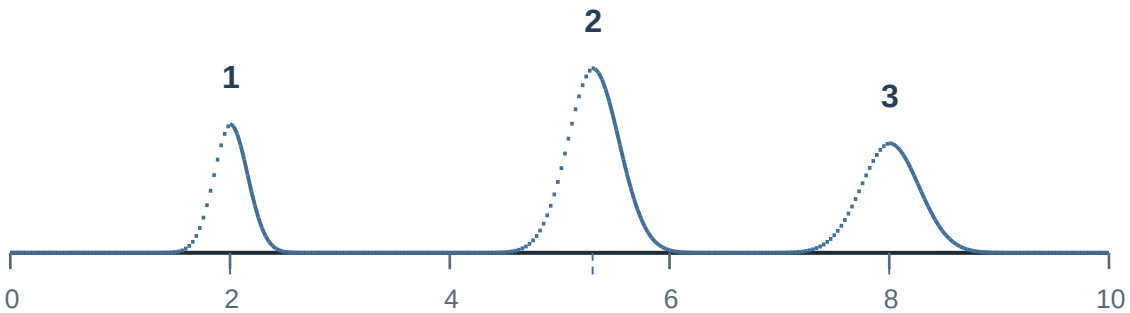
ДӘРІС №10

ДӘРІС ТАҚЫРЫБЫ

Органикалық қосылыстарды талдаудағы хроматография әдісі.

Дәріс презентациясы

Дәріскер: PhD, Қауымдастырылған профессор
Кудайбергенова Батес Маликовна



ХРОМАТОГРАММА

Дәріс жоспары

01 Хроматография әдісінің мәні және бөліну механизмі

02 Хроматографияның жіктелуі және негізгі түрлері

03 Жұқа қабатты және бағаналы хроматография

04 Газдық және жоғары тиімді сұйықтық хроматографиясы

05 Хроматограммаларды сапалық және сандық бағалау

06 Органикалық қосылыстарды талдаудағы қолданылуы

Мақсаты: хроматографиялық әдістердің теориялық негіздерін, түрлерін және органикалық қосылыстарды талдаудағы қолданылуын түсіндіру.

Міндеті: бөліну механизмін, негізгі әдістерді және хроматограмма нәтижелерін сапалық әрі сандық бағалауды сипаттау.

Дәріскер: PhD, Қауымдастырылған профессор Кудайбергенова Батес Маликовна

Хроматография: анықтамасы және талдаудағы рөлі

Хроматография — қоспа компоненттерінің екі фаза арасында әртүрлі таралуына негізделген физикалық бөлу әдісі.

Қозғалмайтын фаза

Колонкадағы сорбент, қатты қабат немесе қатты тасымалдағыштағы сұйық қабат.

Жылжымалы фаза

Сорбент арқылы өтетін газ, сұйықтық немесе аса критикалық флюид.

Бөліну нәтижесі

Компоненттер әртүрлі жылдамдықпен жылжып, жеке аймақтарға немесе шыңдарға бөлінеді.

Аналитикалық мақсаттары

- Қоспаның құрамын анықтау (сапалық талдау).
- Зат концентрациясы мен мөлшерін есептеу (сандық талдау).
- Қоспалар мен ыдырау өнімдерін бақылау.

Бөліну механизмі және фазалармен әрекеттесу

Бөліну негізі: молекулалардың сорбциялануы, ерігіштігі, полярлығы, заряды немесе молекулалық өлшемі әртүрлі болады.



Неге жылдамдықтары өзгеше?

- Сорбентпен күшті әрекеттесетін зат колонкада ұзағырақ ұсталады.
- Жылжымалы фазада жақсы еритін зат тезірек жылжиды.
- Фазалар арасындағы тепе-теңдік қайта-қайта орнайды.
- Соңында компоненттердің ұсталу уақыты мен шығу реті ерекшеленеді.

Хроматография әдістерінің негізгі жіктелуі

Жіктеу белгісі	Әдіс түрлері	Негізгі ерекшелігі
Жылжымалы фаза	Газдық (ГХ), сұйықтық (СХ), аса критикалық (СКФХ)	Тасымалдаушы ортаның агрегаттық күйі
Орындау пішіні	Бағаналы, жазықтық (ЖҚХ, қағаз)	Сорбенттің орналасуы
Бөліну механизмі	Адсорбциялық, таралу, ионалмастырғыш, өлшемдік	Заттардың фазалармен әрекеттесуі
Орындау мақсаты	Аналитикалық, препараттық	Анықтау немесе затты жеке бөліп алу
Құрал-жабдық	ЖҚХ, ГХ, ЖТСХ, ГХ–МС, СХ–МС	Детекциялау мен ажырату мүмкіндіктері

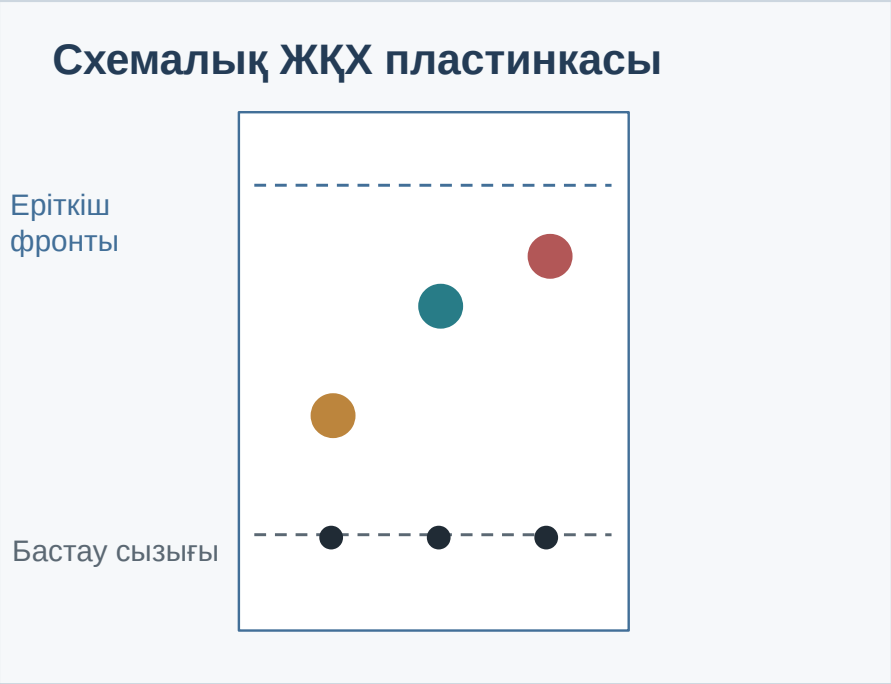
ЖҚХ — жұқа қабатты хроматография; ЖТСХ — жоғары тиімді сұйықтық хроматографиясы; МС — масс-спектрометрия.

Хроматографиялық талдауды жүргізу кезеңдері

1. Үлгіні дайындау	Еріту, экстракциялау, сүзу, қажет болса туындыландыру.
2. Әдісті таңдау	Заттардың ұшқыштығы, полярлығы, тұрақтылығы бағаланады.
3. Фазаларды таңдау	Сорбент, элюент, газ-тасымалдағыш немесе градиент белгіленеді.
4. Үлгіні енгізу	Белгілі көлем енгізіліп, бөліну жүреді.
5. Детекциялау	Детектор сигналды хроматограммаға айналдырады.
6. Нәтижені бағалау	Шыңдарды тану, концентрацияны есептеу, сапаны тексеру.

Жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ)

ЖҚХ — сорбенттің жұқа қабатында (көбіне силикагель) қоспаларды жылжымалы элюент арқылы бөлу әдісі.



Rf = d(дақ) / d(фронт)

- Rf — зат жүрген қашықтықтың еріткіш фронты жүрген қашықтыққа қатынасы.
- Бірдей сорбент, элюент және жағдайларда эталонмен салыстырылады.
- Дақтарды ультракүлгін жарықта немесе айқындағыш реактивпен анықтайды.

Мысал: d(дақ) = 3,4 см; d(фронт) = 6,8 см → Rf = 0,50

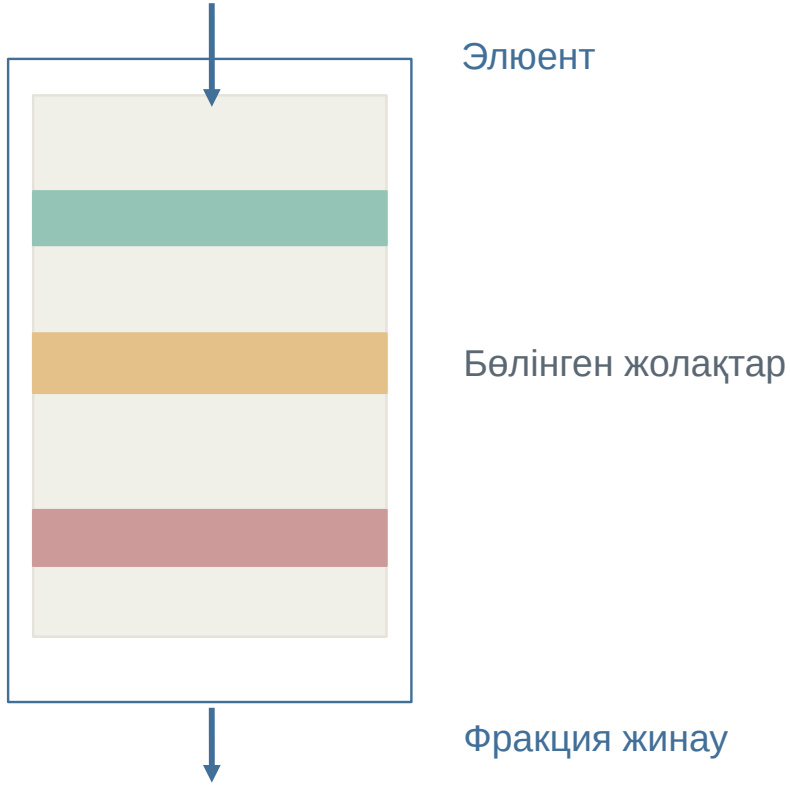
ЖҚХ-ның органикалық қосылыстарды анықтауда қолданылуы

Талдау элементі	Іс жүзінде қолданылатын шешім
Сорбент	Силикагель SiO_2; кей жағдайда алюминий оксиді немесе модификацияланған қабат
Элюент	Гексан–этилацетат, толуол–этилацетат, метанол қосылған қоспалар (затқа қарай)
Дақтарды анықтау	УК 254/366 нм; аминдерге нингидрин; кейбір органикалық заттарға анизальдегид реактиві
Сапалық салыстыру	Эталон және сыналатын ерітінді дақтарының орны, Rf, түсі және саны
Қолданылатын нысандар	Алкалоидтар, аминқышқылдары, фенолдар, флавоноидтар, табиғи қосылыстар

Артықшылықтары: жылдам, арзан, бірнеше үлгіні қатар салыстыруға болады. Шектеуі: дәл сандық талдауда аспаптық әдістер жиі тиімді.

Бағаналы хроматография

Бағаналы хроматографияда қоспа сорбент толтырылған колонка бойымен элюент арқылы жылжып, жеке фракцияларға бөлінеді.

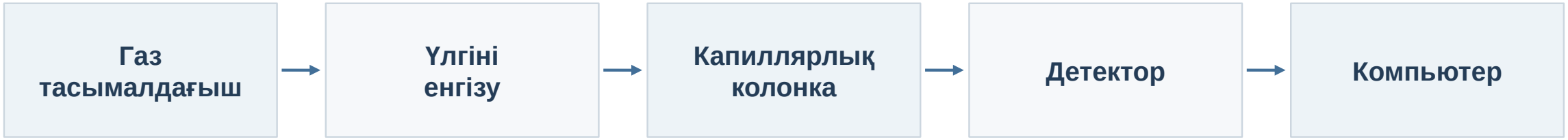


Негізгі сипаттамалары

- Қозғалмайтын фаза: силикагель, Al_2O_3 немесе полимерлік сорбент.
- Элюент: органикалық еріткіштер немесе олардың қоспалары.
- Элюенттің полярлығын өзгерту арқылы бөліну реттеледі.
- Фракциялар бөлек жиналып, құрамдары ЖҚХ/ЖТСХ арқылы тексеріледі.

Газдық хроматография (ГХ): принципі және құрылғысы

ГХ ұшқыш әрі қыздыруға жеткілікті тұрақты органикалық қосылыстарды ажыратуға арналған.



Негізгі жұмыс принципі

- Үлгі буланып, инертті газ ағынымен колонкаға өтеді.
- Компоненттер ұшқыштығына және стационарлық фазамен өзара әсеріне қарай бөлінеді.
- Колонка температурасы тұрақты немесе бағдарламалы түрде өзгертіледі.

Кең таралған детекторлар: жалынды-ионизациялық (FID), масс-спектрометриялық (MC).

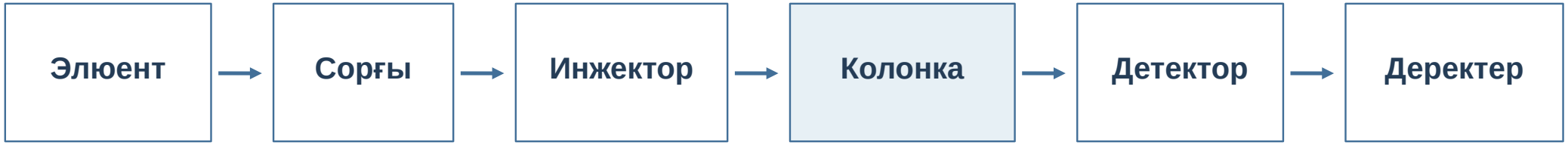
Газдық хроматографияның мүмкіндіктері

Қолдану бағыты	Органикалық қосылыстардың мысалдары	Талдау ерекшелігі
Қалдық еріткіштер	Этанол, ацетон, метанол, толуол	Газ-фазалық енгізу (headspace) жиі қолданылады
Эфир майлары	Терпеноидтар, ұшқыш хош иісті заттар	ГХ–МС құрылым туралы ақпарат береді
Мұнай-химия	Алкандар, ароматты көмірсутектер	Қоспа компоненттерін бөлу және мөлшерлеу
Ұшқыш қоспалар	Альдегидтер, кетондар, эфирлер	Ұсталу уақыты мен сигнал бойынша бағалау

Ескерту: термиялық тұрақсыз немесе ұшпайтын заттар үшін ЖТСХ қолайлырақ; кейде ГХ алдында туындыландыру жүргізіледі.

Жоғары тиімді сұйықтық хроматографиясы (ЖТСХ)

ЖТСХ — жоғары қысыммен қозғалатын сұйық фазаны пайдаланып, күрделі қоспалардың компоненттерін жоғары тиімділікпен бөлетін әдіс.



Құрылғының негізгі бөліктері

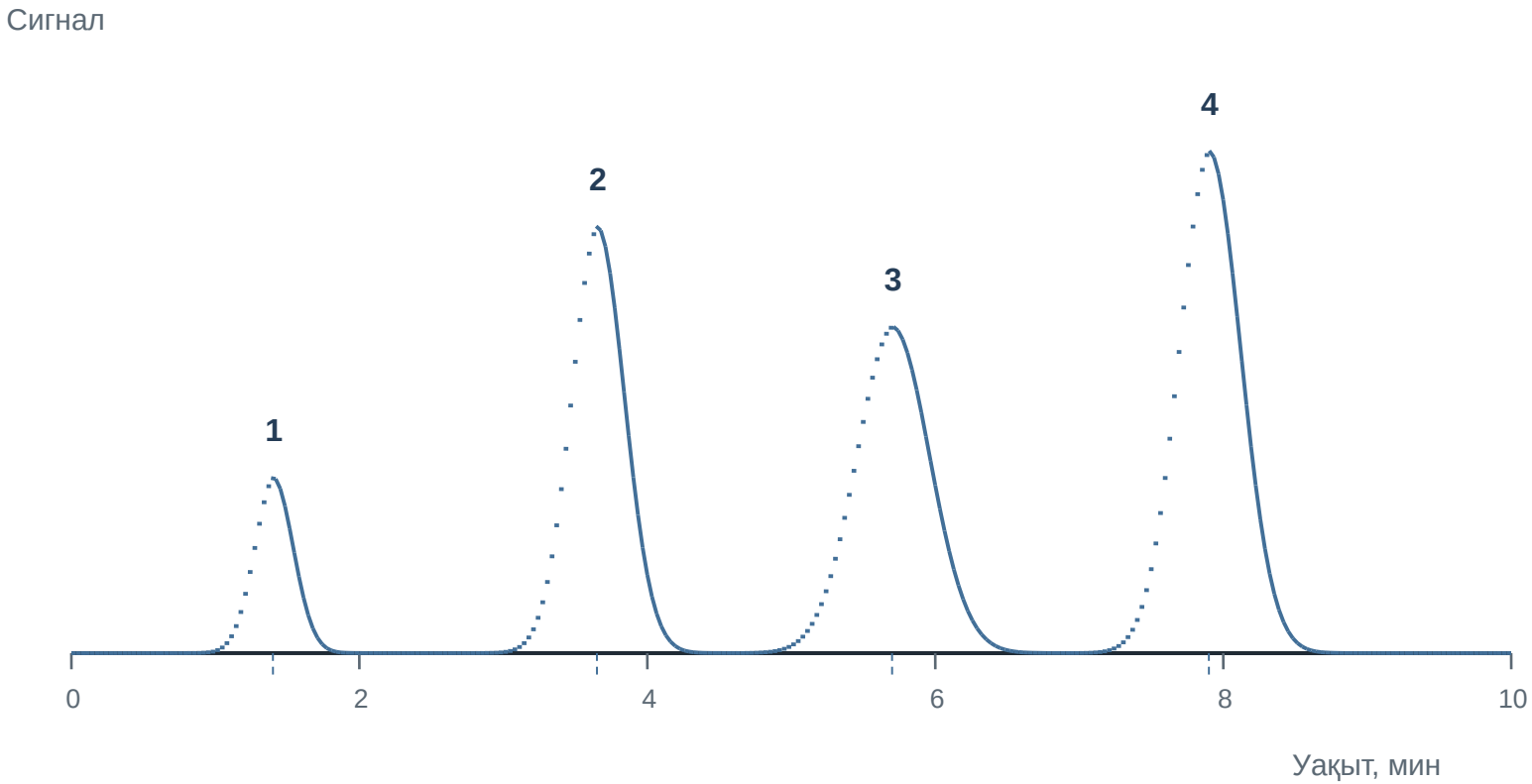
- Еріткіш резервуары және сорғы — жылжымалы фазаның тұрақты ағынын қамтамасыз етеді.
- Инжектор (автосамплер) — үлгіні жүйеге нақты көлемде енгізеді.
- Колонка (мысалы, C18) — компоненттерді ұсталу қабілетіне қарай бөледі.
- УК/ДАД немесе МС детекторы — шыққан компоненттерді тіркейді.

Қалыпты және кері фазалы хроматография

Көрсеткіш	Қалыпты фаза (NP)	Кері фаза (RP)
Қозғалмайтын фаза	Полярлы силикагель, Al_2O_3	Полярлығы төмен C18, C8
Жылжымалы фаза	Салыстырмалы полярлығы төмен органикалық еріткіш	Су–ацетонитрил немесе су–метанол
Күштірек ұсталу	Көбірек полярлы компоненттер	Көбірек гидрофобты компоненттер
Элюцияны өзгерту	Элюент полярлығын арттыру	Органикалық модификатор үлесін арттыру
Типтік қолданылуы	Липидтер, изомерлер, кейбір табиғи қоспалар	Дәрілік заттар, фенолдар, көптеген органикалық молекулалар

Кері фазалы ЖТСХ фармацевтикалық және биоаналитикалық зертханаларда кеңінен таралған.

Хроматограмма және негізгі аналитикалық шамалар



Көрсеткіш

- Ұсталу уақыты (tR): шың максимумына дейінгі уақыт.
- Шың ауданы: компонент мөлшерін есептеуге негіз.
- Шың биіктігі: кейбір әдістерде сигнал өлшемі.
- Ажырату қабілеті (Rs): көршілес шыңдардың бөліну дәрежесі.

Сапалық талдау → tR және спектр/эталон; сандық талдау → шың ауданы және калибрлеу.

Бөліну сапасын бағалайтын көрсеткіштер

Параметр	Формуласы немесе мағынасы	Қолданылуы
Ұсталу коэффициенті, k	$k = (tR – tM) / tM$	Заттың колонкада ұсталуын сипаттайды
Селективтілік, α	$\alpha = k_2 / k_1$ ($k_2 > k_1$)	Екі компоненттің салыстырмалы ұсталуын береді
Ажырату қабілеті, Rs	$Rs = 2(tR_2 – tR_1) / (w_1 + w_2)$	Көршілес шыңдардың бөліну сапасын бағалайды
Теориялық табақшалар, N	$N = 16(tR / w)^2$ (негіз ені бойынша)	Колонканың тиімділігін сипаттайды
Шың симметриясы	Тейлинг факторы, асимметрия	Адсорбция/артық жүктелу мәселелерін көрсетеді

Мұнда tM — ұсталмайтын компоненттің өту уақыты; w — шыңның негізіндегі ені. Rs ≈ 1,5 көбіне базалық ажыратудың практикалық бағдары.

Сапалық және сандық хроматографиялық талдау

Сапалық талдау

Белгісіз компоненттің ұсталу уақытын, ЖҚХ дағы Rf мәнін немесе детектордың спектрлік деректерін эталонмен салыстырады.

Бір ғана ұсталу уақыты әрдайым нақты сәйкестендіруге жеткіліксіз; ГХ–МС, СХ–МС немесе бірнеше белгі қолданылуы мүмкін.

Сандық талдау

Компоненттің шың ауданы мен концентрациясы арасындағы байланысты калибрлеу арқылы анықтайды.

Негізгі тәсілдер: сыртқы стандарт, ішкі стандарт, кей жағдайда стандарт қосу әдісі.

Есептеу мысалы (шартты калибрлеу)

A = 12C + 1; үлгі шыңының ауданы A = 301 → C = (301 – 1) / 12 = 25 мг/л.

Дұрыс есеп үшін сұйылту коэффициенті, стандарттар және әдістің жарамдылық талаптары ескеріледі.

Талдау әдісін органикалық қосылыстың қасиетіне қарай таңдау

Заттың сипаты	Ұсынылатын әдіс	Неліктен?
Ұшқыш, қыздыруға тұрақты	ГХ, ГХ–МС	Жоғары бөліну тиімділігі; ұшқыш құрамды анықтау
Ұшпайтын немесе термолабильді	ЖТСХ, СХ–МС	Жылу әсерін азайтып, күрделі қоспаны талдау
Жедел сәйкестендіру қажет	ЖҚХ	Қарапайым әрі арзан салыстырмалы әдіс
Табиғи қоспадан зат бөліп алу	Бағаналы/препараттық ЖТСХ	Жеке фракциялар жинауға мүмкіндік береді
Жоғары селективтілік қажет	ГХ–МС немесе СХ–МС	Масса-спектрдің қосымша ақпараты

Әдіс таңдауына сондай-ақ үлгі матрицасы, қажетті анықтау шегі, стандарттардың болуы және талдау уақыты әсер етеді.

Органикалық қосылыстарды талдаудағы нақты қолданылуы

Дәрілік заттар	Белсенді фармацевтикалық субстанцияны мөлшерлеу; қоспалар мен ыдырау өнімдерін бақылау.	**ЖТСХ / СХ–МС**
Дәрілік өсімдік шикізаты	Флавоноидтар, фенолды қосылыстар, алкалоидтарды сәйкестендіру; фитохимиялық профиль құру.	**ЖҚХ / ЖТСХ**
Эфир майлары	Терпеноидтарды бөлу және компоненттер спектрін талдау.	**ГХ–МС**
Дайын өнімнің қауіпсіздігі	Қалдық органикалық еріткіштер мен ұшқыш қоспаларды анықтау.	**ГХ / headspace-ГХ**
Ғылыми зерттеу	Реакция өнімдерін бақылау; синтез қоспаларын тазарту; метаболиттерді талдау.	**Бағаналы Х / ЖТСХ / МС**

Әдістің артықшылықтары және шектеулері

Артықшылықтары

- Күрделі көпкомпонентті қоспаларды бөледі.
- Сапалық және сандық анықтауды біріктіреді.
- Сезімталдық пен селективтілік жоғары болуы мүмкін.
- МС, УК және басқа детекторлармен үйлеседі.
- Фармацевтикалық сапа бақылауына жарамды.

Шектеулері

- Әдісті оңтайландыру және валидациялау қажет.
- Құрал-жабдық пен шығын материалдары қымбат болуы мүмкін.
- Матрица әсері және коэлюция қателік тудырады.
- Кейбір әдістер көп еріткіш жұмсайды.
- Үлгіні дайындау кезеңі нәтижеге әсер етеді.

Нәтиженің сенімділігі үшін жүйенің жарамдылығы, қайталанымдылық, ерекшелік және калибрлеу жүйелі бағаланады.

Қорытынды

Хроматография органикалық қосылыстардың құрамын анықтау мен олардың мөлшерін бағалаудың негізгі аналитикалық әдістерінің бірі.

- Хроматографиялық бөліну екі фаза арасындағы молекулалардың әртүрлі таралуына негізделеді.
- ЖҚХ — жедел сапалық салыстыруға, ГХ — ұшқыш компоненттерге, ЖТСХ — күрделі және термолабильді қосылыстарға қолайлы.
- Хроматограмма бойынша ұсталу уақыты, шың ауданы және бөліну сапасы бағаланады.
- Нақты әдіс таңдау зерттелетін заттың қасиетіне және қойылған аналитикалық міндетке тәуелді.

Пайдаланылған әдебиеттер

1. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology (Gold Book). Chromatography. https://goldbook.iupac.org/terms/view/C01075

2. IUPAC. Gold Book. Retention factor in column chromatography. https://goldbook.iupac.org/terms/view/R05359

3. United States Pharmacopeia. USP–NF, General Chapter ⟨621⟩ Chromatography. https://doi.org/10.31003/USPNF_M99380_01_01

4. Snyder L. R., Kirkland J. J., Dolan J. W. Introduction to Modern Liquid Chromatography. 3rd ed. Wiley, 2010.

5. Skoog D. A., Holler F. J., Crouch S. R. Principles of Instrumental Analysis. 7th ed. Cengage, 2018.

Сызбалар мен хроматограммалар оқу мақсатында авторлық түрде құрастырылған; сандық мысалдар — иллюстрациялық.