

Колонска хроматографија

ТЕЧНА КОЛОНСКА ХРОМАТОГРАФИЈА

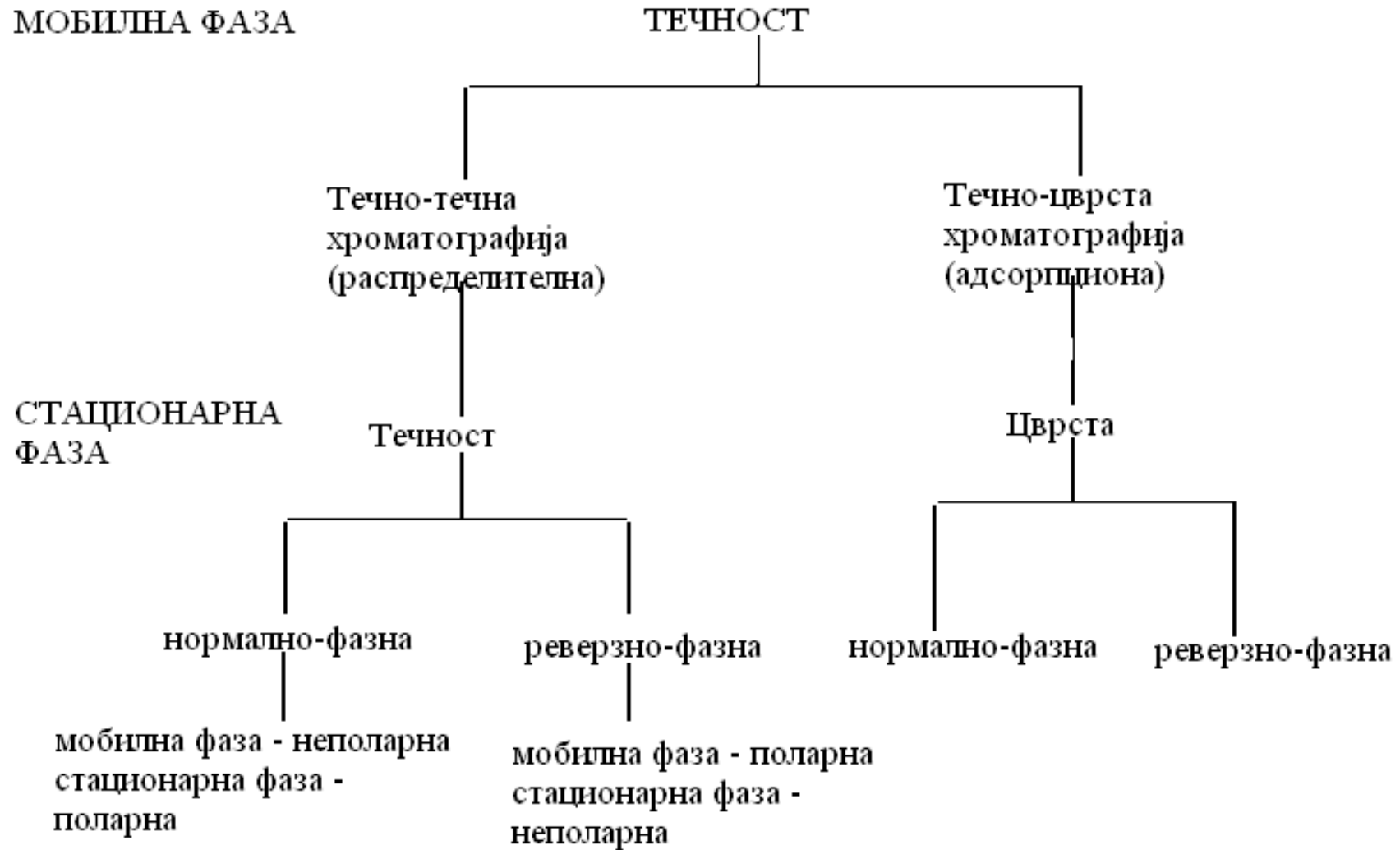
Пробата за анализа се пропушта низ **колона спакувана со цврсти честички** кои *може, а не мора* да бидат опкружени со друга течност.

При оптимизирани експериментални услови:

- избор на соодветни растворувачи,
- колона и
- проток,

некои компоненти од пробата ќе патуваат поспоро од другите низ колоната (се добива посакуваното разделување).

Видови на течна хроматографија

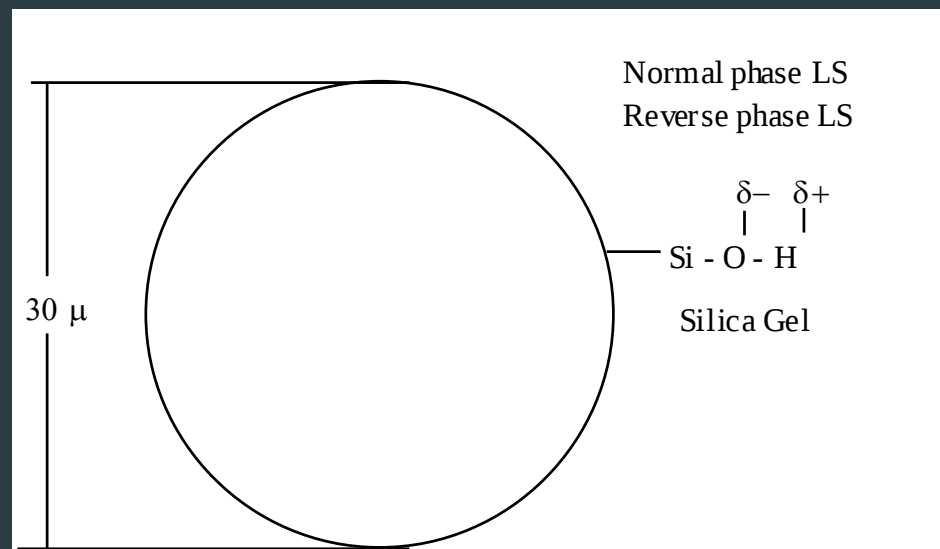


Видови на течна хроматографија

Постојат четири основни видови на течна хроматографија именувани според механизмот на кој се одвива разделувањето на компонентите:

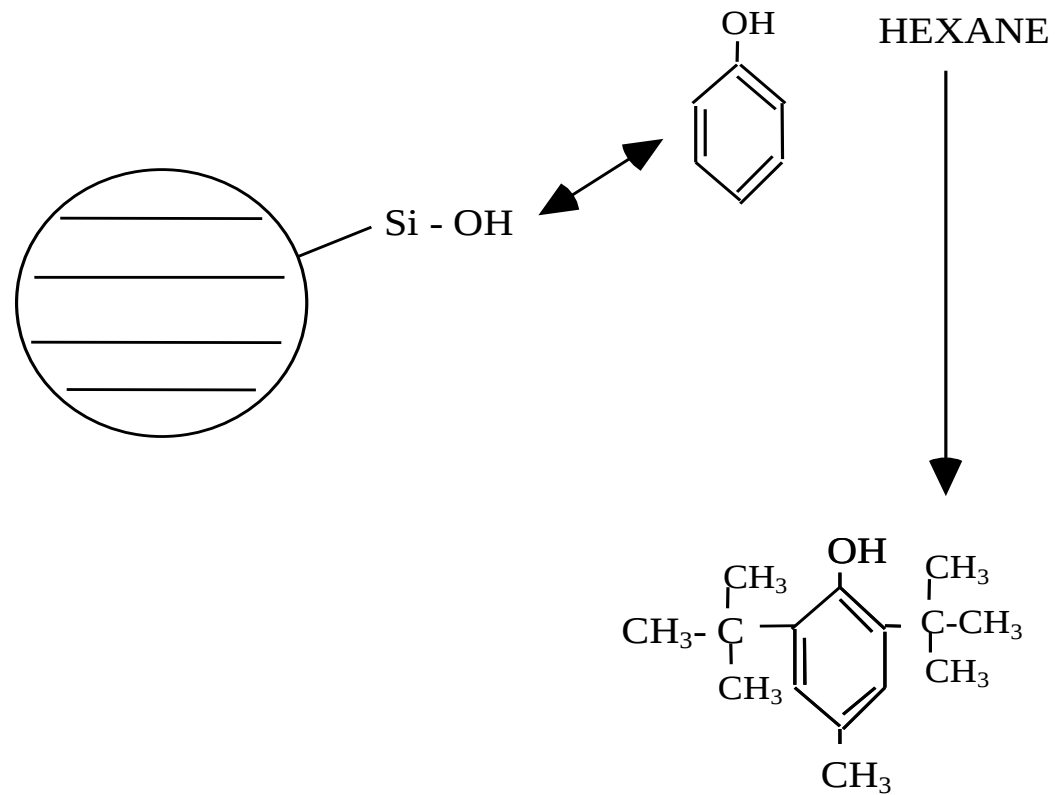
1. **Распределителна хроматографија** (Течно/течна хроматографија)
 - A. Нормално фазна LLC (Liquid/Liquid Chromatography)
 - B. Реверзно фазна LLC
2. **Атсорпциона хроматографија** (Течно/цврста хроматографија)
 - A. Нормално фазна LSC (Liquid/Solid Chromatography)
 - B. Реверзно фазна LSC
3. **Јонско-изменувачка хроматографија**
4. **Гел пермеабилна хроматографија** (екслузивна гел хроматографија)

ТЕЧНО ЦВРСТА (АДСОРПЦИОНА) ХРОМАТОГРАФИЈА

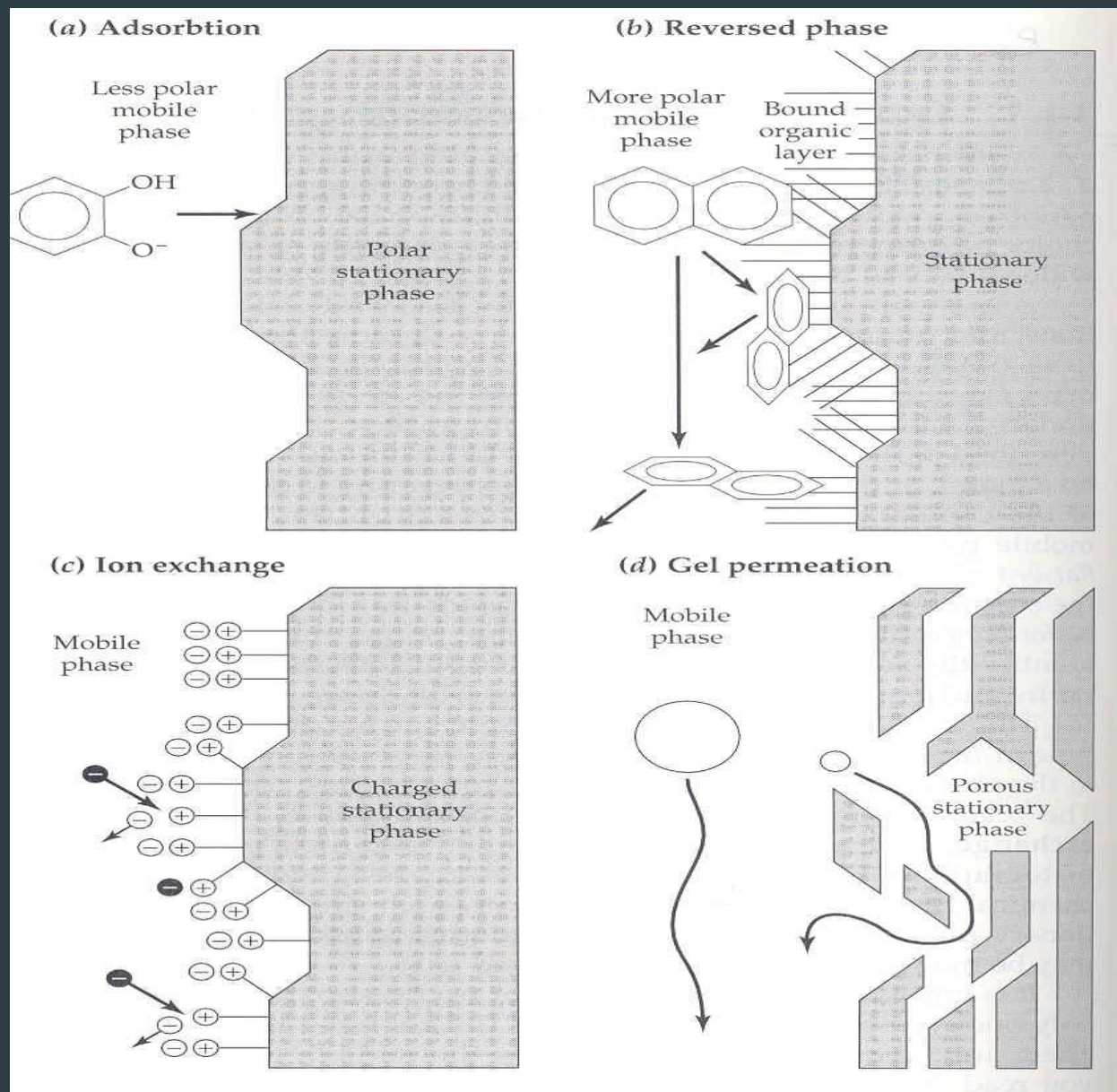


Механизмот на разделување во течно цврстата хроматографија се заснова на различните реверзибилни интеракции на компонентите од смесата со активните центри на адсорбентот, (поларните групи на силика гел, јонските групи од смолите....)

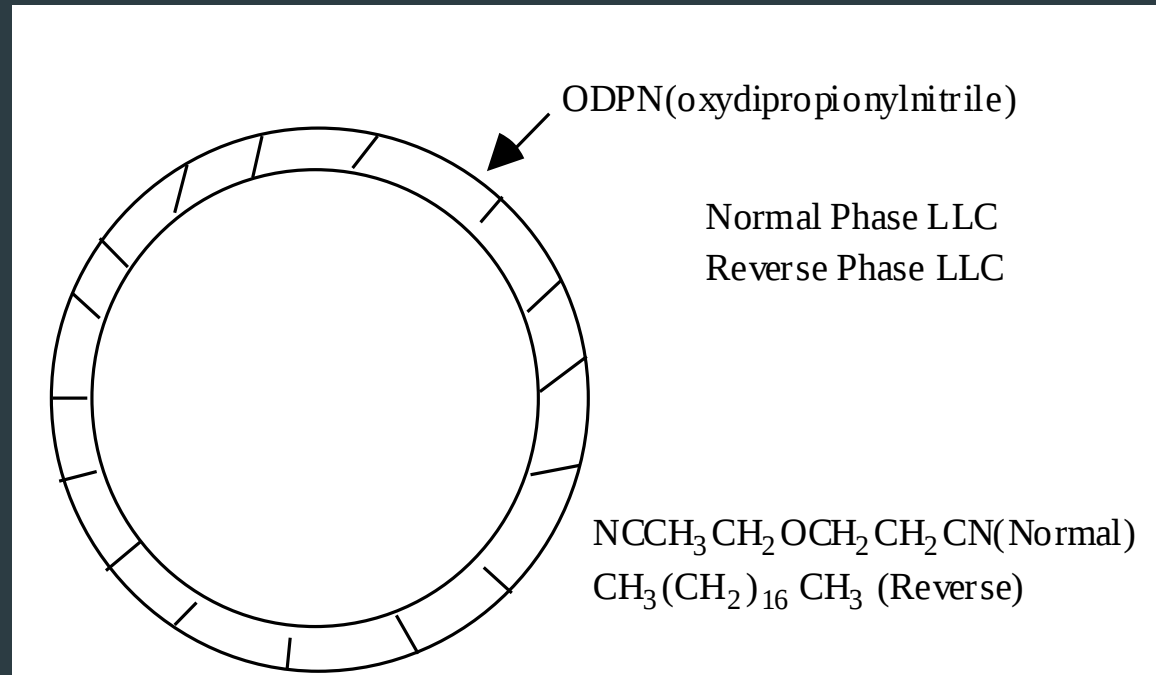
ТЕЧНО ЦВРСТА ХРОМАТОГРАФИЈА



Механизми на хроматографско разделување



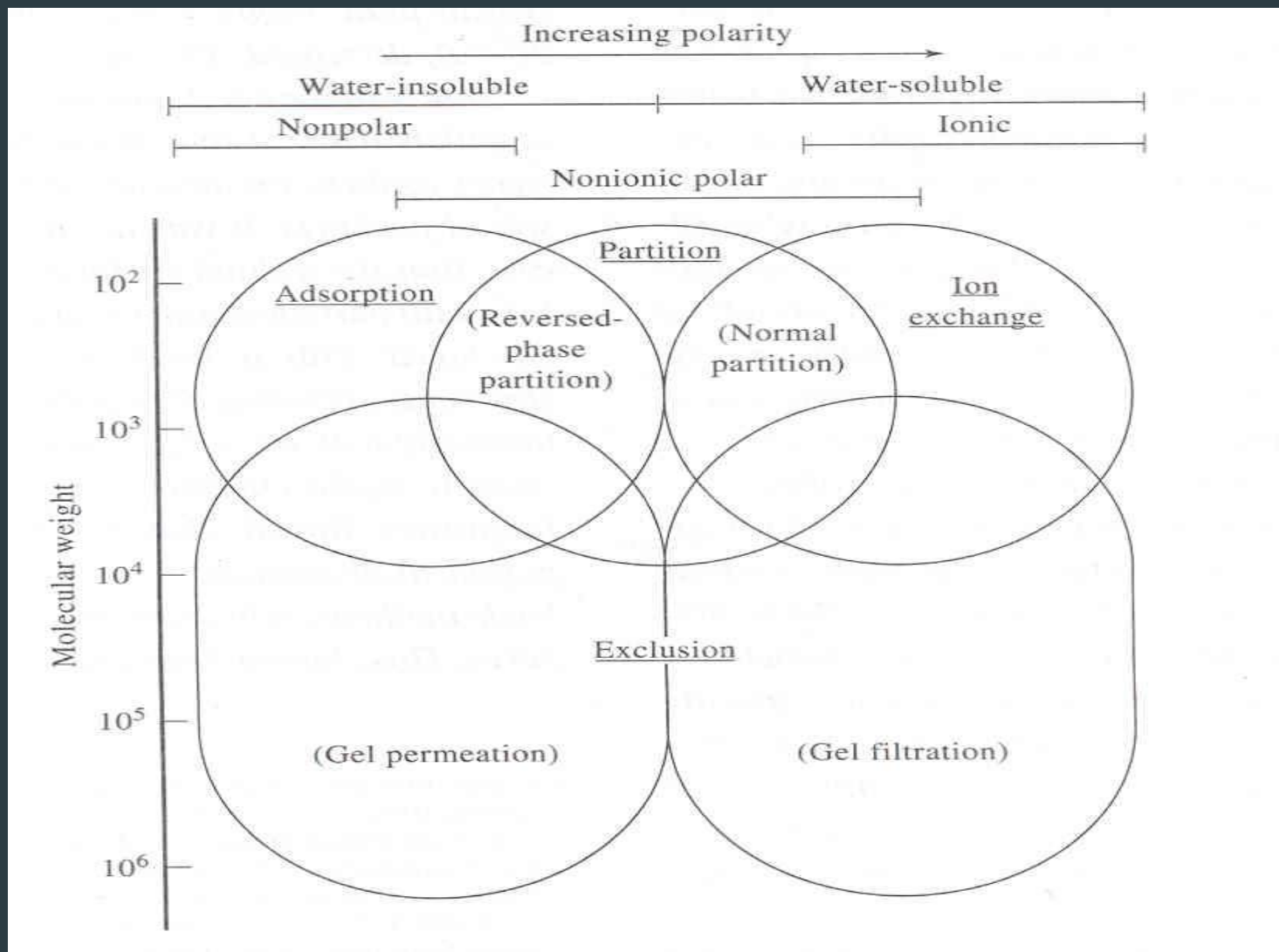
ТЕЧНО-ТЕЧНА (РАСПРЕДЕЛИТЕЛНА) ХРОМАТОГРАФИЈА



Површината на цврстата честичка е обложена со друга течност (стационарна фаза) која не се меша со растворувачот, односно мобилната фаза.

При распределувањето на примерокот меѓу двете фази, некои од компонентите повеќе се задржуваат на стационарната фаза од останатите, што резултира со разделување на истите.

Избор на хроматографска техника



Терминологија во колонска хроматографија

- ▶ Пакување на колона: внесување на адсорбент
- ▶ Полнење на колона: нанесување на растворениот аналит
- ▶ Елуирање: развивање на колоната со движење на мобилната фаза
- ▶ Собирање на елуат: дискретни фракции
- ▶ Детектирање на елуирани супстанции

Стационарна фаза

- ▶ Спакувана во стаклена или пластична цевка

Атсорбент	Примена
Алумина (алуминиум оксид)	Липиди, мали неутрални органски молекули
Силика гел	Амино киселини, липиди, јаглехидрати
Флуорисил (магнезиум силикат)	Неутрални липиди
Калциум фосфат (хидроксиапатит)	Протеини, полинуклеотиди, нуклеински киселини

Мрежна големина на атсорбентот

- Различна форма и големина (мрежна големина mesh)
- Сито со мрежна големина 100 има 100 отвори на квадратен инч.

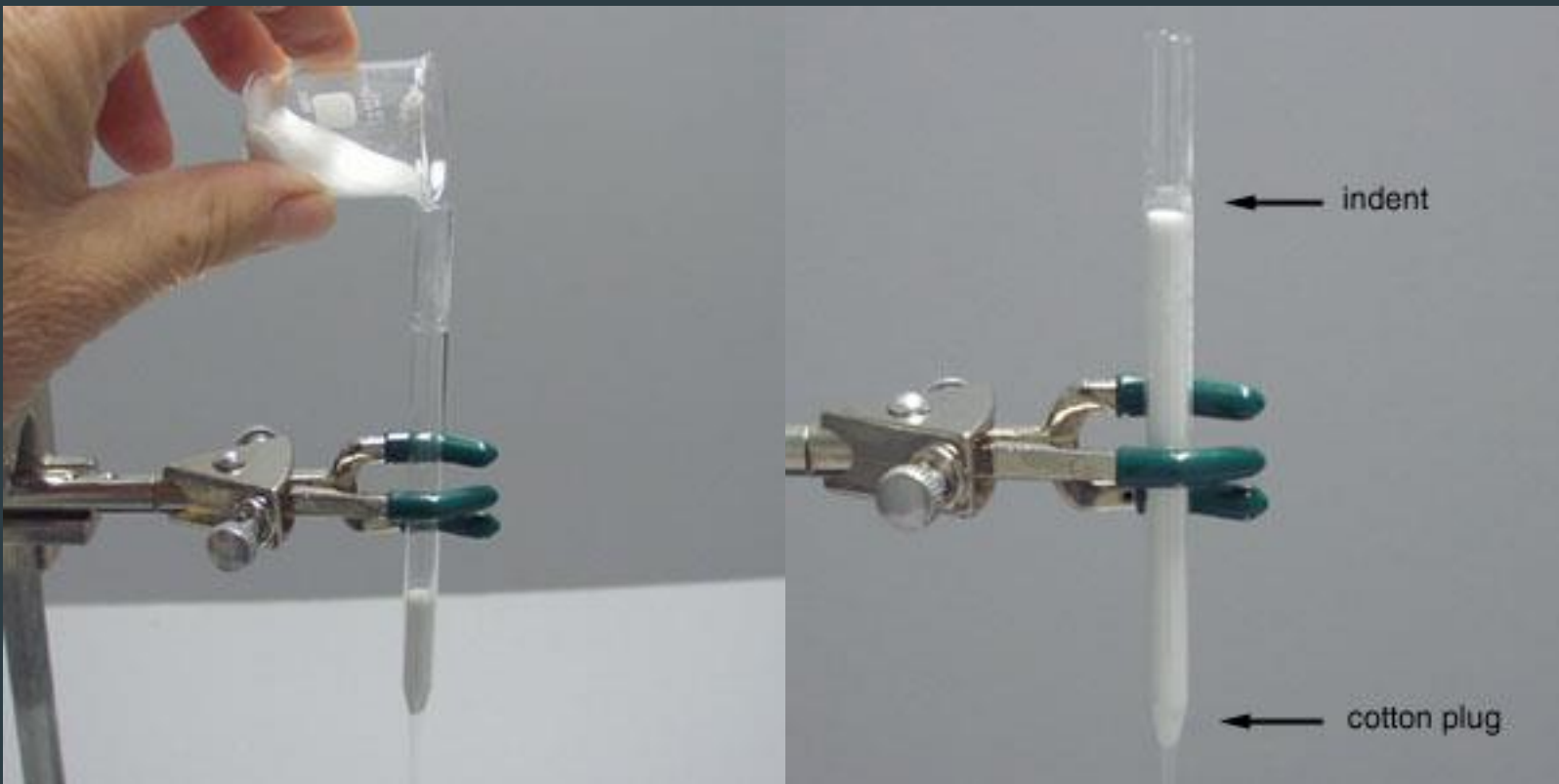
Мрежна големина (mesh)	Примена
20-50	Препаративна примена (многу висок проток)
50-100	Препаративна примена (висок проток)
100-200	Аналитичко разделување (среден проток)
200-400	Аналитичко разделување со висока резолуција (низок проток)

Избор на растворувачи за течна хроматографија

- Висок степен на чистота (LC grade)
- Разумна цена на чинење (едноставно отстранување)
- Ниска вискозност
- Слаба реактивност
- Немешлив со стационарната фаза
- Безбеден – ограничена запалливост и токсичност
- Температура на вриење за 20-50 °C над температурата на колоната
- Компатибилен со детекторот

Елуирање на колона

- ▶ Константен проток на растворувач
- ▶ Континуирано елуирање: еден вид растворувач или пуфер
- ▶ Скалесто елуирање: еден растворувач, па друг (зголемување на поларност или јонска сила)
- ▶ Градиентно елуирање: постепена промена на волуменскиот однос на два различни растворувачи кои се мешаат.



Пакување на колона



Полнење на колона



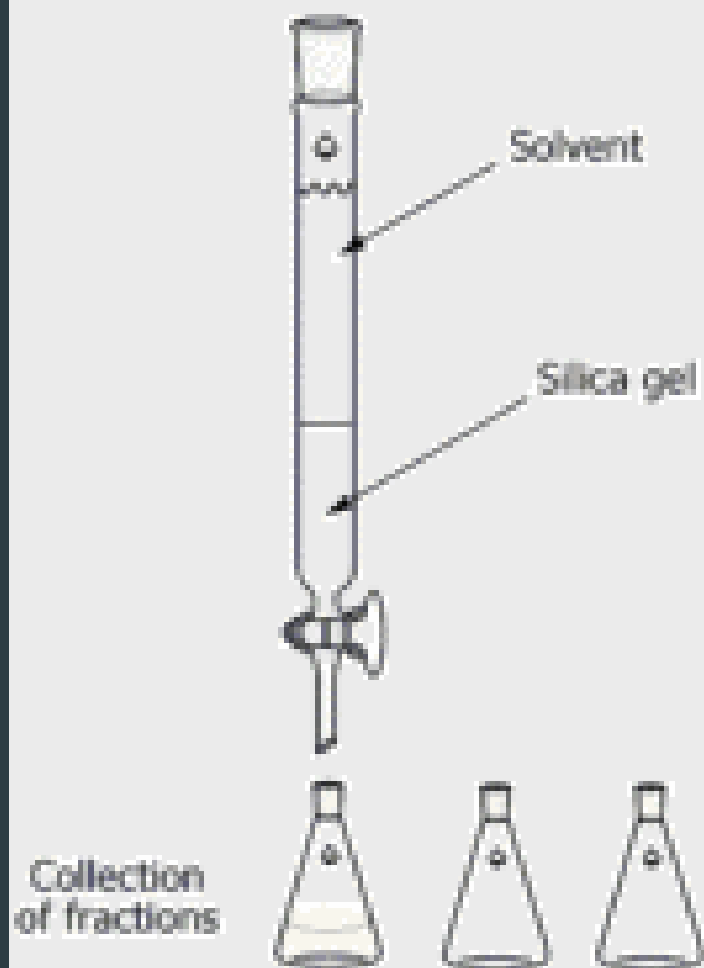
Елуирање на колоне



Собирање на елуати



Standard column chromatography



Flash column chromatography

