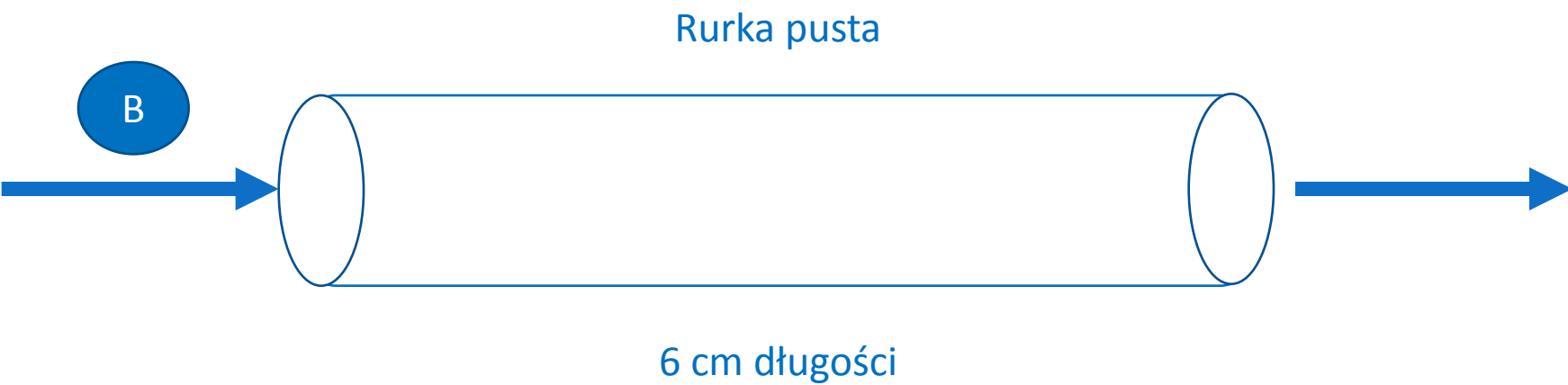


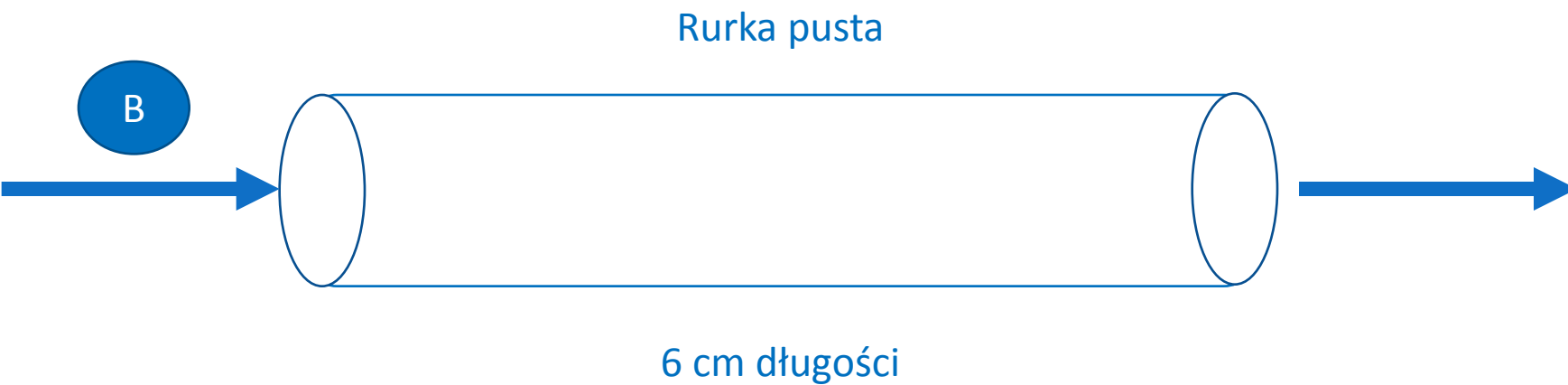
Wstęp do chromatografii

- Jako technika analityczna stosowana w laboratorium służby zdrowia, ochronie środowiska, rolnictwa, geologii.
- Jako technika do oczyszczania mieszanin poreakcyjnych
- Do planowania optymalnej struktury cząsteczkowej leków i innych substancji biologicznie czynnych.
- Wykorzystuje się ją w przemyśle chemicznym, farmaceutycznym, kosmetycznym, spożywczym.

Metody analizy	Wykrywalność w litrze wody			
	mg	ng	pg	fg
Spektrofotometria	~0.1	~0.2	~0.3	~0.4
Fluorymetria	~0.2	~0.4	~0.6	~0.8
Wysokosprawna chromatografia cienkowarstwowa	~0.4	~0.8	~1.2	~1.6
Wysokosprawna chromatografia cieczowa	~0.6	~1.2	~1.8	~2.4
Chromatografia gazowa	~0.8	~1.6	~2.4	~3.2
Woltamperometria inwersyjna	~1.2	~2.4	~3.6	~4.8
Radioimmunologia	~1.6	~3.2	~4.8	~6.4
Spektrometria mas	~2.4	~4.8	~7.2	~9.6
Laserowa spektroskopia fluorescencyjna	~3.2	~6.4	~9.6	~12.8

Chromatografia jest fizykochemiczną metodą rozdzielania składników jednorodnych mieszanin w wyniku ich różnego podziału między fazę ruchomą i nieruchomą układu chromatograficznego.



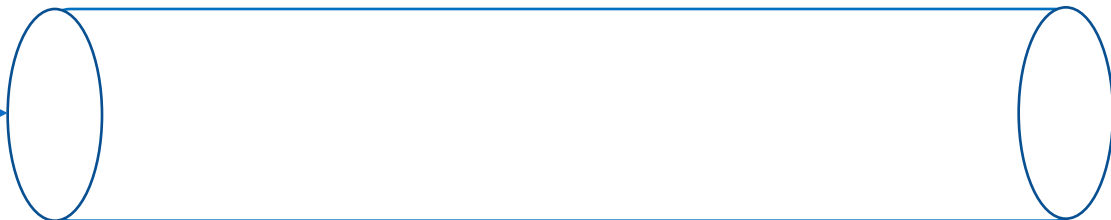


$$v = 3 \frac{\text{cm}}{\text{min}}$$

$$t = \frac{6\text{cm}}{3 \frac{\text{cm}}{\text{min}}} = 2 \text{ min}$$

Rurka pusta

B



6 cm długości

$$v = 3 \frac{\text{cm}}{\text{min}}$$

$$t = \frac{6\text{cm}}{3 \frac{\text{cm}}{\text{min}}} = 2 \text{ min}$$

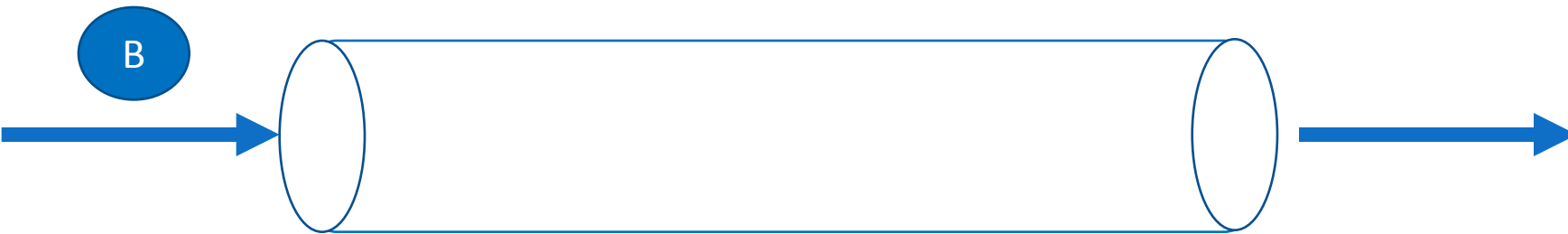
Rurka wypełniona piaskiem

B



6 cm długości

Rurka pusta



6 cm długości

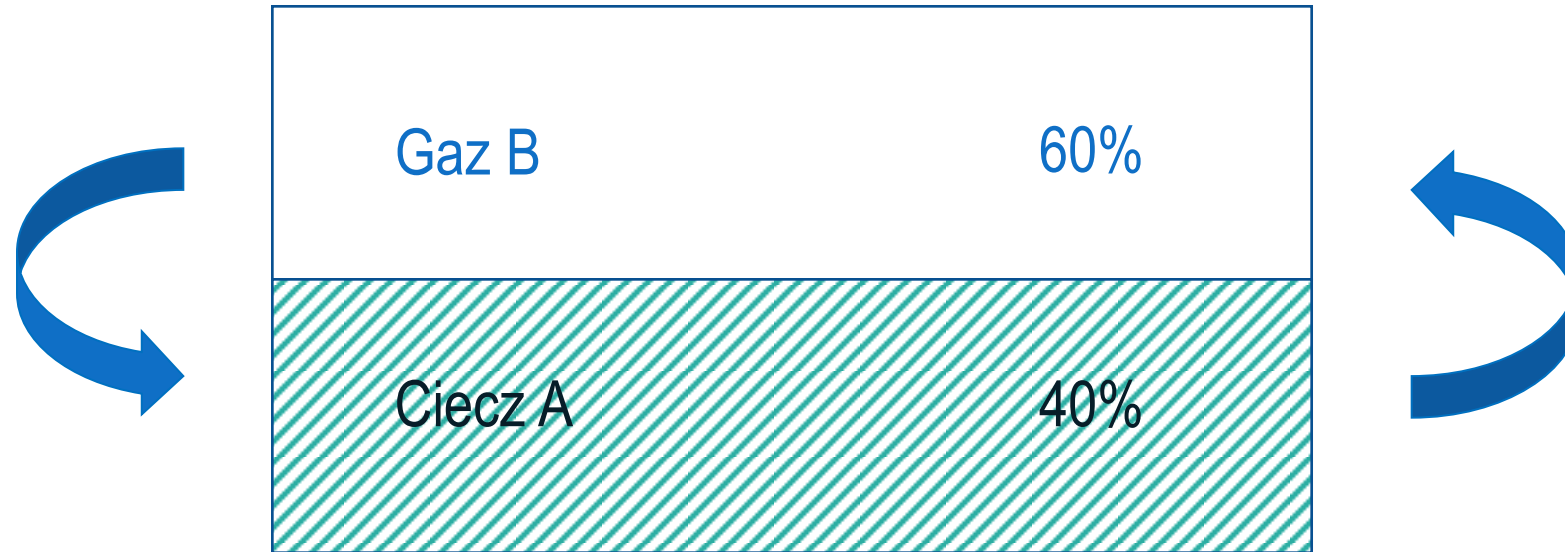
$$v = 3 \frac{\text{cm}}{\text{min}}$$
$$t = \frac{6\text{cm}}{3 \frac{\text{cm}}{\text{min}}} = 2 \text{ min}$$

Rurka wypełniona piaskiem

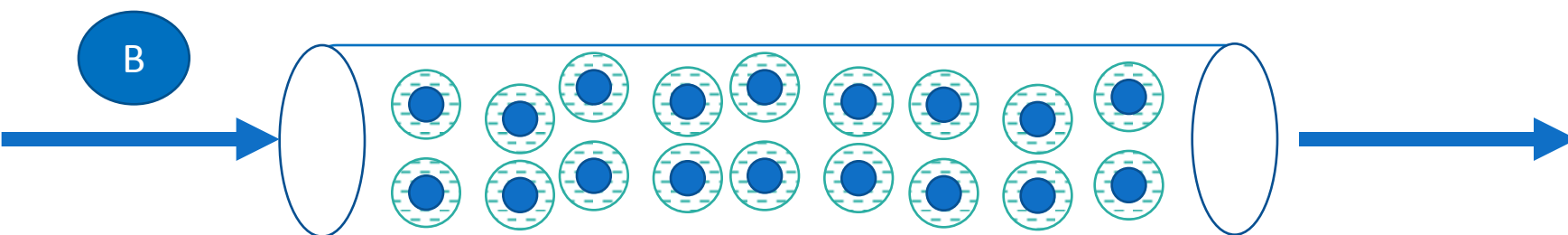


6 cm długości

$$v = 2 \frac{\text{cm}}{\text{min}}$$
$$t = \frac{6\text{cm}}{2 \frac{\text{cm}}{\text{min}}} = 3 \text{ min}$$



Rurka wypełniona piaskiem otoczonym cieczą A



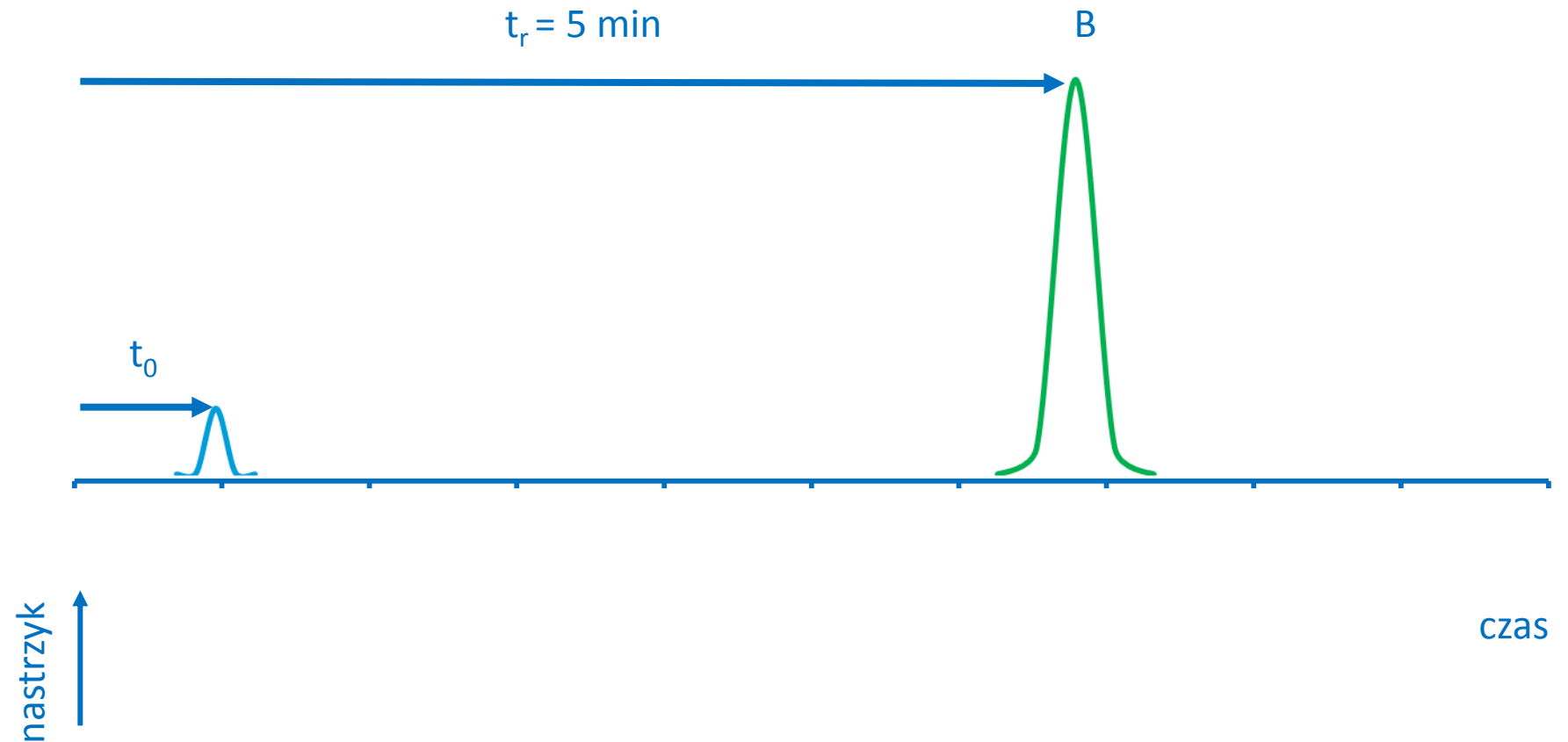
6 cm długości

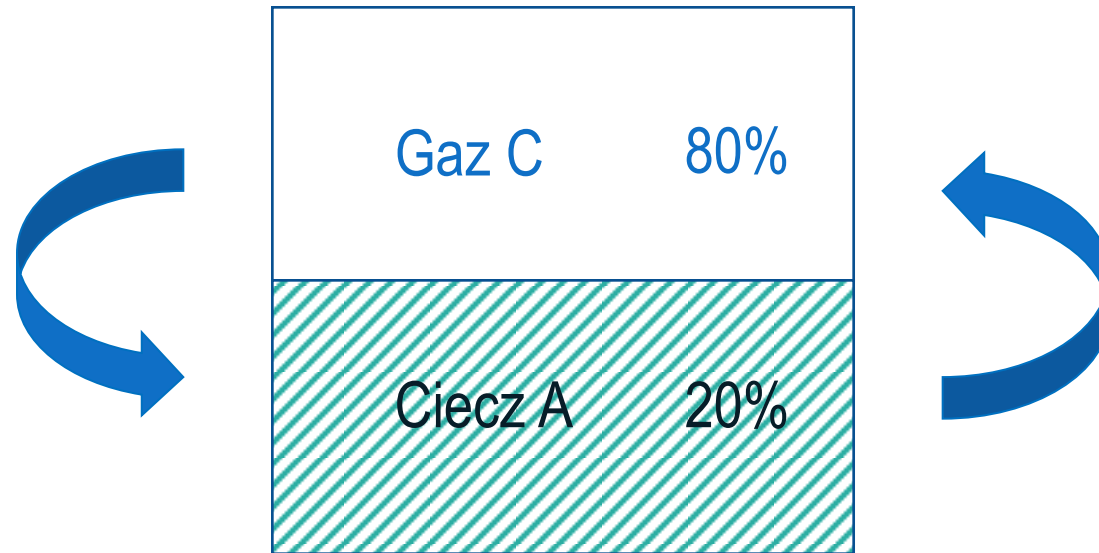
$$v = 2 \frac{\text{cm}}{\text{min}}$$

$$v = \frac{60}{100} \cdot 2 \frac{\text{cm}}{\text{min}} = 1.2 \frac{\text{cm}}{\text{min}}$$
$$t = \frac{6 \text{cm}}{1.2 \frac{\text{cm}}{\text{min}}} = 5 \text{min}$$

$$K = \frac{\text{stężenie substancji B w cieczy A}}{\text{stężenie substancji B w fazie gazowej}} = \frac{40}{60}$$

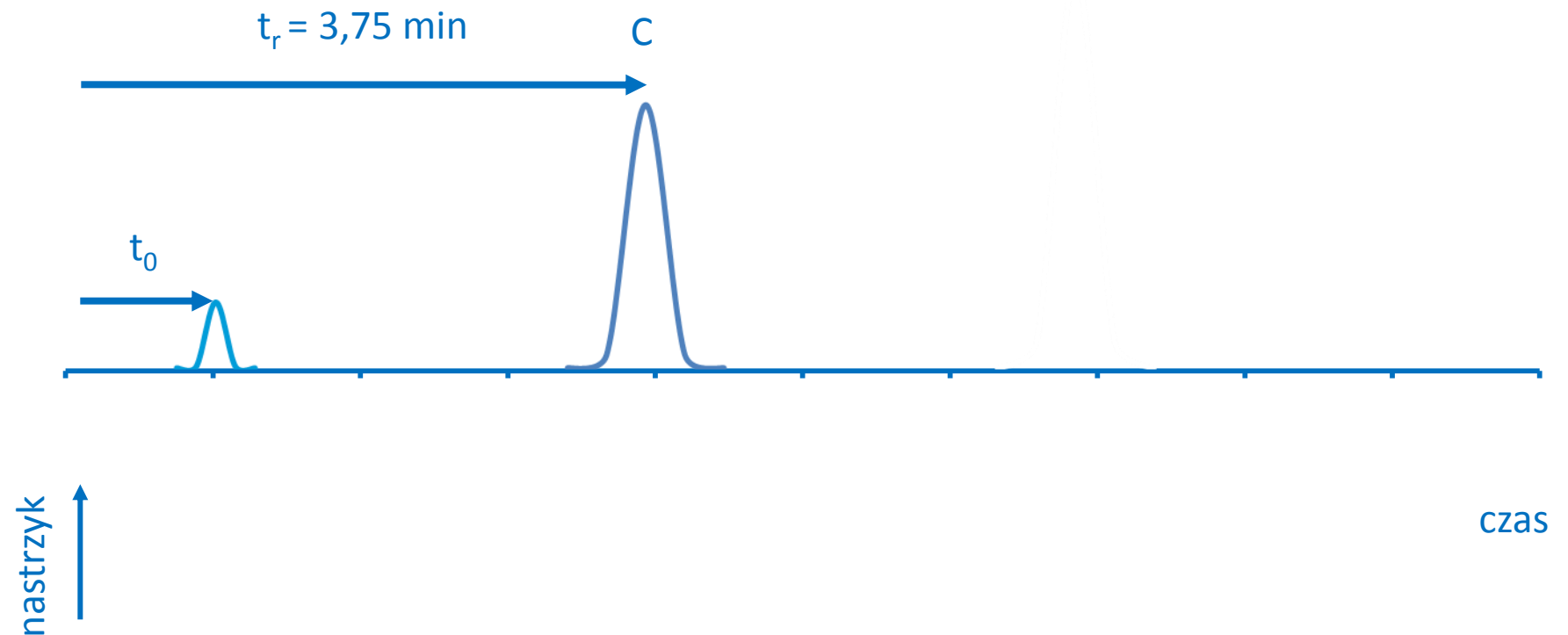
t_0 to czas przejścia substancji, która nie jest zatrzymywana przez ciecz A





$$K = \frac{20}{80}$$
$$v = \frac{80}{100} \cdot 2 \text{ cm/min} = 1.6 \text{ cm/min}$$
$$t = \frac{6 \text{ cm}}{1.6 \text{ cm/min}} = 3.75 \text{ min}$$

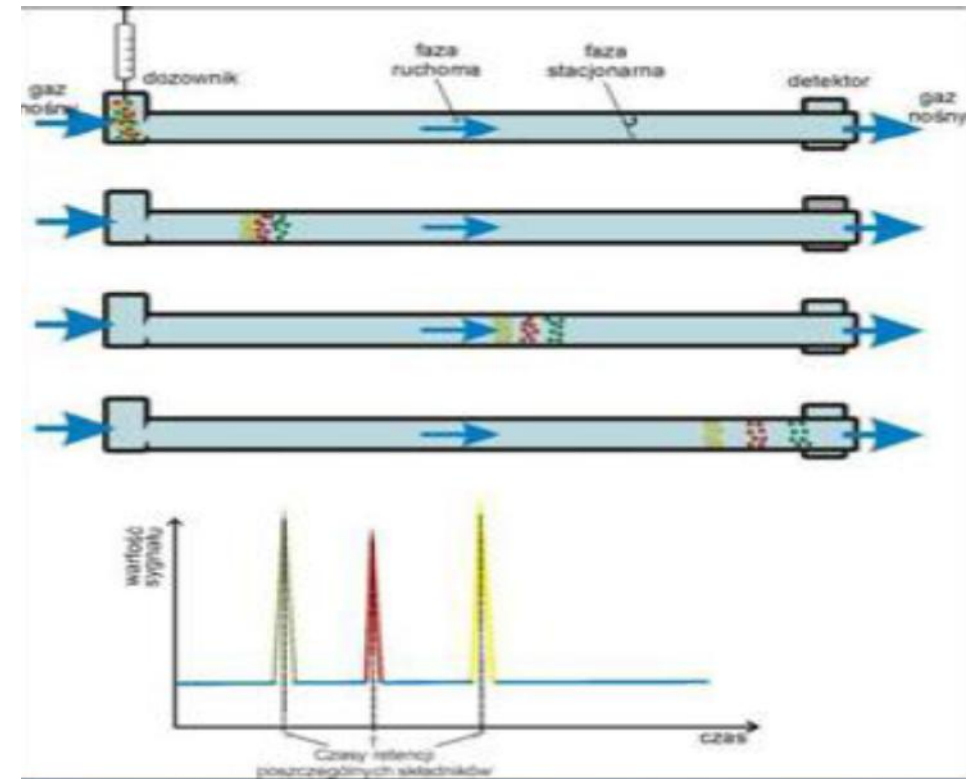
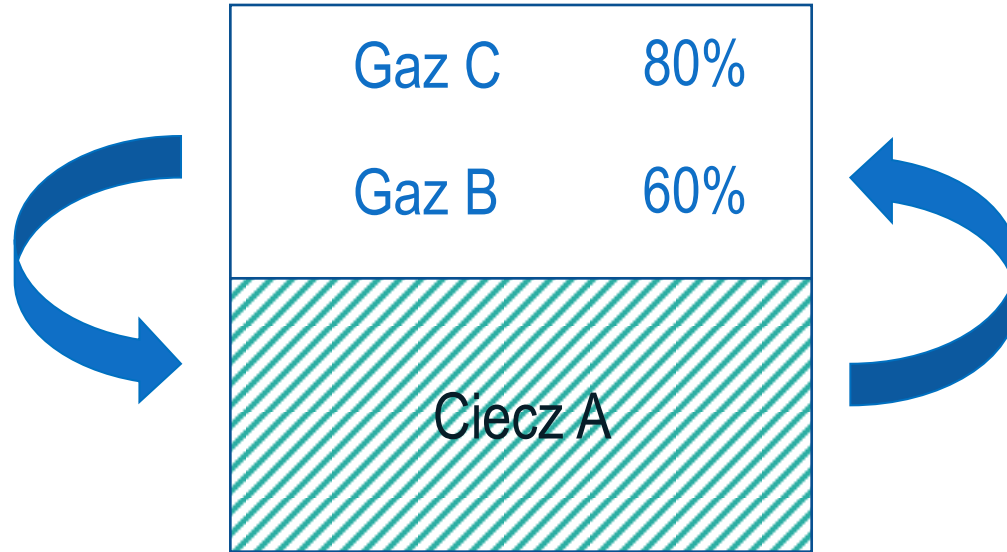
t_0 to czas przejścia substancji, która nie jest zatrzymywana przez ciecz A



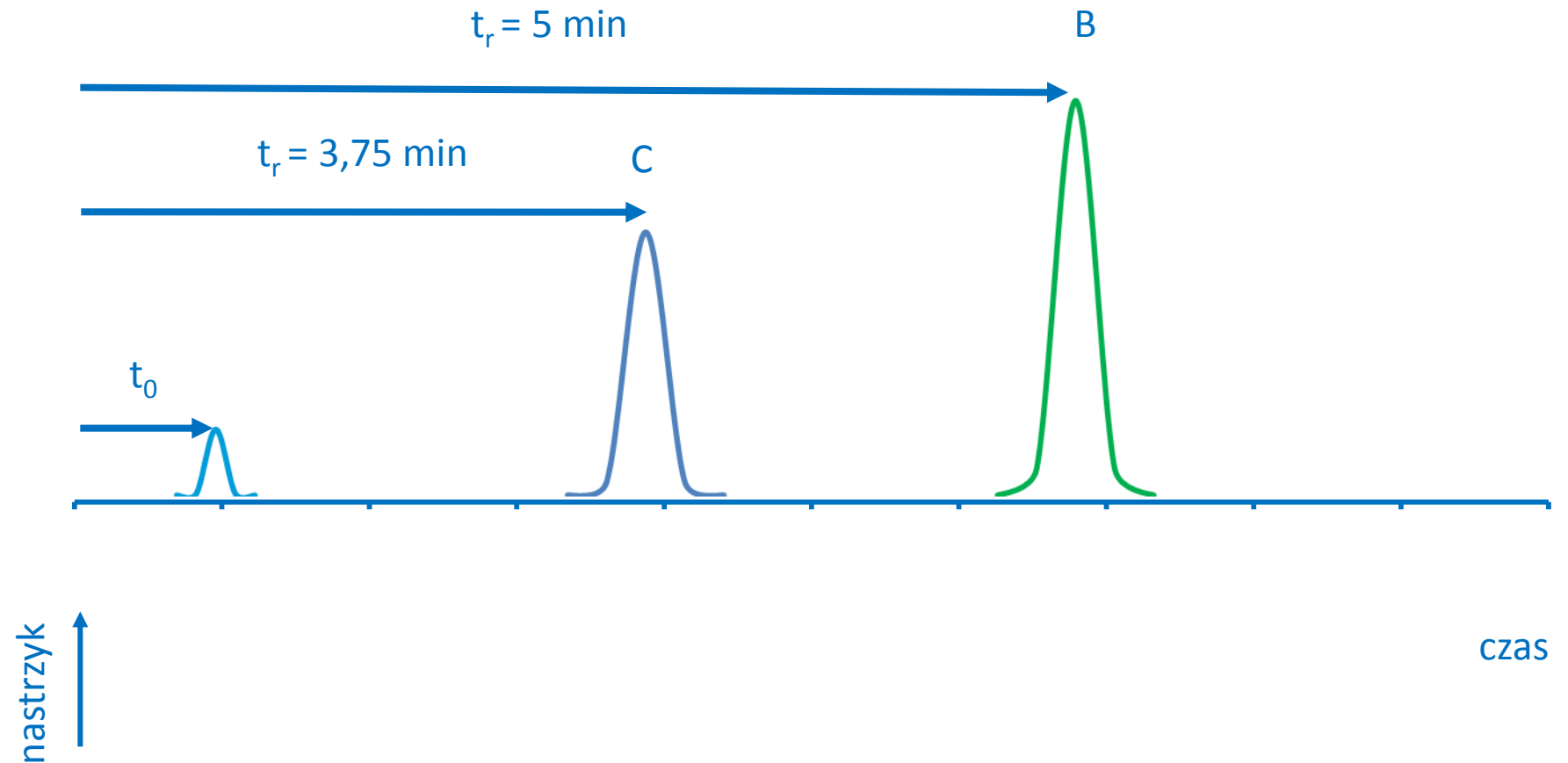
Istota separacji chromatograficznej

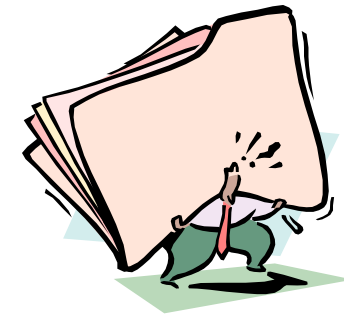
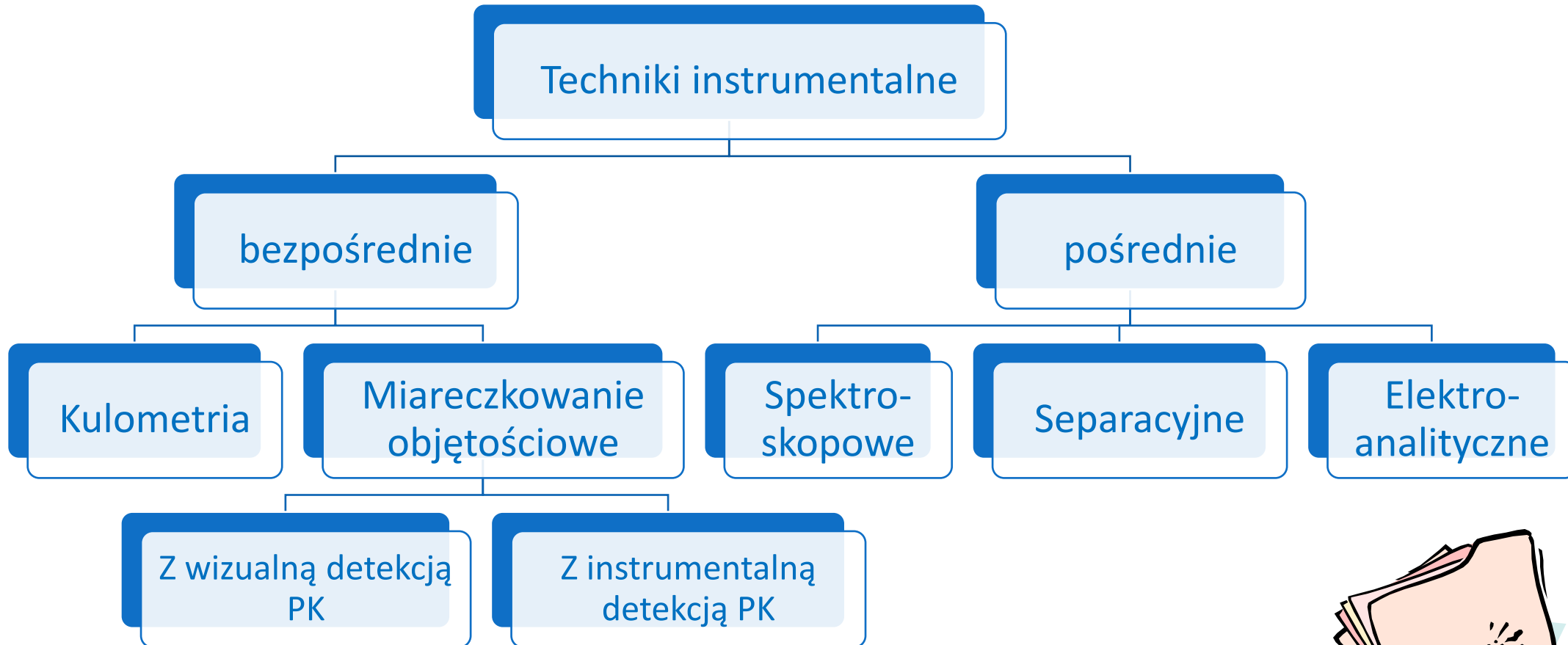
$$K_C = \frac{20}{80}$$

$$K_B = \frac{40}{60}$$

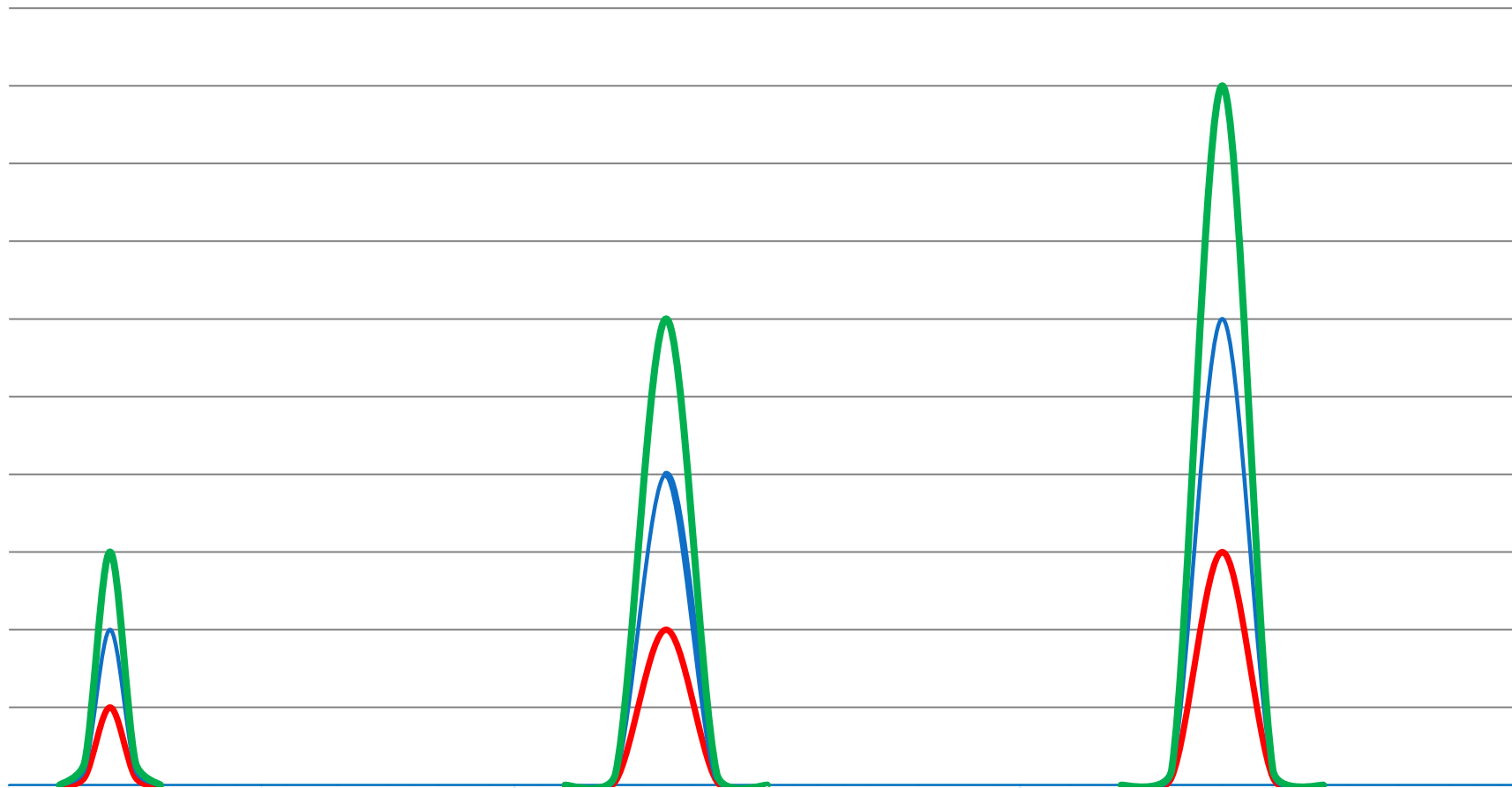


t_0 to czas przejścia substancji, która nie jest zatrzymywana przez ciecz A

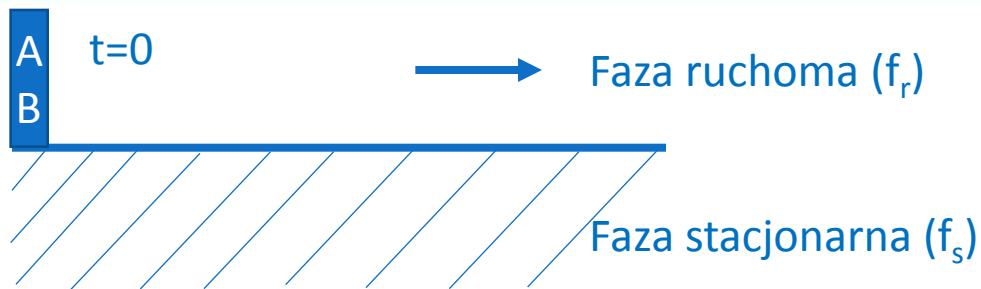




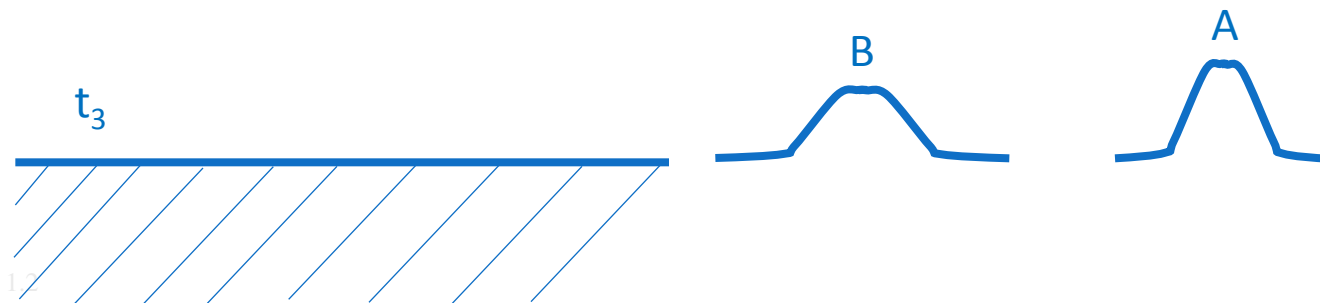
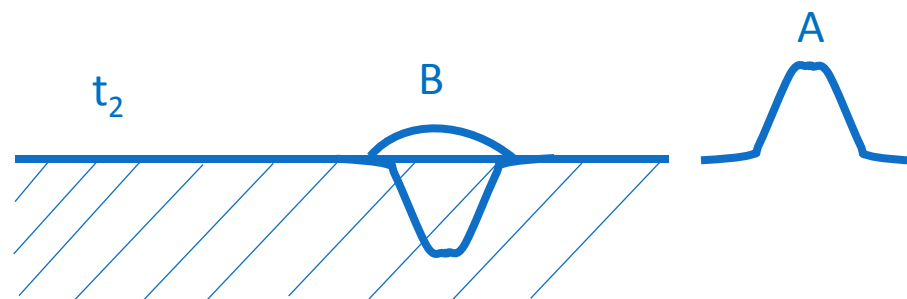
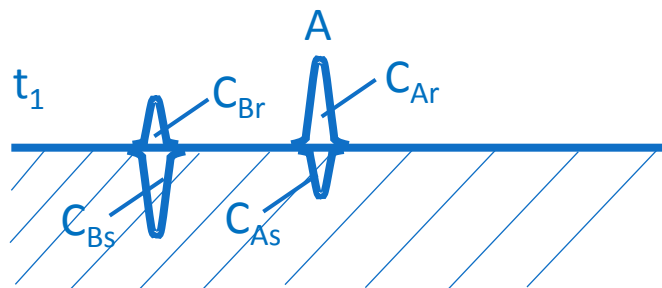
— 1 mg/ml — 2 mg/ml — 3 mg/ml



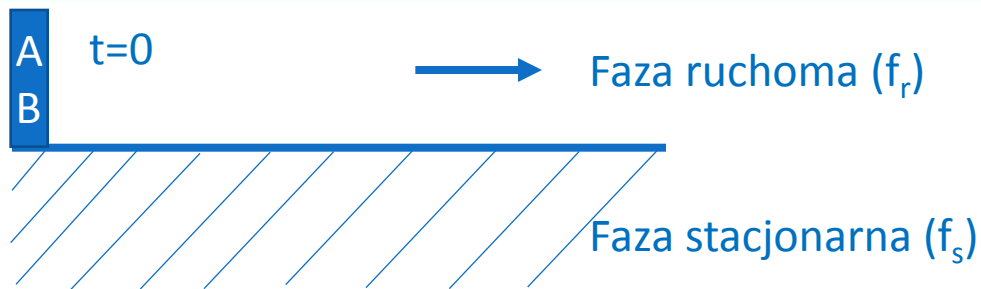
Idea procesu chromatografii izokratycznej



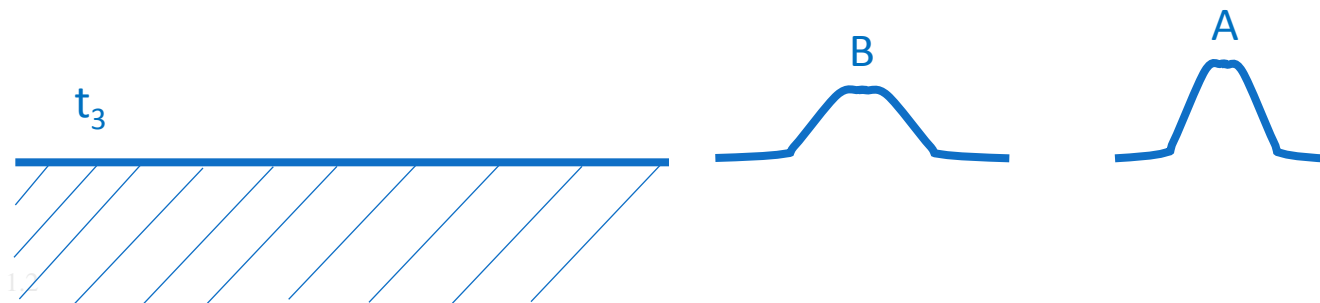
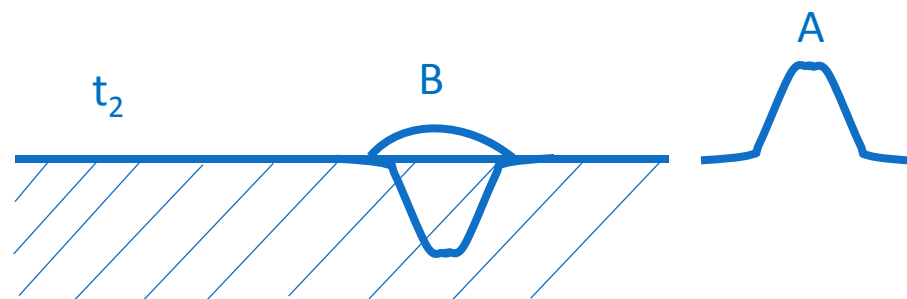
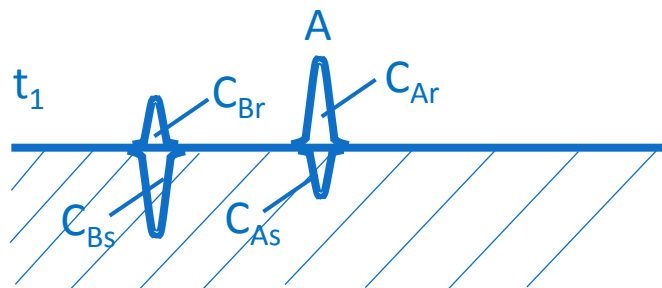
Ustala się równowaga dynamiczna z wielokrotnym przechodzeniem tych cząsteczek z jednej fazy do drugiej.



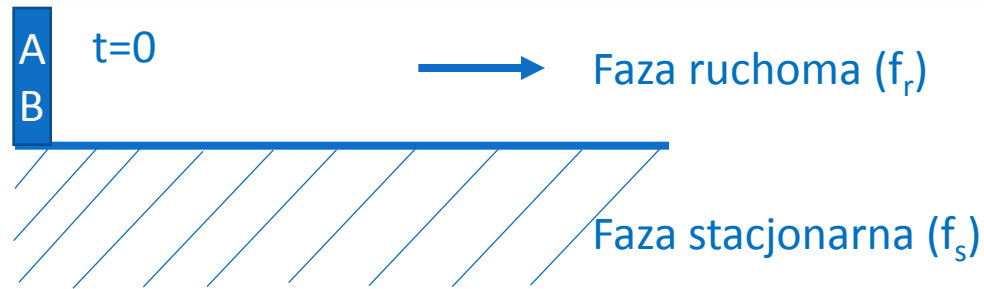
Idea procesu chromatografii izokratycznej



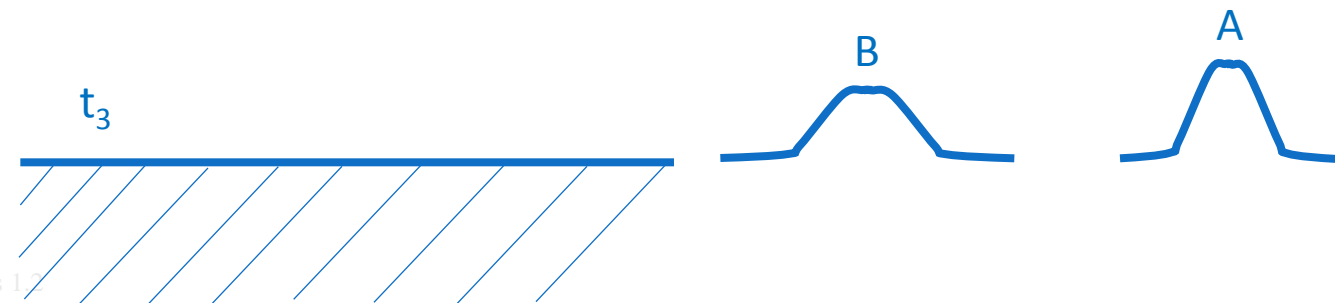
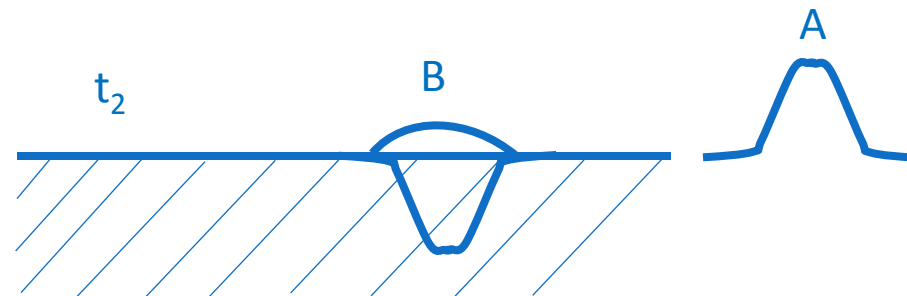
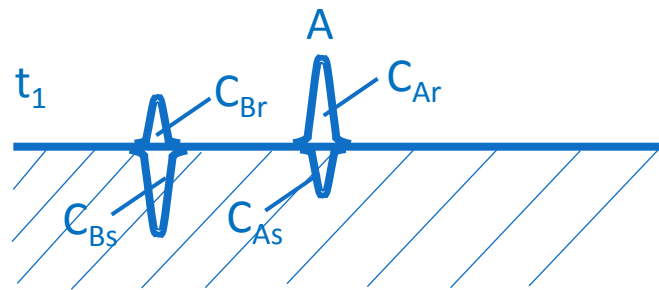
Ich przeniesienie wzdłuż układu chromatograficznego jest możliwe wtedy, gdy znajdują się w fazie ruchomej.



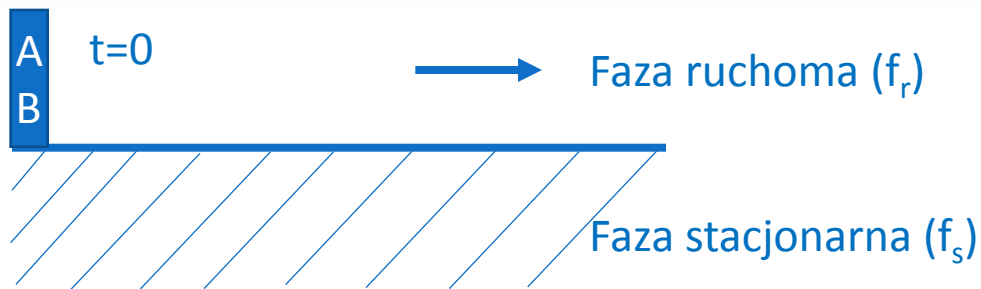
Idea procesu chromatografii izokratycznej



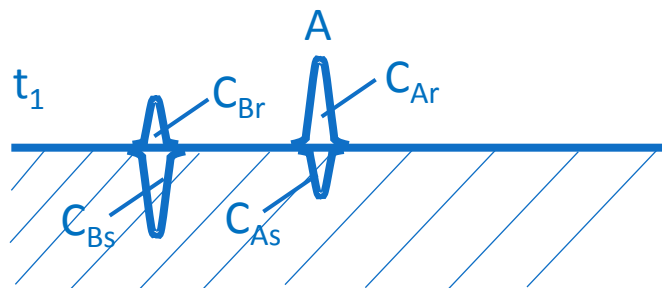
W czasie t_1 jest widoczny różny podział składników między obie fazy układu chromatograficznego i rozdzielenie tych składników.



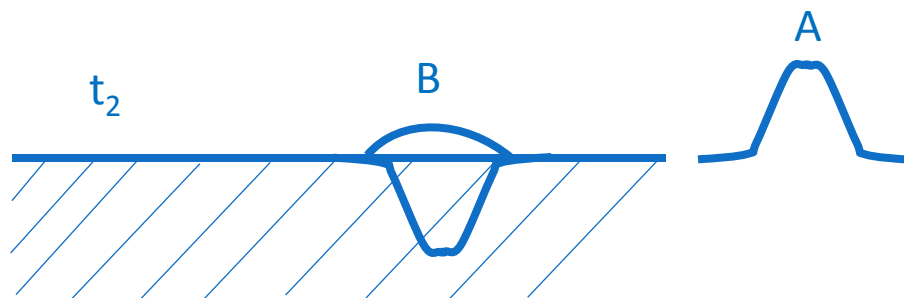
Idea procesu chromatografii izokratycznej



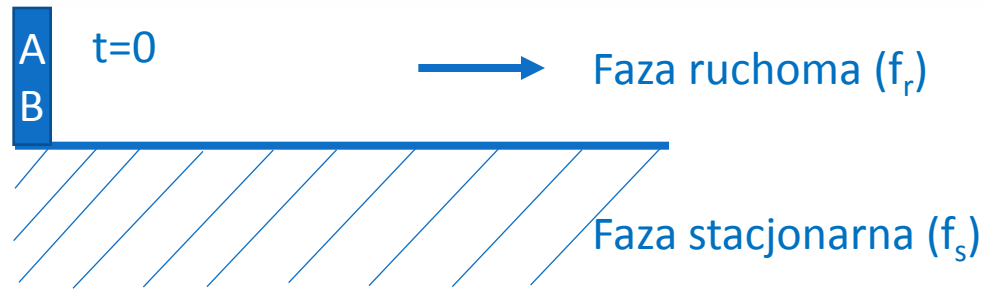
Rozdzielenie składników jest możliwe tylko wtedy, gdy ich stałe podziału różnią się między sobą



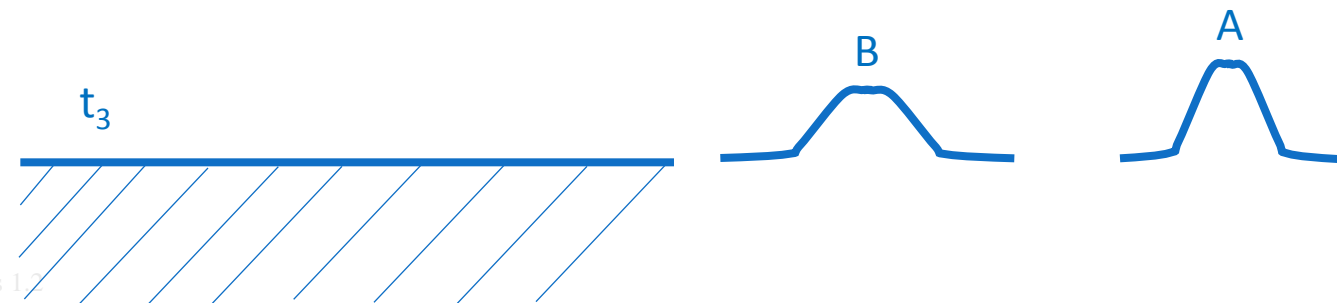
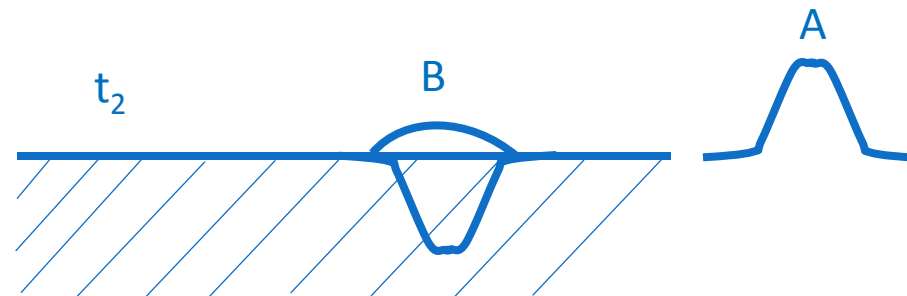
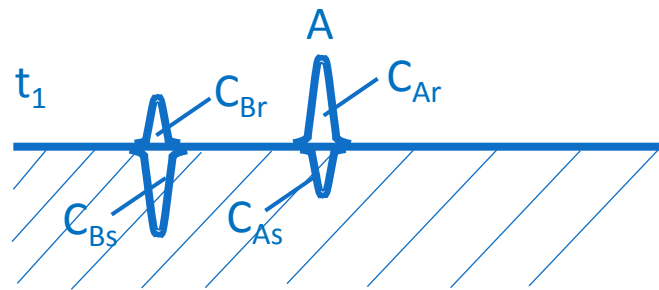
$$(K_a \neq K_b)$$



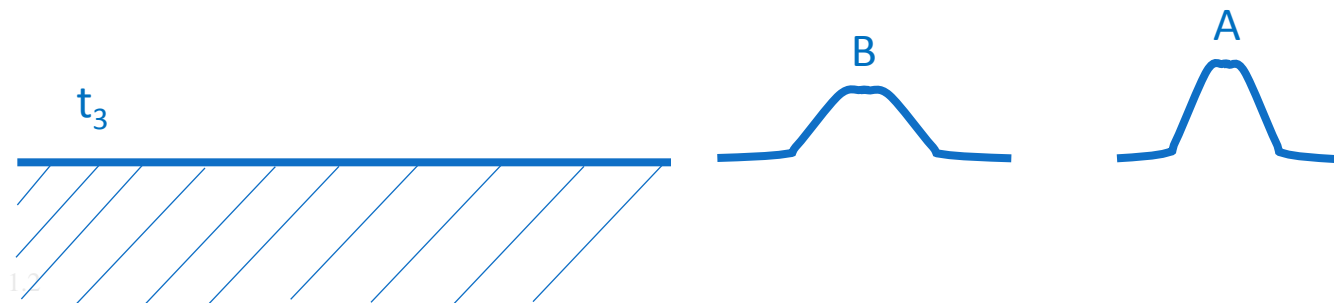
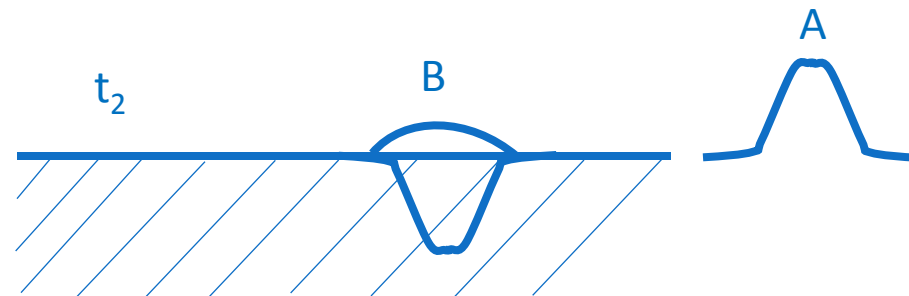
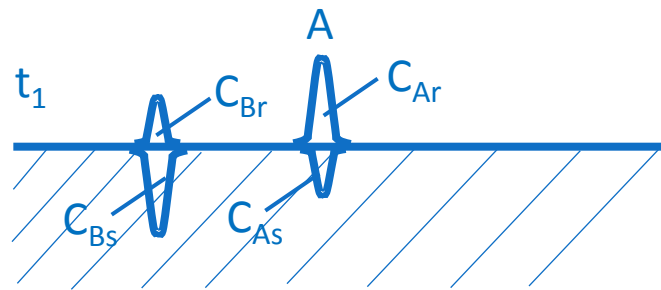
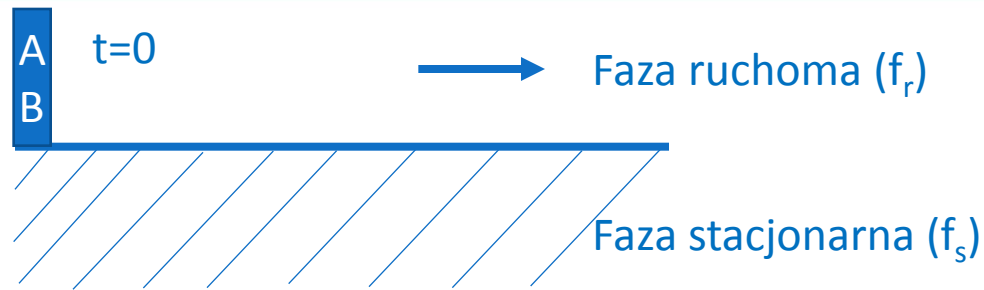
Idea procesu chromatografii izokratycznej



Aby rozdzielić wszystkie składniki mieszaniny należy dobrać tak warunki chromatograficzne, aby stosunki podziału tych składników były różne.

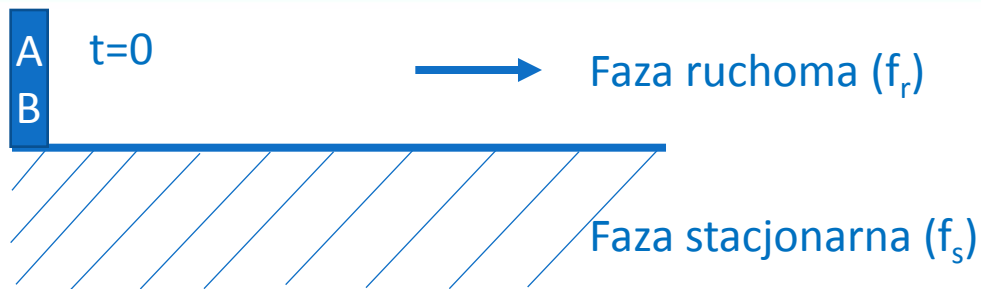


Idea procesu chromatografii izokratycznej

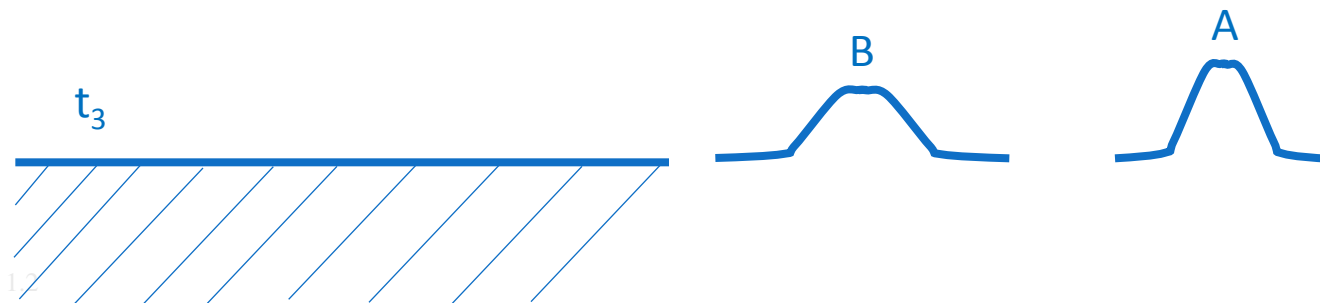
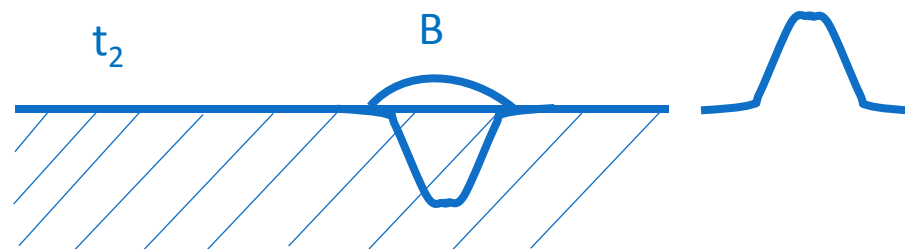
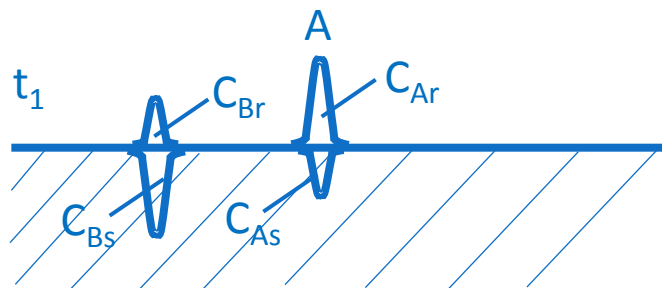


W przypadku chromatografii kolumnowej należy wziąć pod uwagę rodzaj i długość kolumny,
a w przypadku chromatografii cienkowarstwowej rodzaj i wielkość płytki oraz sposób rozwijania chromatogramów

Idea procesu chromatografii izokratycznej



pik składnika B jest szerszy niż pik składnika A



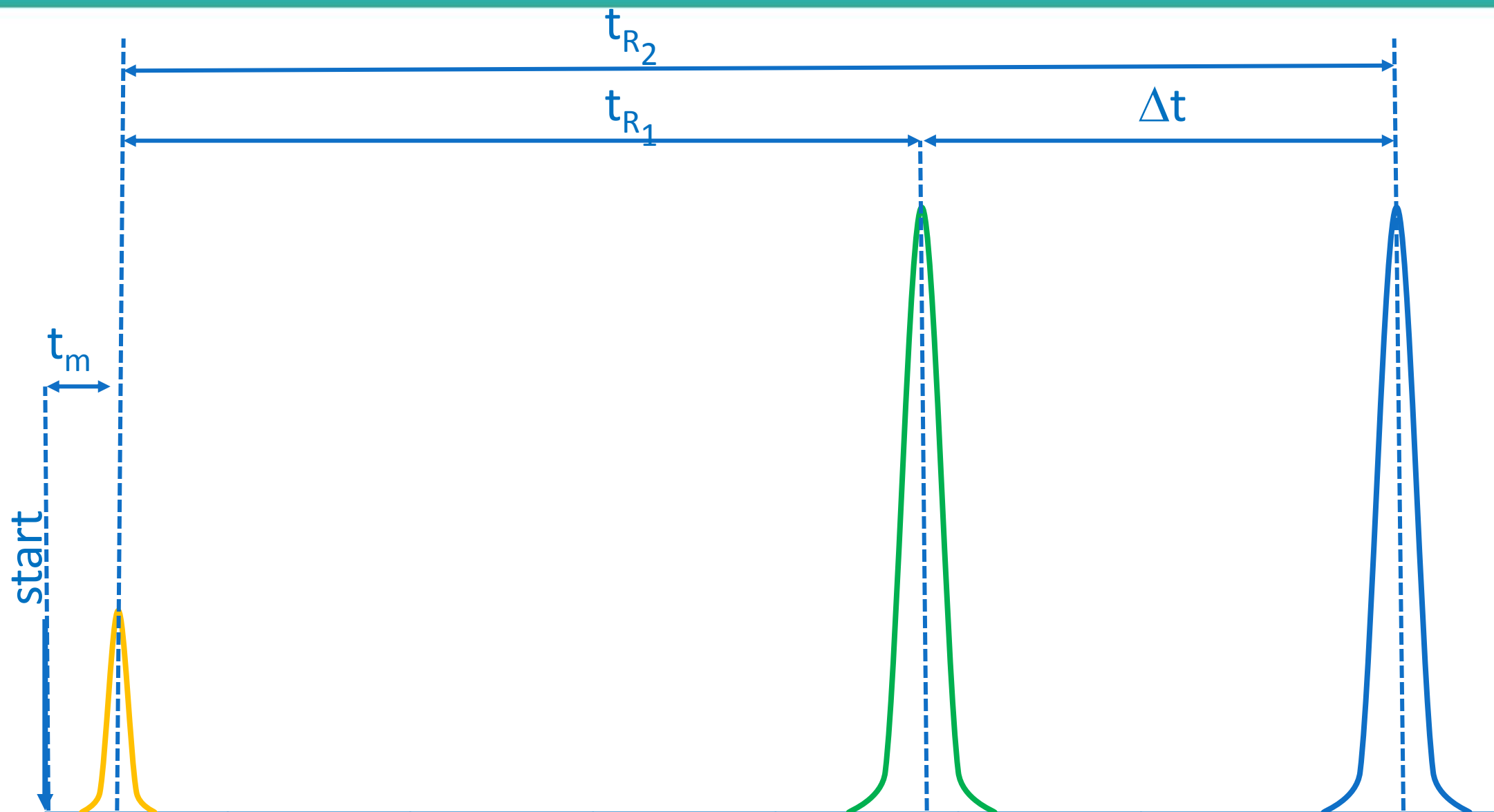
Podział ze względu na naturę zjawisk:

-  Adsorpcyjna (ciecz- ciało stałe) LSC
-  Podziałowa (ciecz – ciecz) LLC
-  Chromatografia żelowa GPC
-  Chromatografia jonowa (par jonowych, jonowymienna)

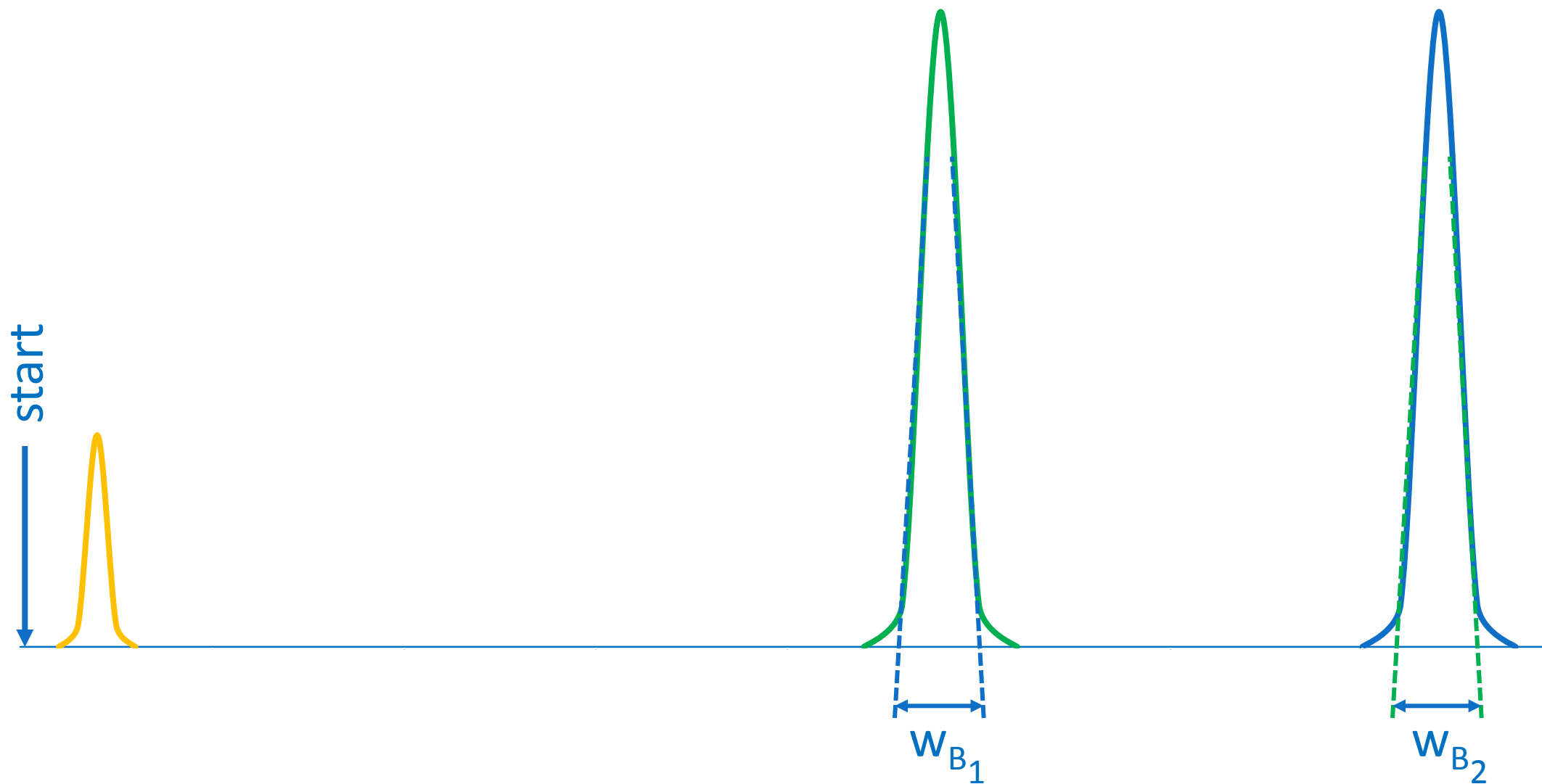
Chromatografia

Gazowa		Cieczowa					fluidalna	
Adsorpcyjna	Podziałowa	Adsorpcyjna	Jono-wymienna	Żelowa	Podziałowa		Adsorpcyjna	Podziałowa
Kolumnowa		Kolumnowa			Cienko-warstwowa	Bibułowa	Kolumnowa	
Na kolumnach pakowanych	Kapilarna	Klasyczna	Wysokosprawna		Ciśnieniowa	Planarna	Na kolumnach pakowanych	Kapilarna

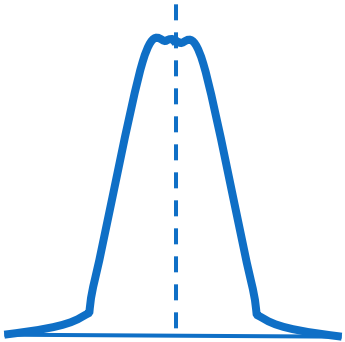
Parametry retencji



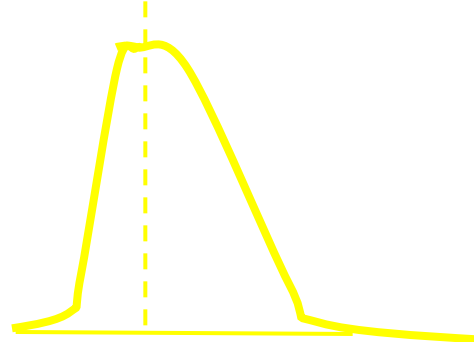
Parametry retencji



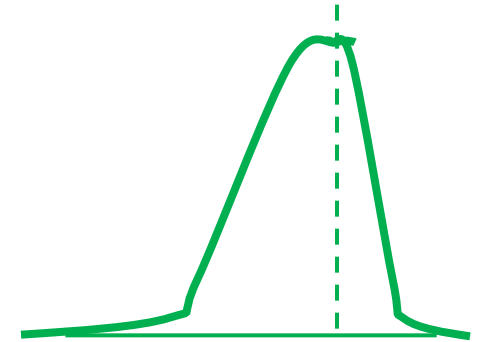
Pik „Gausowski”



Ogonowanie



Rozmycie przedniej części piku



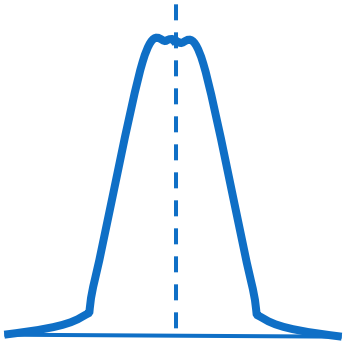
Dyfuzja jest powszechnie obserwowanym zjawiskiem.

Jakakolwiek część niezwiązanych cząsteczek będzie dążyć do rozproszenia w zajmowanej objętości. Jeżeli tak się dzieje to następuje spadek ich stężenia i wzrasta ich entropia.

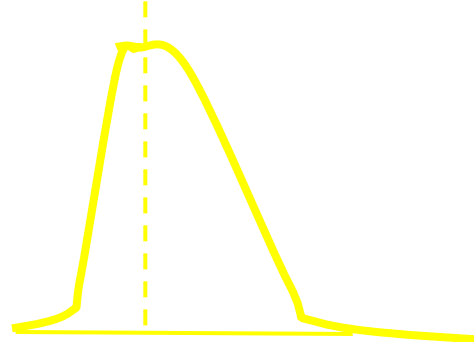
Dlatego spełnione jest jedynie drugie prawo termodynamiki.

Kształt piku

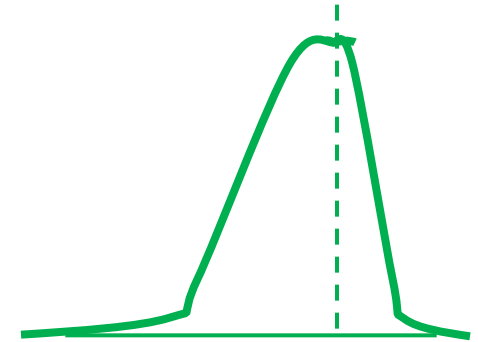
Pik „Gausowski”



Ogonowanie



Rozmycie przedniej części piku

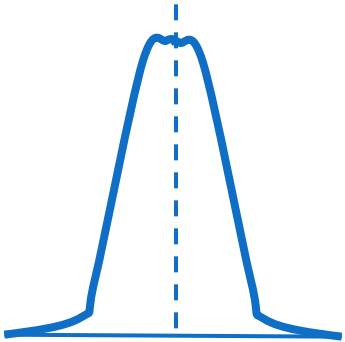


Mówiąc o dyfuzji, często myśli się o cząsteczkach poruszających się z obszaru o wysokim stężeniu do obszaru o niskim stężeniu.

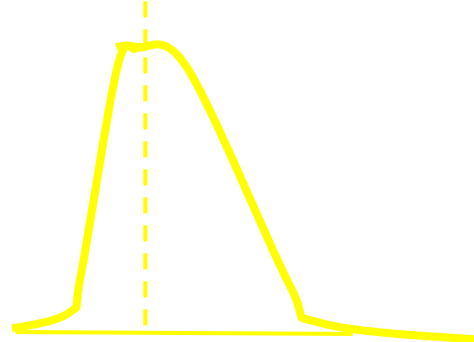
Takie założenie, z góry przyjmuje, iż cząsteczki są świadome obszarów o wysokim i niskim stężeniu.

W rzeczywistości dyfuzja odbywa się we wszystkich kierunkach ponieważ ruchy cząsteczek są przypadkowe.

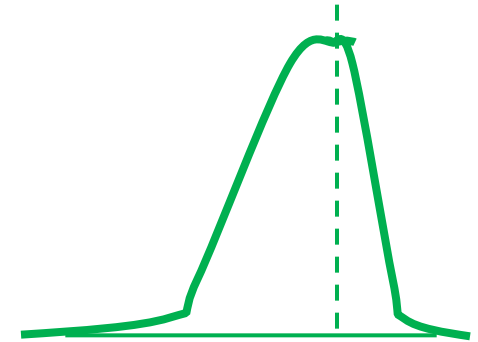
Pik „Gausowski”



Ogonowanie



Rozmycie przedniej części piku

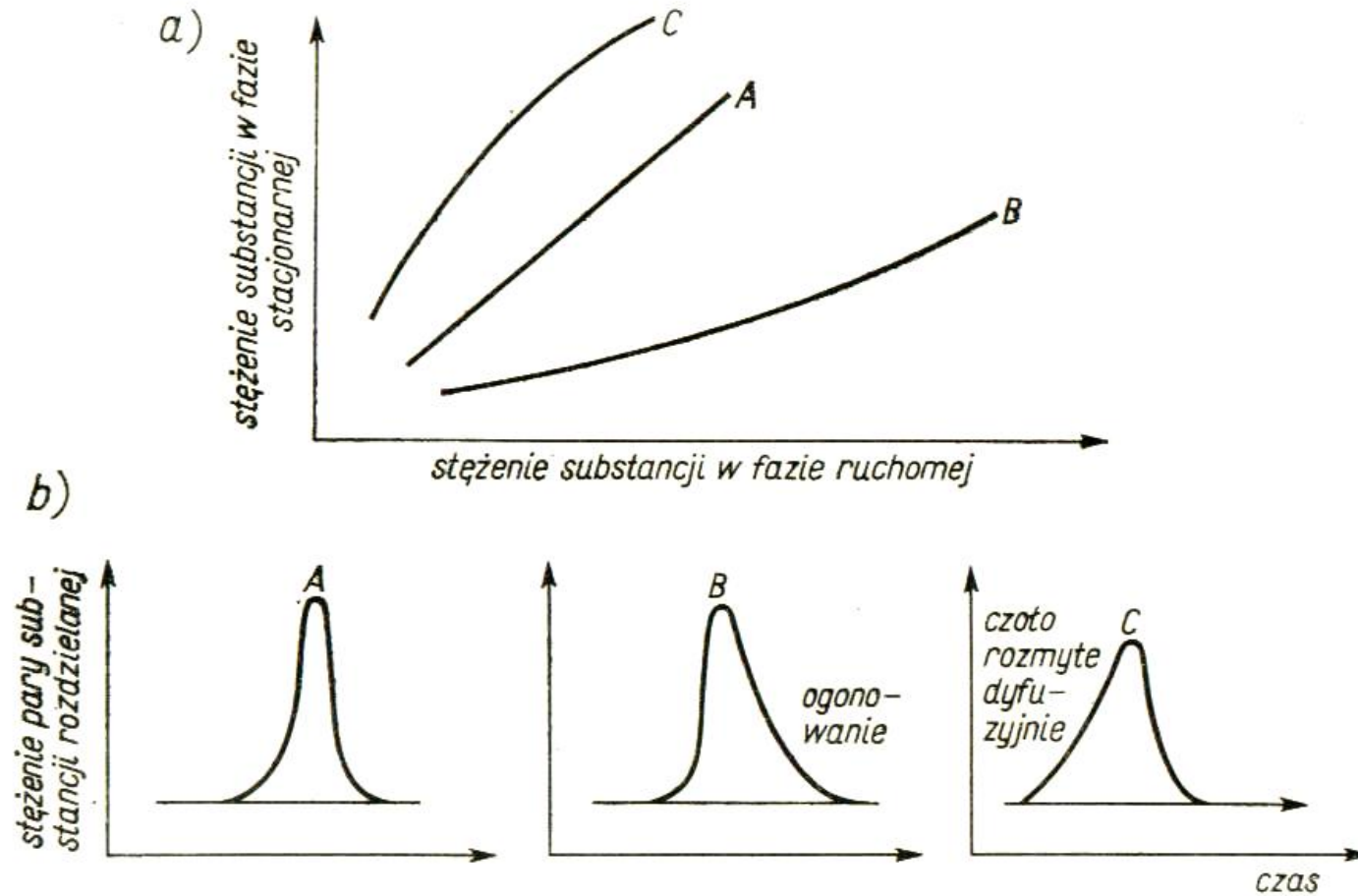


Ostatecznie jednak, obszar o niższym stężeniu cząsteczek zostanie w nie wzbogacony a obszar o wyższym stężeniu ulegnie zubożeniu.

Więcej cząsteczek popłynie z obszaru o wyższym stężeniu do obszaru o niższym stężeniu, i nastąpi ogólne wyrównanie poziomu stężenia.

Na początku profile substancji rozpuszczonej mają kształt symetrycznych pików, profile stężenia jednak ulegają w czasie zmian i przybierają odpowiednie kształty:

Istota rozdzielania chromatograficznego



Rys. 3.4a. Izotermi podziału

Rys. 3.4b. Kształt pików odpowiadających izotermom z rys. 1.4a

$$\text{Liczba póltek teoretycznych - } N = 16 \left(\frac{\text{Czas retencji - } t_r}{\text{Szerokość piku przy podstawie - } w} \right)^2$$

$$\begin{array}{l} \text{Wysokość} \\ \text{równoważna półtce} \\ \text{teoretycznej - } H \\ \text{(sprawność kolumny na} \\ \text{jednostkę długości)} \end{array} = \left(\frac{\text{Długość kolumny - } L}{\text{Liczba póltek teoretycznych - } N} \right)$$