.5 բար 1 սմ-ում, մեռյալ ժամանակը՝ 17վ 1 սմ-ում և 1000 տեսական ափսե 1 սմ-ում:

2) Ավելի արագ վերլուծություն

Իհարկե, անհրաժեշտություն է առաջանում հեղուկ քրոմատոգրաֆիկ անալիզներն իրականացնել ավելի արագ: Սա նշանակում է աշխատանք հոսքի հետ, որը գերազանցում է օպտիմալ սահմանները համապատասխան աշտարակի համար: Սրա հետևանք է հանդիսանում ավելի բարձր ճնշումը, որը պետք է գործադրվի աշտարակում: Չպահվող միացության 10 վ-ում էլուացման համար առավել հաճախ օգտագործում են մեթանոլ-ջրային խառնուդներ 10 սմ երկարությամբ աշտարակում, որը լցված է 3 մկմ չափսի մասնիկներով, անհրաժեշտ է մինչև 1000 բար ճնշում:

3) Էլյուենտի տնտեսում

Էլյուենտների թանկարժեքությունը, մնացորդների բարդ և թանկ մաքրման գործընթացը, հետազոտվող նյութի փոքր քանակները, ինչպես նաև ցանկությունը՝ համատեղել հեղուկային քրոմատոգրաֆիան մասս-սպեկտրոմետրի հետ, ստիպեցին գործնական ոլորտ վերադարձնել բարակ աշտարակների կիրառումը, որոնց ներքին տրամագիծը է 0.5-2 մմ է 4.6 մմ-ի փոխարեն: Հոսքի արագությունը այսպիսի նուրբ աշտարակներում բաժանման միևնույն էֆեկտիվություն ապահովելու համար 20 անգամ ավելի փոքր է: Դա նշանակում է, որ ստանդարտ անալիտիկ աշտարակների 1մլ/ր-ում

հոսքի արագությունը փոքրացվում է մինչև 50մկմ/ր-ում՝ 1մմ տրամագծով աշտարակի համար:

4) Եռ- և քառակոմպոնենտ լուծիչներ

Բաժանման գործընթացում առաջացող բարդ խնդիրները, որոնք չեն կարող լուծվել սովորական երկկոմպոնենտ խառնուրդներով, բերեցին եռ- և անգամ քառակոմպոնենտ էլյուենտների օգտագործմանը: Դրա համար անհրաժեշտ է ոչ միայն արագ փոխել էլյուենտը մի անալիզից մյուսին անցնելիս, այլ նաև յուրաքանչյուրի համար ընտրել համապատասխան զուգակցումը, միացնելով եռ- կամ քառակոմպոնենտ խառնուրդներ:

ԲԷՀՔ-ի սարքավորումները

ԲԷՀՔ-ի սարքավորման հիմնական մասերն են հանդիսանում՝

ա) նմուշի ներմուծման համակարգը /ներարկիչ կամ ինժեկտոր/,

բ) բարձր ճնշմամբ պոմպը՝ շարժուն ֆազի արտամղման համար,

գ) քրոմատոգրաֆիկ աշտարակը, որը միացած է մազանոթով դետեկտորին,

դ) ինքնագրիչ կամ էլեկտրոնային ինտեգրատոր, որն անհրաժեշտ է որակական և քանակական անալիզի համար:

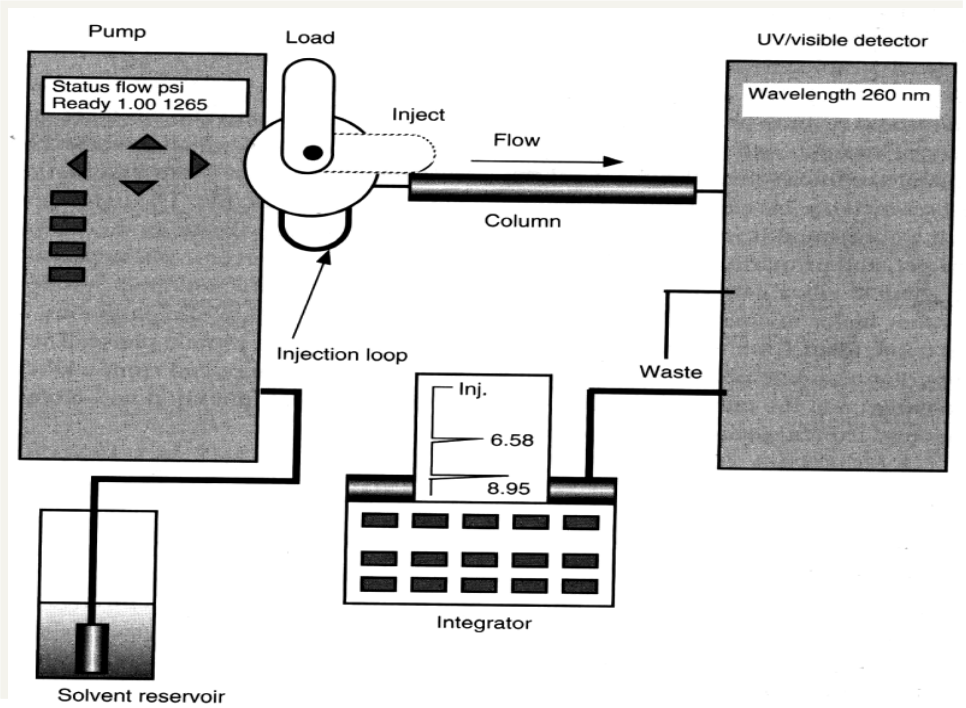
Համապատասխան սարքավորման այդ հատվածներին քրոմատոգրաֆիկ անալիզի առանձին փուլերն ընթանում են ավտոմատ՝

ա) նմուշի ներմուծում

բ) բաժանում

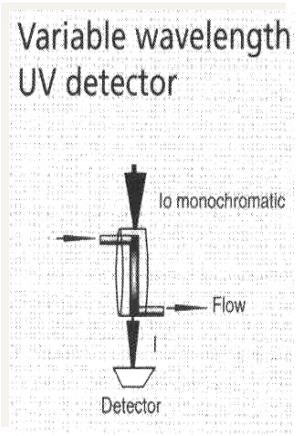
գ) դետեկտում (հայտնաբերում)

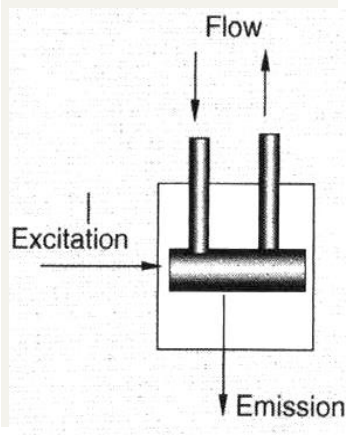
դ) տվյալների քանակական մշակում:

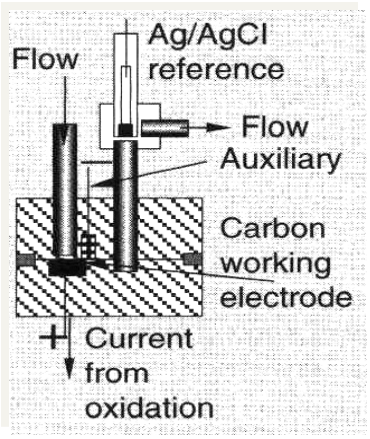


Քրոմատոգրաֆի աշխատանքի սկզբունքը կայանում է հետևյալում՝ նմուշն ինժեկտորի օգնությամբ ներմուծվում է աշտարակի վերևի հատվածը, որտեղ պոմպի օգնությամբ էլուենտը նմուշի հետ միասին անցկացվում է քրոմատագրման աշտարակով, որտեղ տեղի է ունենում խառնուրդի բաժանումը կոմպոնենտների: Աշտարակից դուրս եկող էլուատը, անցնում է դետեկտորի միջով (ՈւՄ-սպեկտրոֆոտոմետրիկ), որը ֆիքսում և գրանցում է նյութերը պիկերի ձևով քրոմատագրի վրա գրանցող սարքի օգնությամբ:

ԲԷՀՔ-ում առավել կիրառվող դետեկտորների տեսակներից են՝ ռեֆրակտոմետրիկ, ՈւՄ-դետեկտոր, էլեկտրոքիմիական, ֆլյուրեսցենտային:







ՈւՄ-դետեկտոր **Էլեկտրոքիմիական** **Ֆլյուրեսցենտային**

ԲԷՀՔ-ի ցանկացած սարքավորման կառուցվածքը և բաղկացուցիչ մասերը կախված չեն նրանից, թե բաժանումը ինչ սկզբունքով է կատարվում: Սարքավորումները նախատեսված են վերլուծական խնդիրների համար, բայց կարող են իրականացնել նաև միկրոպրեպարատիվ աշխատանքներ: Պոմպի գլխիկը փոխելով կարելի է ուղղակի անցնել պրեպարատիվ քրոմատոգրաֆիայի: Սակայն մխոցի մեծ տրամագիծը բերում է պոմպի որոշակի սահմանային փոքր ճնշման: Ընդհանուր առմամբ մոդուլային սարքավորում հանդիսանում է այն, որն առանձին կոմպլեկտավորելով կարելի է ստանալ օպտիմալ սարք՝բավարարելով կոնկրետ պահանջները: Որակական (պահման ժամանակով) և քանակական (մակերեսի հաշվարկ կամ պիկի բարձրություն) անալիզների բարձր բաժանման վերարտադրելիություն ստանալու համար պահանջներ են ներկայացվում առանձին բաղադրիչների արտադրողականության և կոռոզիոն կայության նկատմամբ: Աշտարակի բաժանման բարձր էֆեկտիվությունը դառնում է անիմաստ, եթե աշտարակից հետո տեղի է ունենում պիկի զգալի ողողում:

Քանի որ նյութերի ֆիզիկական բաժանումը ԲԷՀՔ-ի աշտարակում որոշվում է սորբցիայի իզոթերմով, ապա աշտարակի բաժանման ունակությունը անմիջականորեն կախված է ջերմաստիճանից: Պրակտիկորեն քրոմատոգրաֆիայի բոլոր ֆիզիկական երևույթները, ինչպիսիք են սորբցիոն հավասարակշռությունը, դիսոցիացիան, լուծելիությունը և մածուցիկությունը կախված են ջերմաստիճանից: Ուստի լավ

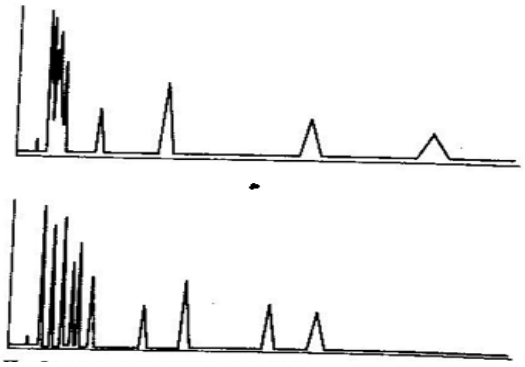
արդյունքներ ստանալու համար անհրաժեշտ է, որպեսզի աշտարակի ջերմաստիճանը լինի շատ կայուն: Դրա համար օգտագործում են աշտարակային թերմոստատներ, որոնցում կայուն ջերմաստիճանը պահպանվում է կամ ջրային բաղնիքի օգնությամբ, կամ ալյումինե բլոկի էլեկտրական տաքացման շնորհիվ, կամ ի հաշիվ օդի շրջանառության:

Գրադիենտային էլուացում

Առավել արդյունավետ բաժանման համար հաճախ անհրաժեշտ է փոխել շարժուն ֆազի կազմը: Համապատասխան աշտարակի և շարժուն ֆազի ընտրությունից հետո, որը որպես օրենք իրենից ներկայացնում է ուժեղ և ավելի քիչ ուժեղ լուծիչների երկկոմպոնենտ խառնուրդ, անշարժ ֆազի կազմն ընտրվում է այնպես, որ մի կողմից ապահովվի նյութերի լիարժեք բաժանումը, իսկ մյուս կողմից՝ անալիզի ոչ երկար ժամանակը: Բարդ նմուշները, որոնք պարունակում են պահման ժամանակի լայն սպեկտրով կոմպոնենտներ, պահանջում են անալիզի պայմանների փոփոխություն:

Իզոկրատիկ ռեժիմով աշխատելու դեպքում, երբ էլուենտի կազմը պահպանվում է անփոփոխ, հնարավոր է, որ առաջին պիկերը լինեն վատ կտրտված միմյանցից, իսկ վերջին պիկերը լինեն լայն և ողողված: Արդյունքում դրանք կարող են կորել դետեկտորի աղմուկում:

Եթե օգտագործում են միայն թույլ լուծիչ, ապա առաջին պիկերի բաժանումը լավանում է, բայց դրա հետ մեկտեղ վերջինները հնարավոր է ընդհանրապես չէլուացվեն: Եթե օգտագործում են միայն ուժեղ լուծիչ, ապա այն ավելի է վատացնում առաջին պիկերի բաժանումը, այնպես որ արդեն հնարավոր չէ որոշել առանձին կոմպոնենտները: Սա է բաժանման հիմնական խնդիրը (նկ.1):



Նկ.1.

Այս խնդրի լուծման համար քրոմատոգրաֆիան հնարավոր է անցկացնել լուծիչների գրադիենտով: Այս մեթոդը թույլատրում է ձգել առաջին պիկերը քրոմատոգրամի վրա և սեղմել վերջինները ի հաշիվ դրանց ավելի արագ էլուացման: Լուծիչների գրադիենտը պետք է ընտրվի այնպես, որ սկզբնական շարժուն ֆազը ունակ լինի էլուացնել ամենաարագ պիկերը: Հետագայում կազմը պետք է փոփոխվի այնպես, որ ուժեղ պահվող կոմպոնենտները լավ էլուացվեն: Այսինքն շարժուն ֆազի էլուացման ուժը պետք է աճի անալիզի ընթացքում:

Մոտավորապես ԲԷՀՔ-ի 90% համակարգերը, որոնք կիրառվում են մեթոդների մշակման և բարդ բաժանումների համար, դա գրադիենտային համակարգերն են: Սկզբունքորեն դրանց կարելի է բաժանել ցածր և բարձր ճնշումով գրադիենտների: Բոլոր գրադիենտային համակարգերն ունեն հետևյալ նպատակը՝ կամ լուծիչները խառնել իզոկրատիկ, այս դեպքում հեշտ է ընտրել լուծիչների հարաբերությունը համապատասխան նմուշի անալիզի համար, կամ անալիզի ժամանակ փոփոխել լուծիչների կազմը էլուացման ուժի մեծացման համար, որպեսզի տեղի ունենա նյութերի լիարժեք բաժանում:

Գոյություն ունի 5 հիմնական պահանջներ, որոնց պետք է բավարարի ժամանակակից գրադիենտային համակարգը՝

1) պատրաստել խառնուրդներ կոմպոնենտների ստույգ տրված քանակներով,

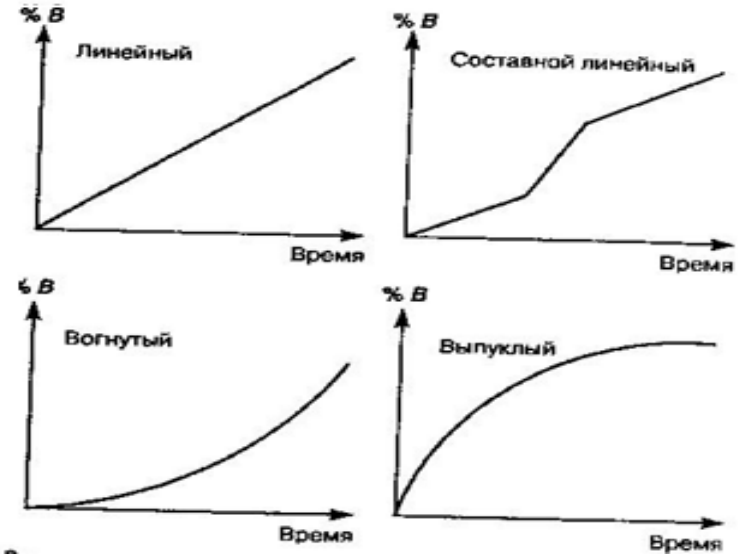
2) խառնուրդի կոմպոնենտների հարաբերության ոչ զգալի տատանում քրոմատագրման ընթացքում,

3) արձագանքի կարճ ժամանակ, խառնուրդի կոմպոնենտների հարաբերության փոփոխման դեպքում,

4) հոսքի անընդհատ արագություն,

5) հեշտ սպասարկում:

Լուծիչների համակարգի փոփոխությունը կարող է տեղի ունենալ գծային, գծային կորի թեքության շեղմամբ, գծայնությունից դեպի դրական և բացասական կորի շեղման կողմերը: Գադիենտի ձևավորման մի քանի օրինակներ ներկայացված են նկ.2-ում: Ակնհայտ է, որ լուծիչները պետք է խառնվեն միմյանց հետ, և մինչև նոր նմուշի տալը պետք է վերականգնված լինի լուծիչների խառնուրդի նախնական հարաբերությունը:



Նկ.2 Գրադիենտային էլուացման հնարավոր ռեժիմները

Գրադիենտի օպտիմիզացիա

Հեղուկային քրոմատոգրաֆիայում գրադիենտային էլուացումը կիրառվում է հնարավորինս պիկերի ամբողջական բաժանում ստանալու նպատակով անալիզի

մինիմալ տևողության պայմաններում: ԲԷՀՔ-ի մշակված մեթոդը դա բազմաթիվ քայլերի արդյունք է բաժանման պայմանների օպտիմիզացման համար, որոնցից են՝

1/ շարժուն ֆազի սկզբնական ու վերջնական կազմը

2/ գրադիենտի ուղղաձգությունը (крутизна)

3/ գրադիենտի համար լուծիչների ընտրությունը:

Ինչպես ԳՔ-ի ջերմաստիճանային ծրագրավորման, այնպես էլ այս դեպքում կիրառվում են հատուկ համակարգչային ծրագրեր: Մեթոդի օպտիմիզացիան սկսում են իրագործել երկու գծային գրադիենտներով, ընդ որում, էլուենտների կազմը նույնն է գրադիենտի սկզբում և վերջում, բայց գրադիենտներն ունենում են տարբեր շեղումներ: Ծրագրի մեջ ներմուծվում է կոմպոնենտների անունը, պահման ժամանակը, պիկերի մակերեսը և ասիմետրիայի գործոնը: Այս տվյալներով ծրագիրը ստուգաճշտվում է օգտագործվող աշտարակի և էլուենտի համար: Ծրագիրը պատասխանում է բաժանման անհրաժեշտ երեք հիմնական հարցերի՝ իրականացված է բաժանումը, որ ժամանակում է գրադիենտը տալիս ամենալավ բաժանումը և որքան հստակ է կատարվում բաժանումը: Բարդ նմուշների համար լիարժեք բաժանման կարելի է հասնել, եթե օգտագործվի գրադիենտ, որը բաժանված է հատվածների: Կարելի է ստանալ բազմագծային գրադիենտներ տարբեր հատվածների միախմբմամբ: Պիկերի հայտնաբերումը, մասշտաբը և սանդղակի փոփոխման հնարավորությունը առաջին հայացքից տալիս են ինֆորմացիա բաժանման պայմանների մասին: Դրանից հետո, երբ ընտրվում է գրադիենտի օպտիմալ պայմանները, կարելի է արագ հետազոտել այնպիսի գործոնների ազդեցությունը, ինչպիսիք են աշտարակի չափսերը, սորբենտի մասնիկի չափսերը և հոսքի արագությունը: Այս դեպքում գրադիենտի ժամանակը ավտոմատ ձևով կարգավորվում է ներմուծված փոփոխություններին համաձայն: Համակարգիչով տրված և փորձնականորեն որոշված պահման ժամանակների տարբերությունը 1%-ից ավել չպետք է լինի:

Նմուշի ներմուծման համակարգեր

Նմուշի ներմուծումը պետք է ապահովի հստակ, որոշակի ծավալով նմուշի մղումը աշտարակ առանց էլուենտի հոսքի ընդհատման: Նմուշի քանակը կախված է առանձին կոմպոնենտների նկատմամբ դետեկտորի զգայունությունից և քրոմատոգրաֆիկ համակարգում նմուշի նոսրացումից, ինչպես նաև աշտարակի թույլատրելի ծանրաբեռնվությունից:

Նմուշի ներմուծման տեղամասը պետք է լինի քիմիապես չեզոք: Հատուկ դեպքերում, ինչպիսիք են սպիտակուցների բաժանումը, կան նմուշի ներմուծման համակարգեր, որոնց կառուցվածքում բացակայում է չժանգոտվող պողպատը, որը լրացվում է տիտանով, կերամիկայով կամ պլաստմասսայով:

Ներկայումս տարբերում են նմուշի ներմուծման երկու տեսակներ՝ ոչ ավտոմատ /ձեռքով ներմուծում/ և ավտոմատացված: Նմուշի ներմուծումը ձեռքի եղանակով

իրականացվում է կամ ներարկիչի օգնությամբ, կամ դոզավորող հանգույցի ծավալով, ընդ որում, վերջին եղանակն ավելի ստույգ եղանակ է:

ԲԷՀՔ-ի աշտարակները

Ժամանակակից ԲԷՀՔ-ում օգտագործում են սորբենտներ, որոնցում մասնիկների չափերը 3-10 մկմ է:

Կախված օգտագործվող սորբենտներից բաժանման մեթոդները բաժանվում են՝

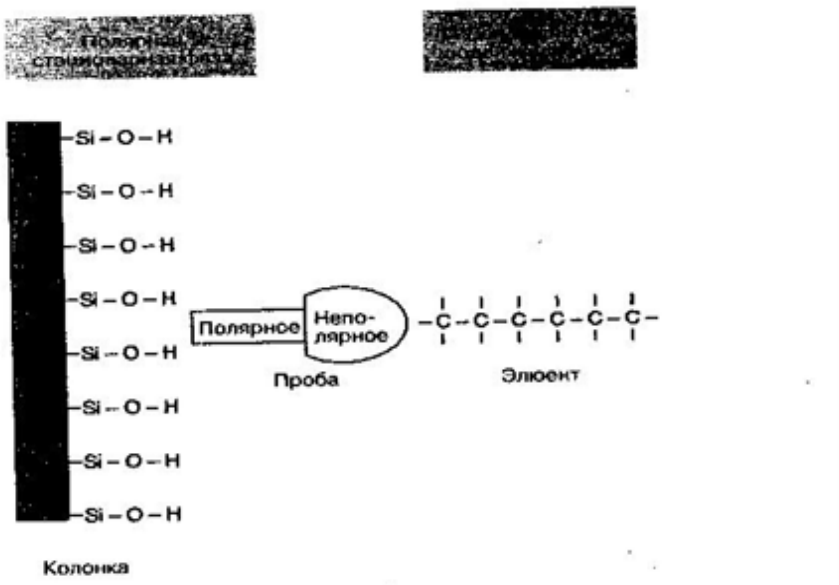
1/ նորմալ ֆազային քրոմատոգրաֆիայի (ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիա)

2/ շրջված ֆազային քրոմատոգրաֆիայի

3/ էքսկլյուզիոն քրոմատոգրաֆիայի:

Նորմալ ֆազային քրոմատոգրաֆիա

Այս դեպքում օգտագործում են աշտարակներ, որոնք լցված են սիլիկագելով կամ ալյումինի օքսիդով: Եթե դիտարկենք սիլիկագելը, ապա այն պարունակում է ազատ սիլանոլային խմբեր, այսպիսով հանդիսանում է բևեռային ֆազ: Մակերեսային սիլանոլային խմբերը ակտիվ են և դիպոլ-դիպոլային փոխազդեցության մեջ են մտնում բաժանվող կոմպոնենտների հետ (ադսորբցիա): Քանի որ անշարժ ֆազը այստեղ բևեռային է, շարժուն ֆազը պետք է լինի ոչ բևեռային /նկ.3/:



Նկ.3. նորմալ ֆազային քրոմատոգրաֆիա

Նմուշի մոլեկուլները կարող են գտնվել ինչպես բևեռային անշարժ ֆազում, այնպես էլ ոչ բևեռային շարժուն ֆազում: Եթե մոլեկուլն ունի միաժամանակ բևեռային և ոչ բևեռային մասեր, ապա այն կողմնորոշվում է այնպես, որ մոլեկուլի բևեռային խմբերն ուղղվում են գլխավորապես դեպի բևեռային անշարժ ֆազ և փոխազդում նրա հետ:

Որպես էլուենտ օգտագործում են հեքսան, հեպտան, մեթիլենքլորիդ, քացախաթթվային էսթեր կամ դրանց խառնուրդներ: Ոչ բևեռային լուծիչներում բաժանվում են գլխավորապես ոչ բևեռային օրգանական միացությունները:

Բևեռային միացությունները, եթե անգամ դրանք լուծվում են էլուենտում, կարող են ուժեղ փոխազդել սիլիկագելի մակերեսի հետ, որի դեպքում կառաջանան վատ ձևի պիկեր կամ էլուացում տեղի չի ունենա: Դրա համար նորմալ ֆազային քրոմատոգրաֆիան կիրառվում է քիչ բևեռային նմուշների համար, որոնք լուծվում են օրգանական լուծիչներում:

Ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիայի թերությունը կայանում է նրանում, որ ջրի հետքերը ուժեղ ազդեցություն են թողնում էլուենտի վրա: Ջուրն ադսորբվում է սիլիկագելի մակերեսին և դեզակտիվացնում է սիլանոլային խմբերը, որի արդյունքում պահումը փոքրանում է: Դրա համար օգտագործվող աշտարակները պետք է հաճախակի վերականգնվեն /չորացվեն/:

Բևեռային կամ հիդրոֆիլ անշարժ ֆազ ասելով ընդհանուր առմամբ ի նկատի ունենք սիլիկագելը, որի մակերեսը մոդիֆիկացված է բևեռային խմբերով, ինչպես նաև չմոդիֆիկացված սիլիկագելը: Այս սորբենտներն օգտագործվում են նորմալ ֆազային քրոմատագրաֆիայում, ընդ որում դրանք ցուցաբերում են տարբեր ընտրողականություն: Դրանք շարժուն ֆազում առկա ջրի հետքերի նկատմամբ ավելի քիչ զգայուն են: Այս սորբենտներն օգտագործվում են ադսորբցիոն, շրջված ֆազային և իոնափոխանակային քրոմատագրաֆիաներում: Բևեռային ֆազերի համար օգտագործվող ֆունկցիոնալ խմբերը ներկայացված են աղյուսակում՝

Նշանակում	Ֆունկցիոնալ խմբեր	Կիրառումը
NH_2	$-CH_2-CH_2-CH_2-NH_2-$	Ադսորբցիոն, իոնափոխանակային, շրջված ֆազային քրոմատոգրաֆիա
CN	$-CH_2-CH_2-CH_2-CN-$	Ադսորբցիոն, շրջված ֆազային քրոմատոգրաֆիա
Դիոլ	$-CH_2-CH_2-CH_2-O-CHOH-CH_2-$	Ադսորբցիոն, էքսկլյուզիոն քրոմատոգրաֆիա

Նորմալ ֆազային քրոմատոգրաֆիայի պայմանները

Քրոմատոգրաֆիկ բաժանումը սիլիկագելի կամ ալյումինի օքսիդի վրա տեղի է ունենում ադսորբցիայի հետևանքով: Սիլիկագելի մոտ ակտիվ մասերը սիլանոլային խմբերն են (-Si-OH), իսկ ալյումինի օքսիդի մոտ՝ առաջին հերթին Al^{3+} կենտրոնները, ինչպես նաև կապված O^{2-} ատոմները: Հնարավոր են հետյալ տեսակի կապերի առաջացում՝

1/ դիպոլ-ինդուկցված դիպոլ

2/ դիպոլ-դիպոլ

3/ ջրածնային կամրջակների առաջացում

4/ π-կոմպլեքսների առաջացում:

Եթե մոլեկուլն ունի մի քանի ֆունկցիոնալ խմբեր, ապա պահման համար պատասխանատու է ավելի բևեռային խումբը:

Կարելի է ասել, որ՝

1/ քրոմատոգրաֆիկ աշտարակում սիլիկագելը բոլոր կողմերից շրջապատված է շարժուն ֆազով: Լուծիչը շատ թե քիչ կլանված է բոլոր ակտիվ կենտրոններում: Նմուշի մոլեկուլը սիլիկագելի մակերեսին կարող է ադսորբվել միայն այն դեպքում, եթե նրա փոխազդեցությունը սորբենտի հետ ավելի ուժեղ է, քան լուծիչի հետ նրա փոխազդեցությունը,

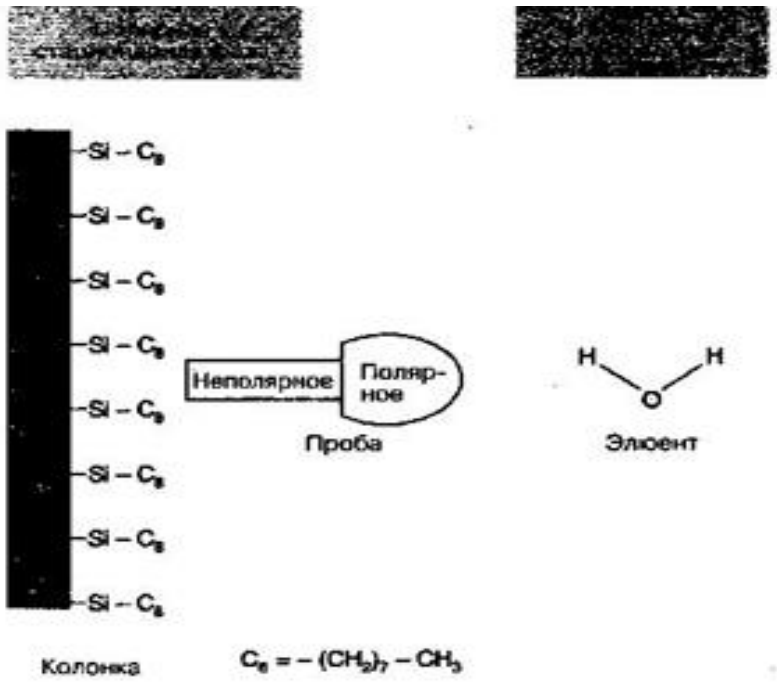
2/ նմուշի բոլոր մոլեկուլները, բնականաբար և լուծիչի մոլեկուլներն ուղղված են սիլիկագելի մակերեսին այնպես, որ իրենց ֆունկցիոնալ խմբերը կամ երկակի կապերը գտնվում են սիլանոլային խմբերին մոտ: Մոլեկուլի ածխաջրածնային հատվածներն ուղղված են սիլիկագելի մակերեսից այն կողմ: Դրա համար սորբենտը չի կարող տարբերակել մոլեկուլները, որոնք տարբերվում են միայն ալիֆատիկ ռադիկալով: Բութանոլի, պենտանոլի և օկտանոլի խառնուրդը ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիայով հնարավոր չէ լավ բաժանել,

3/ փոխազդեցության ուժը սորբատի և սորբենտի միջև կախված է ոչ միայն նմուշի մոլեկուլների ֆունկցիոնալ խմբերից, այլ նաև տարածական գործոններից: Այսպիսով, մոլեկուլները, որոնք տարբերվում են եռաչափ կառուցվածքով, այսինքն ստերիոիզոմերներներ են, հնարավոր է լավ բաժանել ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիայով:

Շրջված ֆազային քրոմատոգրաֆիա

Շրջված ֆազայի քրոմատոգրաֆիայի դեպքում անշարժ ֆազը ոչ բևեռային է, իսկ շարժուն ֆազը՝ բևեռային: Այս դեպքում սիլիկագելը քիմիապես մոդիֆիկացվում է: Շրջված ֆազը ստանում են, եթե սիլիկագելի մակերեսը ծածկում են հիդրոֆոբ ֆունկցիոնալ խմբերով:

ԲԷՀՔ-ում բաժանման համար առավել հաճախ կիրառում են մոդիֆիկացված անշարժ ֆազեր /նկ.4/:



Նկ.4. Շրջված ֆազային քրոմատոգրաֆիա

Առավել կայուն են այն միացությունները, որտեղ ֆունկցիոնալ խումբը միացած է Si-C կապով, որը քիմիապես կայուն՝ pH-ը 1-ից մինչև 9 սահմաններում: Կախված ֆունկցիոնալ խմբի տեսակից աշտարակների մշակման համար օգտագործում են հետևյալ կրճատումները՝

Մոդիֆիկացում	Ֆուկցիոնալ խումբ
C_2	Էթիլ
C_4	Բութիլ
C_8	Օկտիլ
C_{18}	Օկտադեցիլ
C_6H_5	Ֆենիլ

Որպես շարժուն ֆազ օգտագործում են ջուր, բևեռային օրգանական լուծիչներ (մեթանոլ, ացետոնիտրիլ) կամ դրանց խառնուրդներ:

Շրջված ֆազային քրոմատոգրաֆիայի ժամանակ սիլիկագելի քիմիապես մոդիֆիկացված ալկիլային խմբերն առաջացնում են ոչ բևեռային անշարժ ֆազ, իսկ շարժուն ֆազը՝ բևեռային: Ոչ բևեռային մոլեկուլները կամ մոլեկուլի համապատասխան ոչ բևեռային խմբերը փոխազդում են ոչ բևեռային անշարժ ֆազի հետ՝ադսորբվելով դրա վրա:

Նշված մոդիֆիկացված աշտարակները (C_2, C_4, C_8, C_{18}) տարբերվում են նյութերի պահման ժամանակներով: Ինչքան երկար է ալկիլ շղթան, այնքան անշարժ ֆազի մակերեսը ոչ բևեռային է և պահման ժամանակը մեծ է:

ՇՖՔ հիմքում ընկած բաժանման մեխանիզմը հիմնված է Վան-դեր-Վաալսյան փոխազդեցությունների վրա, որոնք առաջանում են մոլեկուլի ածխաջրածնային հատվածների և սորբենտի ալկիլ խմբերի միջև: Ինչքան ոչ բևեռային է միացությունը, այնքան լավ է այն ադսորբվում և, հետևաբար բևեռային նյութերն ավելի շուտ են էլուացվում, քան ոչ բևեռայինները:

Շրջված ֆազային քրոմատոգրաֆիայի առավելությունները

Շրջված ֆազով կարելի է բաժանել ինչպես բևեռային, այնպես էլ ոչ բևեռային միացությունները, հետևաբար նաև միջին բևեռայնության բաղադրիչները: Շարժուն և անշարժ ֆազերի միջև հավասարակշռության հաստատումը տեղի է ունենում արագ, այնպես որ առանց խնդրի կարելի է անցկացնել գրադիենտային էլուացում: Նմուշների ջրային լուծույթները ավելի հաճախ են հանդիպում, քան օրգանական լուծիչներով նմուշները: Քանի որ ջուրը ամենաթույլ էլուենտն է, ապա հնարավոր է ջրային լուծույթների ներմուծում աշտարակ առանց որևէ նախնական մշակման:

Նմուշի շատ նոսր լուծույթների դեպքում, որոնք կարող են հանդիպել բժշկության մեջ և կենսաքիմիայում, ջրային լուծույթների մեծ քանակները (100մլ և ավել) կարելի տալ աշտարակ պոմպով: Այս դեպքում նմուշի նյութերը խտանում են աշտարակի սկզբում, քանի որ ջրի էլուացնելու ուժը չափազանց փոքր է: Երբ կուտակվում է բավական քանակ հետքային կոմպոնենտից, ապա էլուացնում են համապատասխան շարժուն ֆազով՝ացետոնիտրիլի կամ մեթանոլի ավելացմամբ:

Էքստրակցիայի եղանակները դեղագործական անալիզում

Էքստրակցումը (լատ. extractio — հանել) տարբեր օբյեկտներից հեղուկ կամ պինդ նյութերի խառնուրդների բաժանման պրոցես է ընտրողական (սելեկտիվ) լուծիչների (էքստրագենտների) օգնությամբ: Օբյեկտները, որոնցից անջատում են համապատասխան միացությունները կարող են լինել պինդ նյութեր և հեղուկներ: Էքստրակցիոն պրոցեսները ստորաբաժանվում են 2 խմբի՝ պինդ-ֆազային և հեղուկ-հեղուկ էքստրակցիա:

Էքստրակցիան կիրառվում է թունաբանական քիմիայում, կենսաքիմիայում, դեղագործության մեջ և այլ բնագավառներում:

Ժամանակակից քիմիկա-թունաբանական անալիզում էքստրակցիոն մեթոդը լայնորեն օգտագործվում են տոքսիկ նյութերի անջատման համար կենսաբանական ծագման օբյեկտներից, կենսաբանական հումքի մզվածքներից խառնուրդների մաքրման համար, նախապես մաքրված մզվածքներից տոքսիկ նյութերի բաժանման համար:

Էքստրակցիոն պրոցեսը ներառում է հետևյալ 3 փուլերը.

-նյութերի ելային խառնուրդի խառնում էքստրագենտի հետ,

-երկու առաջացող ֆազերի մեխանիկական բաժանում,

-երկու ֆազերից էքստրագենտի հեռացում և նրա վերականգնում կրկնակի օգտագործման համար:

Մեխանիկական բաժանումից հետո ստացվում է անջատվող նյութի լուծույթ էքստրագենտում /էքստրակտ/ և պինդ նյութի կամ ելային լուծույթի մնացորդ /ռաֆինատ/:

Օրգանական լուծիչները, որոնք կիրառվում են օրգանական միացությունների էքստրակցիայի համար, հարմար չեն մեծ թվով անօրգանական միացությունների էքստրակցիայի համար: Դրա համար փորձեր են արվել գտնել հարմար էքստրագենտներ ջրային լուծույթներից անօրգանական միացությունների հեռացման համար: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ անօրգանական միացությունների էքստրակցիայի համար որպես էքստրագենտ կարող են օգտագործվել որոշ կարբոնաթթուներ և սուլֆոնաթթուներ, առանձին ֆոսֆորօրգանական միացություններ, բարձրամոլեկուլյալ ամիններ, չորրորդային ամոնիումային հիմքերի աղեր և այլն: Այս միացությունները էքստրակցիայի ժամանակ փոխազդում են անօրգանական միացությունների և նրանց իոնների հետ: Բացի նշված միացություններից որպես էքստրագենտ մետաղների իոնների համար առաջարկվում են այսպես կոչված խելատացնող ագենտներ /միացություններ, որոնց լուծույթները մետաղների իոնների հետ առաջացնում են խելատներ/: Խելատացնող ագենտներին են պատկանում կուպֆերոն, 8-օքսիխինոլին, դիթիզոն, դիթիոկարբամատներ և այլն:

Կախված էքստրագենտների կազմությունից և հատկություններից էքստրակցիոն համակարգերը բաժանվում են երկու խմբի: Առաջին խմբին վերաբերվում են էքստրակցիոն համակարգերը բաղադրամասերի ,,ֆիզիկական,, բաշխմամբ: Այս համակարգերում բացակայում է քիմիական փոխազդեցությունը էքստրագենտի /օրգանական լուծիչի/ և էքստրակցվող նյութերի միջև: Որոշ միացությունների տարբեր լուծելիությունը և հետևաբար նրանց ոչ միանման էքստրակցումը բացատրվում է այս միացությունների և էքստրագենտների ֆիզիկական հատկություններով /դիպոլ մոմենտ, դիէլեկտրիկ թափանցելիություն և այլն/:

Երկրորդ խմբին պատկանում են էքստրակցիոն համակարգերը, որոնցում էստրակցիան իրականացվում է էքստրագենտների հետ քիմիական փոխազդեցության հաշվին: Այսպիսի համակարգերում նյութերի բաժանման էֆեկտիվությունը կախված է առաջացող միացությունների կամ կոմպլեքսների ամրությունից: Այս էքստրակցիոն համակարգերն օգտագործվում են անօրգանական միացությունների հեռացման համար:

էքստրակցվող նյութերի հետ փոխազդող էքստրագենտներով էքստրակցիան հանդիսանում է ավելի բարդ պրոցես, քան էքստրակցիան հիմնված ֆիզիկական բաշխման վրա:

Օրգանական լուծիչներով նյութերի էքստրակցիայի վրա ազդում են տարբեր գործոններ /էքստրակցվող նյութի բնույթը, էքստրագենտի բնույթը, ջերմաստիճանը, միջավայրի pH, էլեկտրոլիտների առկայությունը ջրային լուծույթներում, թափահարման արագությունը և այլն/:

Ջերմաստիճանի ազդեցությունը էքստրակցիայի վրա: Ջերմաստիճանի փոփոխությունը ազդում է էքստրակցվող միացության բաշխման հաստատունի վրա: Սա բացատրվում է նրանով, որ ջերմաստիճանի փոփոխության դեպքում փոփոխվում է էքստրակցվող նյութերի լուծելիությունը յուրաքանչյուր ֆազում, ինչպես նաև փոխվում է օրգանական և ջրային ֆազերի լուծելիությունը: Ի դեպ ջերմաստիճանի փոփոխությամբ նյութերի լուծելիությունը յուրաքանչյուր ֆազում տարբեր է փոփոխվում: Սա հանդիսանում է նյութերի բաշխման հաստատունների փոփոխման պատճառներից մեկը ջերմաստիճանի փոփոխման դեպքում:

Ջերմաստիճանի փոփոխման դեպքում կարող են փոփոխվել համապատասխան ֆազում նյութերի դիսոցումը և ասոցումը: Այդ պատճառով ջերմաստիճանի փոփոխման դեպքում փոփոխվում է քիմիական միացությունների հիդրատացումը /սոլվատացումը/ և էքստրակցումը:

Միջավայրի pH ազդեցությունը էքստրակցիայի վրա: Օրգանական նյութերի էքստրակցումը կախված է մի շարք գործոններց, այդ թվում նաև միջավայրի pH-ից: էքստրակցված նյութի քանակությունը կախված է նրա դիսոցումից ջրային ֆազում: Դա կապված է նրա հետ, որ նյութի չդիսոցված մոլեկուլները և նրա իոնները նույնությամբ չեն էքստրակցվում օրգանական լուծիչներով ջրային լուծույթներից:

էքստրակցիայի ժամանակ չդիսոցված մոլեկուլները անցնում են օրգանական ֆազ, իսկ իոնները, որոնք լավ հիդրատացված ջրի մոլեկուլներով, մնում են ջրային ֆազում: Դրա համար ջրում լավ դիսոցվող ուժեղ էլեկտրոլիտները չեն էքստրակցվում օրգանական լուծիչներով:

Էլեկտրոլիտների ազդեցությունը էքստրակցիայի վրա: Լավ լուծվող աղերի ավելացումը այլ նյութի ջրային լուծույթի վրա կարող է իջեցնել կամ բարձրացնել նրա լուծելիությունը ջրում:

Նյութերի լուծելիության իջեցումը ջրային լուծույթներում էլեկտրոլիտների ազդեցության տակ կոչվում է աղազրկում, իսկ լուծելիության մեծացումը՝ աղագոյացում:

Աղազրկումը հանդիսանում է ջրում նյութերի լուծելիության իջեցման և նրանց էքստրակցումը բարձրացնող գործոն օրգանական լուծիչներով ջրային լուծույթներից:

էլեկտրոլիտների աղազրկող ազդեցությունը կախված է աղազրկվող նյութի բնույթից և հատկություններից, աղազրկողի բնույթից և հատկություններից, կոնցենտրացիայից և աղազրկողի իոնների շառավղից և այլն: Փոքր շառավղով

աղազրկողի իոնները ունեն լիցքի ավելի մեծ խտություն, քան մեծ շառավղով իոնները: Այդ պատճառով փոքր շառավղով իոնները ավելի լավ են հիդրատացվում, քան մեծ շառավղով իոնները: Սրա հետ կապված փոքր շառավղով իոնների աղազրկող ազդեցությունը ավելի արտահայտված է, քան մեծ իոնների աղազրկող ազդեցությունը:

Հայտնի է, որ աղազրկող ազդեցությամբ օժտված են նաև որոշ ջրում լավ լուծելի ոչ էլեկտրոլիտներ: Այսպես, օրինակ, էթիլ սպիրտը լավ աղազրկում է քացախաթթուն, նրա ջրային լուծույթներից էթիլացետատով այդ թթվի էքստրակցիայի ժամանակ և այլն:

Աղայնացնող հատկությամբ օժտված նյութերը օգտագործվում են ջրում վատ լուծվող նյութերի լուծելիության բարձրացման համար: Հայտնի են մի քանի տեսություններ, որոնք բացատրում են աղագոյացման պրոցեսը: Համաձայն դրանցից մեկի աղագոյացումը բացատրվում է աղագոյացնողների և աղագոյացվող նյութերի քիմիական փոխազդեցությամբ էքստրակցիոն համակարգերում: Դրա հետևանքով կարող են առաջանալ ջրում լավ լուծվող միացություններ կամ կոմպլեքսներ, որոնք չեն էքստրակցվում օրգանական լուծիչներով:

Հաճախ օգտագործվող դեղաձևերից դեղերի էքստրակցիա

Անալիզից առաջ էքստրակցիայի անցկացման հիմնական նպատակն է հեռացնել նյութերը, որոնք կարող են խանգարել անալիզին: Սա կարևոր պահանջ է, եթե քրոմատոգրաֆիկ բաժանում տեղի չի ունենում անալիզի ընթացքում: Նույնիսկ, երբ օգտագործվում է քրոմատոգրաֆիկ բաժանումը որոշակի ձևով էքստրակցիա պետք է իրականացվի անալիզից առաջ, որպեսզի հեռացվի դեղահատերի անլուծելի մատրիցային նյութերը կամ յուղային լցանյութերը կրեմներից և քսուքներից: Դիտարկենք խառնուրդների հիմնական ձևերը հետևյալ դեղաձևերում:

Դեղահատեր և դեղապատիճներ

Դեղահատերը և դեղապատիճները սովորաբար պարունակում են մեծ քանակությամբ լցանյութեր, բացի բարձր դոզայով դեղաձևերից, ինչպես օրինակ պարացետամոլի դեղահատերը և այլ ՈՍՀԲ դեղահատեր, որտեղ ակտիվ կոմպոնենտը կարող է կազմել դեղաձևի մեծ մասը: Դեղահատերում հիմնական օգտագործվող լցանյութը լակտոզան է, և այլ շաքարներ կամ շաքարային պոլիմերներ նույնպես լայնորեն օգտագործվում են որպես լցանյութեր, որոնցից են ցելյուլոզան, օսլան և մանիտոլը: Այս միացությունները բևեռային են և լավ լուծվում կամ ուռչում են ջրում. այսպես, երբ դեղը ջրալուծ է, էքստրակցիոն պրոցեսները լավագույնը իրականացվում են ջրային միջավայրում, այնպես, որ դեղը արդյունավետ հեռացվում է պարզ մատրիցայից: Եթե դեղը ամբողջովին ջրալուծ չէ, էքստրաքցիայի համար կարելի է օգտագործել մեթանոլ կամ էթանոլ, քանի որ նրանք բավականին լավ կթրջեն դեղահաբի փոշին և կլուծեն շատ օրգանական մոլեկուլներ:

Գունավորողներն ակնհայտորեն ունեն խանգարելու պոտենցիալ անալիզում, որովհետև նրանք ՈՒՄ/տեսանելի ճառագայթման լավ կլանիչներ են: Դեղահատերում և դեղապատիճներում գույները օրգանական ներկեր, օրգան մետաղական ներկեր կամ մետաղի օքսիդներ են, որոնք լավ չեն լուծվում էքստրակցիայի ժամանակ օգտագործվող լուծիչներում և կարող են ֆիլտրվել մատրիցայի այլ անլուծելի բաղադրամասերի հետ: Երբ դեղապատիճներն են հետազոտվում, գունավորված

արտաքին թաղանթը նախապես հեռացվում է մինչ դեղապատիճի բաղադրամասերի էքստրակցիան:

Սուսպենզիաներ և լուծույթներ

Սուսպենզիաներում և լուծույթներում օգտագործվող ներկանյութերը ջրալուծ են և պարունակում են բնական պիգմենտներ, ինչպիսիք են քլորոֆիլները, կարոտինոիդները և անտոցիանները և ածխա-ճարպային –հիմքի ներկերը: Մեծ ջանք է պահանջվում այս հումքից խառնուրդները հեռացնելու համար: Պինդ ֆազային էքստրակցիան իոնափոխանակային խեժերի հետ կարող է օգտակար լինել անիոնային կամ կատիոնային ներկերի հեռացման համար, թեև դեղի պարզ էքստրակցիան չափավոր բևեռայնությամբ օրգանական լուծիչում նույնպես կարող է հեռացնել այսպիսի ներկերը ջրային ֆազից: Լուծույթները պարունակում են հակամիկրոբային կոնսերվանտներ և հակաօքսիդանտներ: Սրանք հիմնականում կամ ֆենոլներ են, կամ չորրորդային ամիններ, ինչպիսիք են բենզալկոնիում քլորիդը և ունեն բավական ուժեղ քրոմոֆորներ որպեսզի ազդեն դեղի անալիզի վրա: Այս միացությունները պետք է հեռացվեն անալիզից առաջ էքստրակցիոն եղանակներով: Սուսպենզիաները պարունակում են նաև ՄԱՆ-եր, որոնցից են պոլիէթիլենգլիկոլային հիմքի դետերգենտները, բայց այս միացությունները չունեն ակնհայտ ՈՒՄ կլանումներ, քիչ են խանգառում վերլուծությանը և հետևաբար հիմնականում անհրաժեշտություն չի առաջանում հեռացնել դրանց:

Կրեմներ և քսուքներ

Ճարպաթթվի նատրիումական և կալիումական աղերը, կատիոնային ՄԱՆ-երը, և ոչ իոնական ՄԱՆ-երը օգտագործվում են կրեմներում և քսուքներում: Այս միացությունները չունեն ուժեղ քրոմոֆորներ, բայց մասնավորապես ճարպաթթուները կարող են խանգարել քրոմատոգրաֆիայում, աղտոտելով հետադարձ-ֆազային ԲԷՀՔ-ի աշտարակները, եթե նրանք հեռացված չեն: Հետադարձ-ֆազային ԲԷՀՔ-ի աշտարակների աղտոտվելը լիպոֆիլ նյութերով կարող է հաճախ արտահայտվել քրոմատոգրաֆիկ պիկի ձևի խախտմամբ: Կրեմները և քսուքները պարունակում են մեծ քանակներով յուղային տրիգլիցիրիդներ, որոնք պետք է հեռացվեն քրոմատոգրման պրոցեսում նրանց խառնումից խուսափելու համար: Կրեմների էքստրակցիան մեթանոլով կարող է մասնակիորեն հեռացնել այս տիպի խառնուրդները: Էքստրակտի բաժանումը հեքսանի և մեթանոլի կամ մեթանոլ/ջուր խառնուրդի միջև նույնպես կարող է օգտագործվել. բարձր լիպոֆիլությամբ նյութերը տեղափոխվում են հեքսանի շերտ:

Հեղուկ-հեղուկ էքստրակցիոն մեթոդներ

Հեղուկ-հեղուկ էքստրակցիան լուծված նյութի բաշխման պրոցես է երկու միմյանց հետ չխառնվող ֆազերում, որոնցից մեկը մեծամասնությամբ հանդիսանում է ջուրը, իսկ երկրորդը՝ ջրի հետ չխառնվող օրգանական լուծիչ:

Լուծիչներով էքստրակցիոն եղանակները պարզ մեթոդներ են հանդիսանում հետազոտվող նյութի բաժանման համար: Անջատված հետազոտվող նյութը կարող է ուսումնասիրվել գրավիմետրիկ, սպեկտրոֆոտոմետրիկ կամ քրոմատոգրաֆիկ եղանակներով:

Էքստրակցիայի ժամանակ օգտագործվող օրգանական լուծիչներին ներկայացվող պահանջները.

- Օրգանական լուծիչը պետք է լավ դուրս բերի հետազոտվող նյութը ջրային ֆազից /պետք է ունենա բարձր ,,էքստրակցիոն ուժ,,/:
- Ցանկալի է, որ օգտագործվող լուծիչը լինի ընտրողական: Այն պետք է լուծույթներից դուրս հանի միայն մեկ նյութ կամ նմանատիպ միացությունների խումբ:
- Օրգանական լուծիչը պետք է ունենա աննշան լուծելիություն ջրում, իսկ ջուրը չպետք է նշանակալիորեն լուծվի այդ լուծիչում:
- Օրգանական լուծիչը հնարավոնինս չպետք է լինի ցածրաեռ: Լուծիչի եռման ջերմաստիճանը պետք է լինի 50 ՀC -ից բարձր:
- Օրգանական լուծիչների խտությունը հնարավորության դեպքում պետք է տարբերվի ջրի և ջրային լուծույթների խտությունից /պետք է ունենա ջրից փոքր խտություն/:
- Լուծիչները պետք է լինեն կայուն, իներտ:
- Լուծիչները չպետք է լինեն պայթունավտանգ և թունավոր:
- Լուծիչները չպետք է ունենան ՈւՄ կլանում:
- Ցանկալի է, որ ունենան ցածր գին:

Օրգանական հիմքերի և թթուների էքստրակցիան հիմնված նրանց իոնացված և չիոնացված ձևերի վրա

Օրգանական հիմքերի աղերը, ինչպիսիք են սուլֆատները և հիդրոքլորիդները հիմնականում ջրալուծ են և ազատ հիմքերը սովորաբար բավական օրգանոլուծելի են և հատկապես հարաբերականորեն բևեռային լուծիչներում, ինչպիսին է քլորոֆորմը կամ քլորոֆորմի և էթանոլի խառնուրդները: Նույն կերպ օրգանական թթուների նատրիումական կամ կալիումական աղերը ջրում լավ լուծելի են, մինչդեռ ոչ-իոնացված թթուները սովորաբար բավական օրգանոլուծելի են: Այս հատկությունները կարող են հատկապես օգտագործվել էքստրակցիոն գործընթացի ընտրության համար:

Օրգանական թթուների էքստրակցիա: Օրգանական թթուների չդիսոցված մոլեկուլները ջրային լուծույթներում էլեկտրաչեզոք են և թույլ հիդրատացվում են ջրի մոլեկուլներով:

Ջրային լուծույթները օրգանական լուծիչների հետ շփման ժամանակ թթվի էլեկտրաչեզոք մոլեկուլները հեշտ սոլվատացվում են և այդ պատճառով անցնում են օրգանական լուծիչի շերտ:

Թույլ թթուների ջրային լուծույթներում դիսոցման ժամանակ առաջացող իոններն ունեն համապատասխան լիցքեր, և դրա համար հեշտ հիդրատացվում են ջրի դիպոլներով:

Ջրի մոլեկուլների կապը թթվի իոնների հետ համեմատաբար ամուր է: Այդ պատճառով այդպիսի իոնները թույլ են սոլվատացվում օրգանական լուծիչներով և չեն էքստրակտվում օրգանական լուծիչներով ջրային լուծույթներից:

Ջրային ֆազում ջրածնի իոնների կոնցենտրացիայի փոփոխությունը բերում է չդիսոցված մոլեկուլների քանակի հարաբերական բարձրացմանը կամ իջեցմանը, և հետևաբար թթվի էքստրակտման փոփոխմանը:

pH-ի բարձրացմամբ /ջրածնի իոնների կոնցենտրացիայի փոքրացմամբ ջրային լուծույթներում/ մեծանում է թթվի դիսոցումը լուծույթում, որը բերում է նրա չդիսոցված

մոլեկուլների փոքրացմանը: Դրա արդյունքում իջնում է թույլ թթվի էկստրակցումը օրգանական լուծիչներով այդպիսի լուծույթներից:

Ջրածնի իոնների կոնցենտրացիայի բարձրացման դեպքում /pH-ը իջնելիս/ ջրային լուծույթում մեծանում է չդիսոցված թթվի մոլեկուլների թիվը, և հետևաբար բարձրանում է նրա էքստրակցումը օրգանական լուծիչներով: Ջրածնի իոնների կոնցենտրացիայի նշանակալի բարձրացման դեպքում ջրային լուծույթում թույլ թթվին գործնակորեն ամբողջությամբ կարելի է փոխակերպել չդիսոցված վիճակի և այդպիսով բարձրացնել նրա էքստրակցիոն ունակությունը:

Հիմքերի էքստրակցիա: Շատ օրգանական հիմքեր, որոնց թվին պատկանում են ալկալոիդները և նրանց բազմաթիվ սինթետիկ անալոգները հանդիսանում են դեղադործական պրեպարատներ: Այս հիմքերը չեզոք միջավայրում գտնվում են չդիսոցված վիճակում: Թթուներով ազդելիս օրգանական հիմքերի վրա առաջանում են նրանց աղերը, որոնք ջրային լուծույթներում դիսոցվում են իոնների:

Օրգանական հիմքերի չդիսոցված մոլեկուլները թույլ հիդրատացվում են ջրի մոլեկուլներով, բայց լավ սոլվատացվում են օրգանական լուծիչներով: Այդ պատճառով օրգանական հիմքերի չդիսոցված մոլեկուլները լավ էքստրակցվում են ջրային լուծույթներից օրգանական լուծիչներով:

Օրգանական հիմքերի աղերի դիսոցման ժամանակ առաջացող իոնները լավ հիդրատացվում են ջրի մոլեկուլներով և թույլ սոլվատացվում են օրգանական լուծիչների մոլեկուլներով: Այդ պատճառով օրգանական հիմքերի աղերը /ոչ մեծ բացառություններով/ չեն էքստրակտվում օրգանական լուծիչներով:

Օրգանական հիմքերը հանդիսանում են թույլ էլեկտրոլիտներ: Նրանց դիսոցման աստիճանը կախված է միջավայրի pH-ից: Օրգանական հիմքերին թթուներ ավելացնելիս դրանք անցնում են աղերի: Այդ դեպքում մեծանում է իոնների քանակը և իջնում է չդիսոցված մոլեկուլների քանակը, և հետևաբար իջնում է այս միացությունների էքստրակցիայի աստիճանը օրգանական լուծիչներով:

Օրգանական հիմքերի աղերին հիմքերի ավելացման դեպքում իջնում է իոնների քանակը և մեծանում է այս հիմքի չդիսոցված մոլեկուլների քանակը: Սրա հետևանքով հիմնային միջավայրում մեծանում է օրգանական հիմքերի էքստրակցիայի աստիճանը:

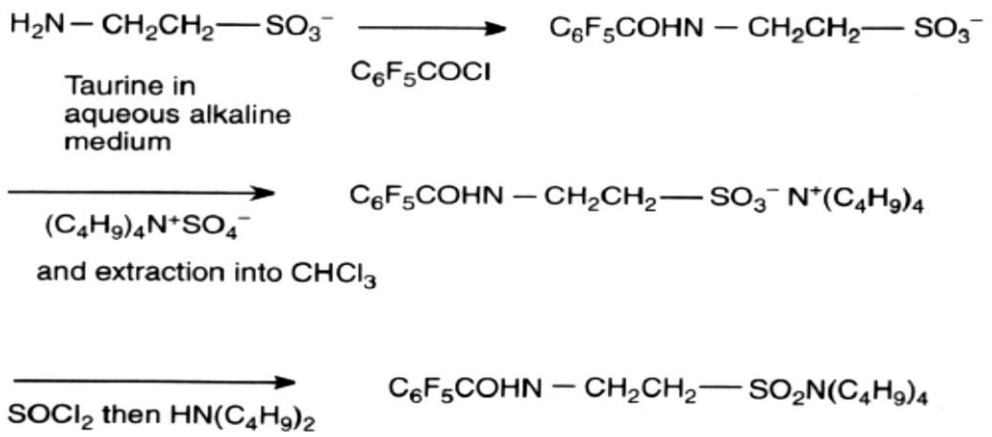
Ամֆոտեր միացությունների էքստրակցիա: Թունաբանական նշանակություն ունեցող ամֆոտեր միացությունների թվին են պատկանում նյութերը, որոնց մոլեկուլներում պարունակվում են ամինային ազոտ և ֆենոլային խմբեր /մորֆին, սալսոլին և այլն/, ինչպես նաև միացությունները, որոնք պարունակում են ամինային ազոտ և կարբոքսիլ խումբ /ամինաթթուներ և այլն/: Այս միացությունները կախված միջավայրի pH-ից դիսոցվում են ինչպես հիմքերը /թթվային միջավայրում/ և ինչպես թթուները /հիմնային միջավայրում/: Ամֆոտեր միացությունների էքստրակցիան կախված է միջավայրի pH-ից, քանի որ pH-ի փոփոխման դեպքում փոխվում է ամֆոտեր միացությունների իոնների և չդիսոցված մոլեկուլների քանակը: Մոլեկուլյար վիճակում գտնվող ամֆոտեր միացությունները էքստրակցվում են օրգանական լուծիչներով: Ամֆոտեր միացությունների իոնները լավ հիդրատացվում են ջրի մոլեկուլներով և գրեթե չեն էքստրակտվում օրգանական լուծիչներով: Ամֆոտեր միացությունների մեծամասնությունը էքստրակտվում են օրգանական լուծիչներով այդ միացությունների իզոէլեկտրիկ կետին համապատասխանող pH-ի դեպքում: Սա բացատրվում է նրանով, որ իզոէլեկտրիկ կետում ամֆոտեր միացությունների մոլեկուլները էլեկտրական լիցք չունեն:

Բաշխումը օրգանական լուծիչների միջև

Այս մեթոդն օգտագործվում է հետազոտվող նյութը յուղային լցանյութերից էքստրակցիայի դեպքում, ինչպիսին է ստերոիդ կրեմների էքստրակցիան ԲԷՀՔ-ից առաջ: Հիմնական օգտագործվող համակարգերն են մեթանոլ/հեքսան, ջրային էթանոլ/հեքսան կամ ացետոնիտրիլ/հեքսան: Կրեմներում կորտիկոստերոիդների անալիզի դեպքում, կրեմը սովորաբար դիսպերսվում է հեքսանում տաքացնելիս և հետո էքստրակցվում է հավասար ծավալով մեթանոլով: Մեթանոլը և հեքսանը շատ թեթևակիորեն են խառնվում, և յուղային լցանյութերը մնում են առավելապես հեքսանի շերտում, մինչդեռ ավելի բևեռային կորտիկոստերոիդը բաշխվում է մեթանոլի շերտում: Այս տեղաբաշխման եղանակով որոշվում են հիդրոկորտիզոն ստեարատ, ֆտորցինոլոն և բեկլոմետազոն կրեմները:

Իոնական զույգերով էքստրակցիա

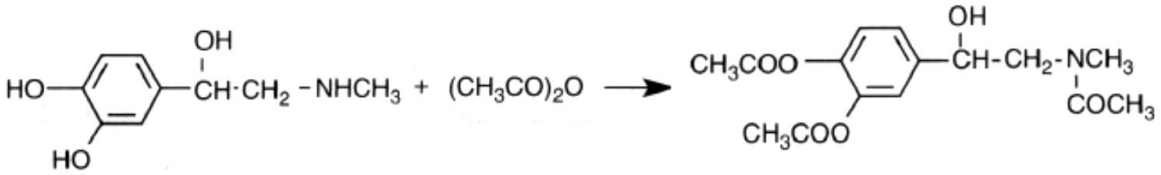
Իոնական զույգերով էքստրակցիան ստանդարտ մեթոդ է, որը կիրառվում է իոնական ՄԱՆ-երի որոշման համար կամ կոլորիմետրիկ, կամ տիտրիմետրիկ եղանակներով: Օրինակ, կատիոնային ՄԱՆ ցերրիմիդը կարող է գնահատվել զույգավորվելով լիպոֆիլ անիոնային ներկի հետ, ինչպիսին է բրոմոկրեզոլ պուռպուռը: Իոնային զույգավորումը ստեղծում է գունավորում ունեցող լիպոֆիլ իոնական զույգ, որը կարող է էքստրակցվել օրգանական լուծիչի մեջ, ինչպիսին է քլորոֆորմը և գունավոր էքստրակտի քանակական չափումը իրականացվում է սպեկտոֆոտոմետրիկ եղանակով: Այս տիպի քանակական որոշումը նկարագրված է բրիտանական ֆարմակոպեայում Կլոնիդին ներարկման դեղաձևի և Բենզիեքսոլ դեղահատերի համար: Իոնական զույգերով էքստրակցիան օգտագործվում է նաև բևեռային նյութեր էքստրակցելու համար կենսաանալիտիկ պրոցեսներում:



Նկ. Տաուրինի էքստրակցիան և բաժանումը

Այսպես նկարում ներկայացված է տաուրին ամինաթթվի գազ-քրոմատագրում-մաս սպեկտրաչափությամբ /ԳՔ-ՄՍ/ որոշման ընթացքում տեղի ունեցող քիմիական փոխարկումները: Այս սխեման արտահայտում է ամինների /և ֆենոլների/ հատկությունը արագ փոխազդել ացիլացնող ազդանյութի հետ, որի արդյունքում առաջացած միացությունը տետրաբութիլ ամոնիում սուլֆատի հետ առաջացնում է իոնային զույգ, որը էքստրակցվում է քլորոֆորմով: Ացիլացումից և իոնային զույգի էքստրակցիայից հետո, տաուրինըԳՔ-ՄՍով անալիզից առաջ վերածվում է ամիդի:

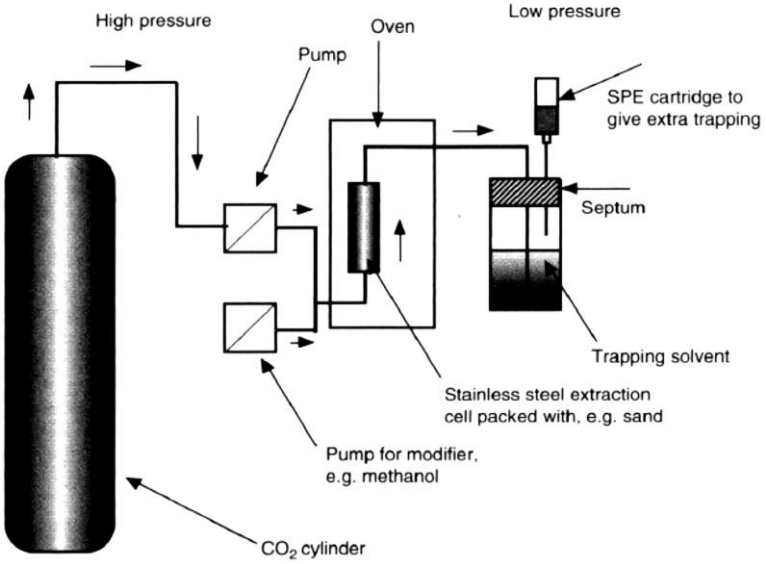
Քիմիական փոխարկումները էքստրակցիայից առաջ



Նկար. Ադրենալինի ջրային ֆազում ացետիլացումը էքստրակցիայից առաջ

Այս նկարը ցույց է տալիս ջրային ֆազում ներարկման ադրենալինի ացետիլացումը քացախաթթվի անհիդրիդի հետ: Ռեակցիան իրականացվում է ջրային միջավայրում նատրիումի բիկարբոնատի ներկայությամբ և օգտագործվում է /-/ ադրենալինի բևեռայնության իջեցման նպատակով, որից հետո այն քանակապես անջատվում է ջրային միջավայրից: Այս փոխարկումը կիրառվում է ադրենալինի ներարկման դեղաձևերում գրավիմետրիկ որոշման համար:

Գերկրիտիկական հեղուկ էքստրակցիա /ԳԿՀէ/



Նկարը ցույց է տալիս գերկրիտիկական հեղուկ էքստրակցիայի սարքի սխեմատիկ դիագրամը:

ԳԿՀԷ առավելություններն են՝

1. Լուծիչներն գտնվում են իրենց կրիտիկական ջերմաստիճանից բարձր և բարձր ճնշման պայմաններում, բայց նրանք գործում են գրեթե նույնքան էֆեկտիվ, ինչքան հեղուկ լուծիչները և ունեն այն առավելությունը, որ էքստրակցիան շատ արագ է ընթանում:

2. Փոփոխելով ճնշումը էքստրակցիոն անոթում՝ գերկրիտիկական հեղուկների լուծիչի ուժը կարող է աճել կամ նվազել, այսպիսով ապահովելով ընտրողական էքստրակցիան մաքուր նյութերի ստացման համար:

3. CO_2-ը, որը շատ հաճախ օգտագործվում է որպես էքստրակցիոն միջավայր, ոչ տոքսիկ, ոչ բռնկվող լուծիչ է, որը լավ բաշխվում է և ունի ցածր կրիտիկական ջերմաստիճան /31.1^{0}C/, ինչը նշանակում է, որ այն կարող է օգտագործվել որպես էֆեկտիվ լուծիչ անկայուն միացությունների էքստրակցիայի համար:

ԳԿՀԷ-ի անցկացման ամենաարդյունավետ մեթոդը նկարում պատկերված դինամիկ պրոցեսի միջոցով է: Այս պրոցեսը հնարավորություն է տալիս ավելացնել բևեռային կարգավորիչներ, ինչպիսին է մեթանոլը, որը մեծացնում է ոչ բևեռային CO_2 լուծիչի ուժը: Քլորաջրածնի կամ ամոնիակի ավելացումը հեղուկը դարձնում է թթվային կամ հիմնային համապատասխանաբար: Հեղուկ CO_2–ը կարգավորիչով անցնում է չժանգոտվող մետաղյա տարրայով, որը պարունակում է նմուշը: Այնուհետև հետազոտվող նմուշը խառնվում է իներտ էքստրագենտի հետ, այնպես, որ նմուշը զբաղեցնում է ամբողջ տարրայի ծավալը: Գերկրիտիկական ջերմաստիճանում գտնվող CO_2-ով էքստրակցիայի իրականացման անհրաժեշտ պայմաններն են 28000 kPa ճնշումը և 50^{0}C ջերմաստիճանը:

Այս եղանակով որոշվում է վիտամին A, E և նրանց ացետատային և պալմիտատային էսթերները դեղահատերում, անկայուն պրոստագլանդին PGE1 պոլիբուտադիեն պոլիմերային մատրիցայի մեջ: ԳԿՀԷ օգտագործվում է օփիոիդների էքստրակցիայի համար, մազերից կոկայինի և բեզիլէկգոնինի անջատման համար:

Պինդ ֆազային էքստրակցիա /ՊՖԷ/

Պինդ ֆազային էքստրակցիայի հիմքում ընկած է աշտարակային քրոմատոգրաֆիայի սկզբունքը, որը հիմնված է մատրիցայում բաշխված բաղադրիչների փոխազդեցության վրա պինդ ֆազի հետ: Մատրիցան իրենից ներկայացնում է գազային կամ հեղուկ միջավայր, որտեղ լուծվում է հետազոտվող նյութը, իսկ պինդ ֆազը՝ հատուկ սորբենտ, տեղադրված 2 ծակոտկեն ֆիլտրերի միջև:

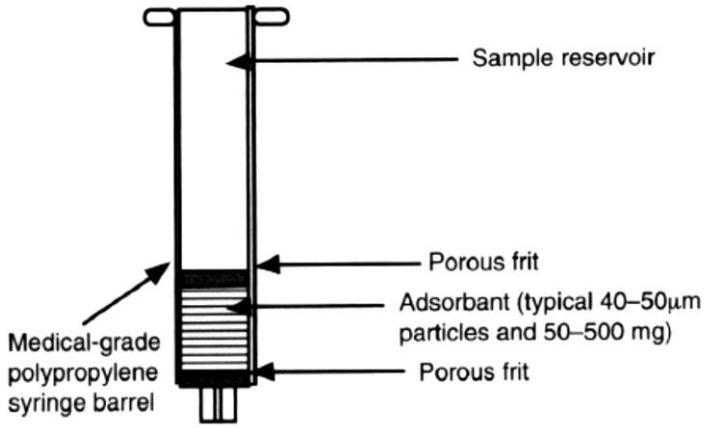
Պինդ ֆազային էքստրակցիայի առավելություններն են հեղուկ/հեղուկ էքստրակցիայի նկատմամբ

- Պինդ ֆազը չի խառնվում լուծիչների հետ և այսպես, նմուշը բեռնելուց հետո խառնուրդների հեռացման համար կարելի է օգտագործել մի շարք լայն ընտրությամբ լվացող լուծիչներ:
- Ադսորբենտի քիմիական բնույթը կարող է տատանվել այնպես, որ այն լինի սելեկտիվ հետազոտվող նյութում մասնավոր ֆունկցիոնալ խմբի համար:
- Երկու ֆազերի միջև էմուլսիաներ չեն առաջանում:
- Լուծիչի միայն փոքր ծավալներ են պահանջվում լվացման և էլուացման համար

Հեղուկ/հեղուկ էքստրակցիա

- Լուծիչները պետք է լինեն չխառնվող. այսպիսով էքստրակցիայի լվացող լուծիչների ընտրություն սահմանափակ է:
- Կարող են առաջանալ էմուլսիաներ:
- Պահանջվում են լուծիչի մեծ ծավալներ, երբ իրականացվում է նմուշի մեծ ծավալով էքստրակցիա:

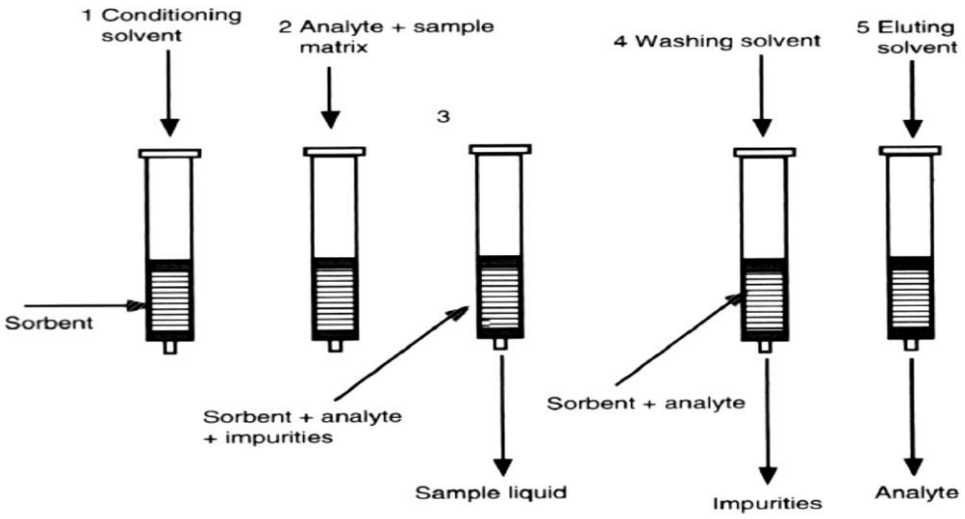
ՊՖԷ հիմնված է նկարում ցուցադրված համակարգի վրա:



նկ. ՊՖԷ քարթրիջ

Նմուշի ծավալը, որը բեռնվում է այս փոքր աշտարակի վրա կարող է աճել օգտագործելով ավելի մեծ նմուշի պահեստով աշտարակ: Նմուշը սովորաբար ներծծվում է աշտարակի միջով վակուումի տակ:

ՊՖԷ եղանակի մեջ մտնող քայլերը ցույց են տրված հետևյալ նկարում:



նկ. ՊՖԷ բնորոշ գործընթացը

1. Աշտարակը լվացվում է լուծիչի 5-10 շերտերի ծավալով, որն օգտագործվում է հետազոտվող նյութը էլուացնելու համար և իոնափոխանակային ադսորբենտի դեպքում կօգտագործվի համապատասխան բուֆերի 5-10 ծավալներ:

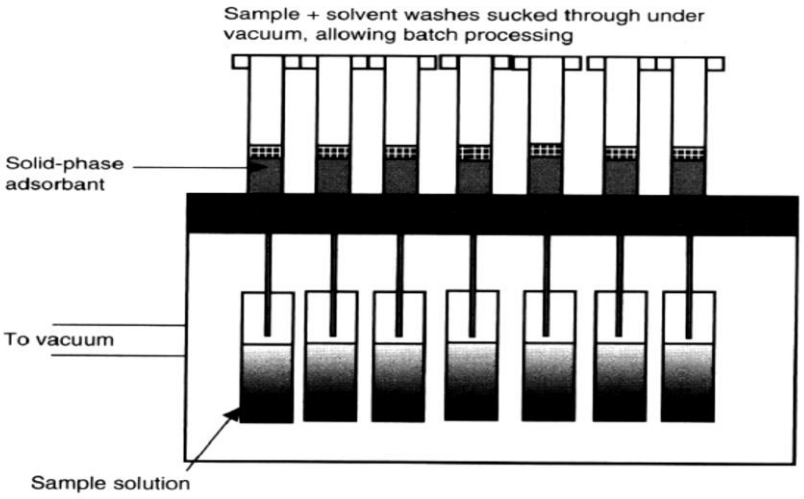
2. Հետազոտվող նյութը բեռնվում է աշտարակի վրա համապատասխան լուծիչում, որը շատ թույլ է որպեսզի էլուացնի այն աշտարակից:

3. Նմուշի լուծիչն անցնում է աշտարակի միջով՝ թողնելով պինդ ֆազի վրա կլանված հետազոտվող նյութ + խառնուրդները:

4. Աշտարակը լվացվում է լուծիչով, որն էլուացնում է խառնուրդները՝ թողնելով հետազոտվող նյութը աշտարակի վրա: Սա պահանջում է հետազոտվող նյութի և ադսորբենտի ֆիզիկոքիմիական հատկությունների լավ իմացություն:

5. Հետազոտվող նյութն էլուացվում է համապատասխան լուծիչով:

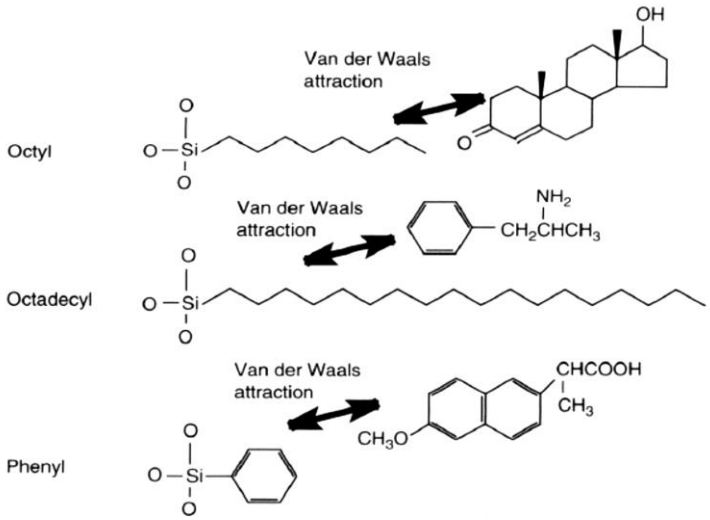
Միաժամանակ բազմակի էքստրակտների ստացման համար կարող է օգտագործվել վակուումի բազմազանություն, ինչպես ցույց է տրված հետևյալ նկարում:



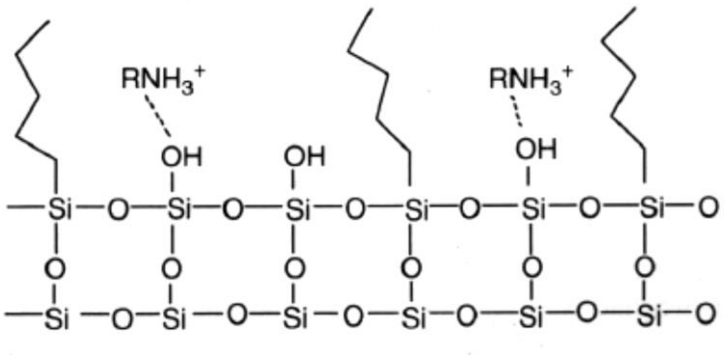
ՊՖԷ կիրառվող ադսորբենտների տեսակները

Լիպոֆիլ սիլիկագելեր

Նկարում պատկերված լիպոֆիլ սիլիկագելերը պահում են լիպոֆիլ նյութերը Վան դեր վաալսյան փոխազդեցությունների միջոցով, եթե նրանք ոչ-իոնիզացված վիճակում են, իսկ ամինների դեպքում բևեռային փոխազդեցության միջոցով: Այստեղ ազատ բևեռային սիլանոլային խմբերը մնում են մակերեսի վրա:



նկ. լիպոֆիլ սիլիկագելեր

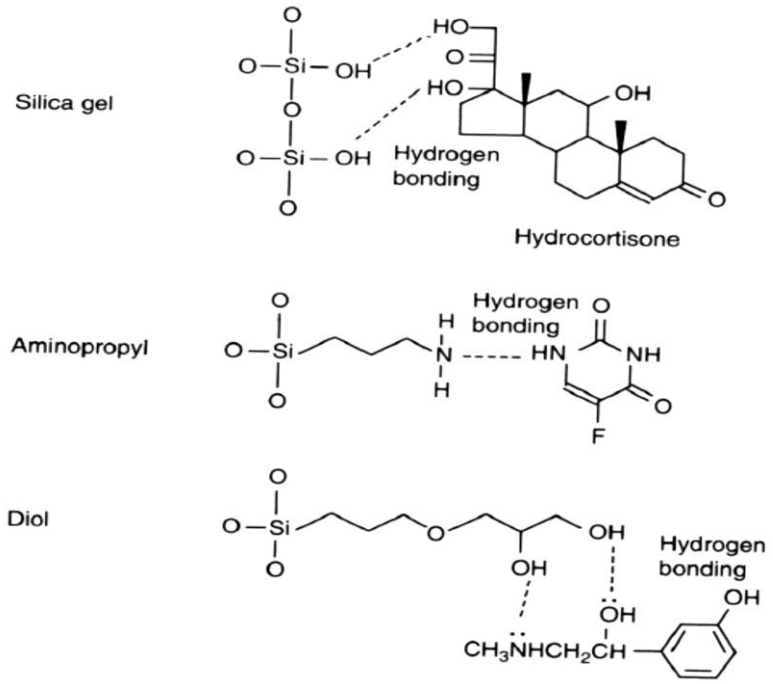


նկ. ամինների փոխազդեցությունը մնացորդային սիլանոլային խմբերի հետ լիպոֆիլ սիլիկագելերի մակերեսին

Վերջերս, բարձր-մաքրության ստիրեն դիվինիլբենզոլ պոլիմերային գելերը հնարավոր դարձան ՊՖԷ օգտագործման համար: Այս տիպի գելերը շատ ավելի լիպոֆիլ են, քան մակերես-ձևափոխված սիլիկագելերը և նաև ունեն նմուշի բեռնելու համար ավելի բարձր տարողություն:

Բևեռային մակերես-փոփոխված սիլիկագելեր

Այս սիլիկագելերը հետազոտվող նյութերը պահում են բևեռային խմբերի միջև առաջացող փոխազդեցության շնորհիվ: Կարող են օգտագործվել սիլիկագելը կամ մակերես-փոփոխված բևեռային սիլիկագելերը /ցույց են տրված նկարում/:

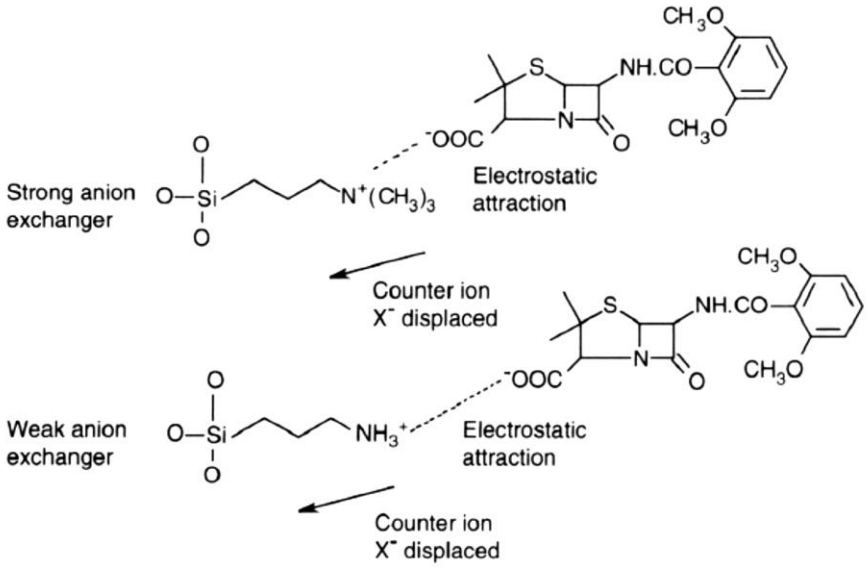


նկ. սիլիկագել և բևեռային մակերես-փոփոխված սիլիկագելեր

Դիոլային աշտարակներն օգտագործվում են դեղագործական կրեմներից բևեռային դեղերի էքստրակցիայի համար:

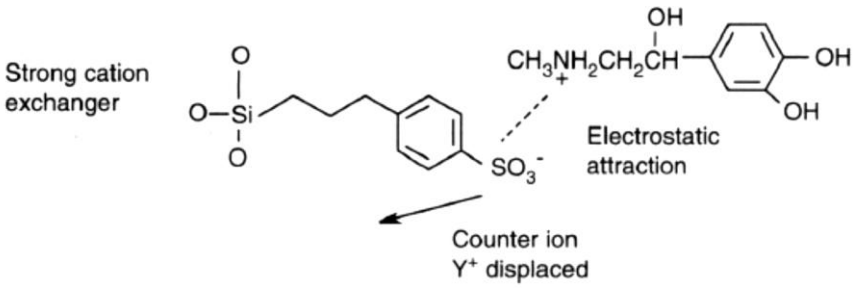
Մակերես-փոփոխված սիլիկագելերի վրա հիմնված անիոնափոխանակիչներ

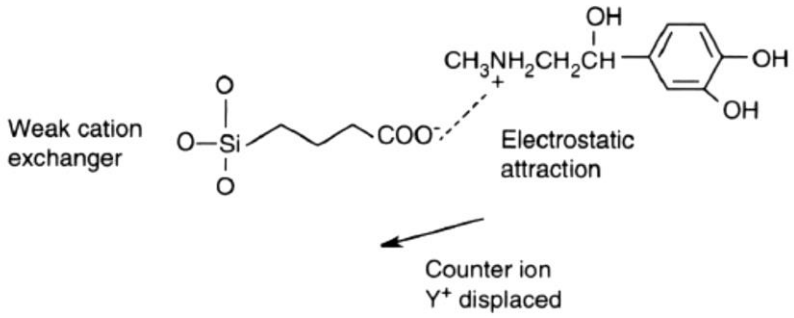
Շատ տարիներ օգտագործվում էին պոլիմերային խեժերի վրա հիմնված իոնային փոխանակիչները: Նորույթ են իոնափոխանակային խմբերով ծածկված սիլիկագելերը: Նրանք ունեն այն առավելությունը, որ ունեն քիչ օրգանոսորբտիվ հատկություններ, քան պոլիմերային խեժերը: Անիոնափոխանակիչը լվացվում է 0.01-0.1Մ բուֆերով նմուշի լուծույթի pH-ում: Բուֆերը պետք է պարունակի իոններ, որոնք հեշտությամբ տեղափոխվում են, ինչպիսին են OH^-, $C_2H_5COO^-$, CH_3COO^- կամ F^-: Cl^-,Br^-, NO_3^-, HSO_4^- իոնները կամ ցիտրատը արագ չեն տեղափոխվում: Օրինակ, մետիցիլինը կարող է էքստրակցվել կամ ուժեղ, կամ թույլ կատիոնափոխանակիչով, քանի որ այն հարաբերականորեն ուժեղ թթու է: Ադսորբենտը կարող է հետո լվացվել բուֆերի հետագա քանակներով, դեիոնացված ջրով կամ օրգանական լուծիչով: Նմուշը կարող է հետո էլուացվել բարձր կոնցենտրացիայով վերը նշված իոն պարունակող բուֆերով, օրինակ մետիցիլինի համար 1Մ նատրիումի քլորիդ կամ 1Մ նատրիումի ցիտրատ: Շատ օրգանական միացություններ բարձր խնամակցություն ունեն ՊՖԷ միջավայրի լիպոֆիլ մակերեսի հանդեպ և մեթանոլը կարող է ներառվել էլուացնող բուֆերի մեջ: Միացությունները կարող են նաև էլուացվել իոնիզացման ընկճմամբ: Այսպես մետիցիլինը կարող է հեռացվել ցածր pH-ում, օրինակ 1Մ քլորաջրածնական թթու/ մեթանոլով, բայց սա խորհուրդ չի տրվում այս օրինակում, ցածր pHում պենիցիլինի անկայունության պատճառով:



Մակերես-փոփոխված սիլիկագելերի վրա հիմնված կատիոնափոխանակիչներ

Կատիոնափոխանակիչ աշտարակը լվացում է 0.01-0.1Մ բուֆերով նմուշի լուծույթի pH-ում: Բուֆերը պետք է պարունակի Na^+, K^+ կամ NH_4^+ իոններ, որոնք արագ փոխանակվում են գելի օրգանական կատիոններով: Դիվալենտ իոնները, ինչպիսիք են Ca^{2+}, Mg^{2+} դժվար են տեղափոխվում գելից: Օրինակ, ադրենալինի էքստրակցիայի համար կարելի է օգտագործել ամոնիումի քլորիդի բուֆեր /pH=8.3/: Ադսորբենտը կարող է հետո լվացվել բուֆերի հետագա քանակությամբ, դեիոնիզացված ջրով կամ օրգանական լուծիչով, ինչպիսին է մեթանոլը: Էլուացումն այնուհետև իրականացվում է բուֆերով, որը պարունակում է նշված իոնը բարձր կոնցենտրացիայով, օրինակ 1Մ ամոնիումի քլորիդի բուֆեր: Եթե նմուշն ունի ջրում սահմանափակ լուծելիություն, էթանոլը կամ մեթանոլը կարող են ընդգրկվել բուֆերում:

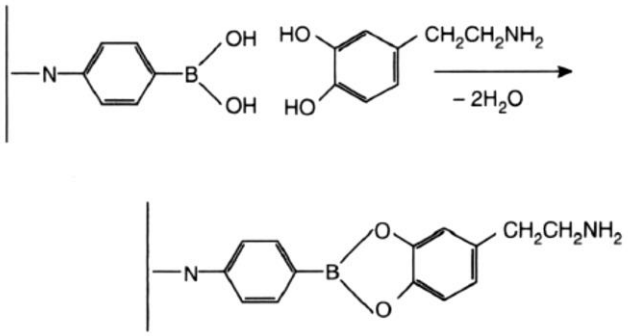




Բորատային գելեր

Այս գելերը հիմնված են ֆիկսված ալկիլ բորաթթուների վրա: Նրանք ունեն ընտրողական խնամակցություն 1,2 կամ 1,3-դիոլային խմբերի հանդեպ, որոնք առկա են կատեխոլ պարունակող մոլեկուլներում, ինչպիսին է դոպամինը և շաքարներում կամ գլիկոզիդներում:

Հետազոտվող նյութը բեռնվում է գելի վրա և առաջացած կոմպլեքսը կարող է այնուհետև քանդվել, օգտագործելով թույլ թթվային էլուենտ, օրինակ 0.1Մ քացախաթթու: Էքստրակցիայի այս ձևը կիրառվում է դոպամինի, ադրենալինի և նորադրենալինի հայտնաբերման համար պլազմայում և պլազմայի ալբումինի հետ գլյուկոզայի ռեակցիայի հայտմաբերման համար, որոշելու գլյուկոզայի շեղումները դիաբետիկների մոտ:

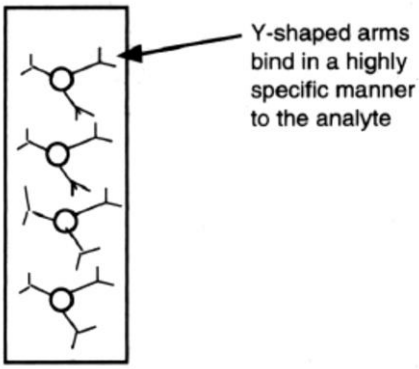


Նկ. կոմպլեքսագոյացում բորատային գելերի հետ

Իմունոսելեկտիվ գելեր

Այս ադսորբենտները հիմնված են ֆիկսված լիգանդների վրա, որոնք մեծ խնամակցություն ունեն մասնավոր հետազոտվող նյութի նկատմամբ: Կենսատեխնոլոգիական պրոդուկտների /ինչպիսիք են թերապևտիկ պեպտիդները/ աճի հետ մեկտեղ, էքստրակցիայում այս տիպի աշտարակների օգտագործումը կարող է աճել, քանի որ նրանք օժտված են բարձր ընտրողականությամբ այսպիսի միացությունների համար:

Բարձր ընտրողականությամբ այս տիպի ադսորբենտի օրինակ կարող է լինել, երբ մոնոկլոնալ հակամարմինը ֆիկսված է մասնավոր միացության հետ ինչպես ցույց է տրված նկարում:



Օրինակ, մոնոկլոնալ հակամարմնով գելը, կապված β-ինտերֆերոնի հետ, արդյունաբերական մասշտաբներով օգտագործվում է ֆերմենտային խառնուրդներից միացության էքստրակցիայի համար: Այս յուրահատկությունը արժևորվում է պեպտիդային դեղերի անալիզից առաջ կենսաբանական մատրիցաներից ընտրողաբար էքստրակցիայի ժամանակ: