

Łódź, 17.02.2021

Chromatografia – podstawa metod analizy laboratoryjnej

dr hab. Grażyna Chwatko, prof. UŁ
Katedra Chemii Środowiska



Chromatografia

Z greckiego *chromatos* = barwa
grapho = pisze

1903 – rozdzielenie ekstraktu roślinnego na
 CaCO_3 przy wymywaniu benzenem



1872-1919

Michaił Semenowicz Cwiet

https://pl.wikipedia.org/wiki/Michai%C5%82_Cwiet

Wybrane ważne odkrycia związane z chromatografią



1903

- M.S. Cwiet
Odkrycie kolumnowej chromatografii cieczowej

1938

- Izmailow i Szaiber
Odkrycie chromatografii cienkowarstwowej

1941

- A.J.P. Martin i R.L.M. Synge
Zastosowanie gazu jako fazy ruchomej

1968

- Powstanie wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC)



Chromatografia

jest metodą rozdzielania mieszanin jednorodnych, w której rozdzielane składniki ulegają podziałowi pomiędzy dwie fazy, z których jedna jest fazą nieruchomą (stacjonarną), a druga fazą ruchomą (mobilną) układu chromatograficznego.

Faza stacjonarna:

- ✓ ciało stałe,
- ✓ ciecz na nośniku,
- ✓ żel.

Faza ruchoma:

- ✓ ciecz,
- ✓ gaz,
- ✓ gaz w stanie nadkrytycznym (fluid).



Podział ze względu na stan skupienia fazy ruchomej

- ✓ Chromatografia gazowa
- ✓ Chromatografia ciekłowa
- ✓ Chromatografia fluidalna



Podział ze względu na naturę zjawisk będących podstawą procesu chromatograficznego

- ✓ Chromatografia adsorpcyjna
- ✓ Chromatografia podziałowa
- ✓ Chromatografia jonowymienna
- ✓ Chromatografia żelowa (sitowa lub sączenie molekularne).



Faza ruchoma i faza stacjonarna

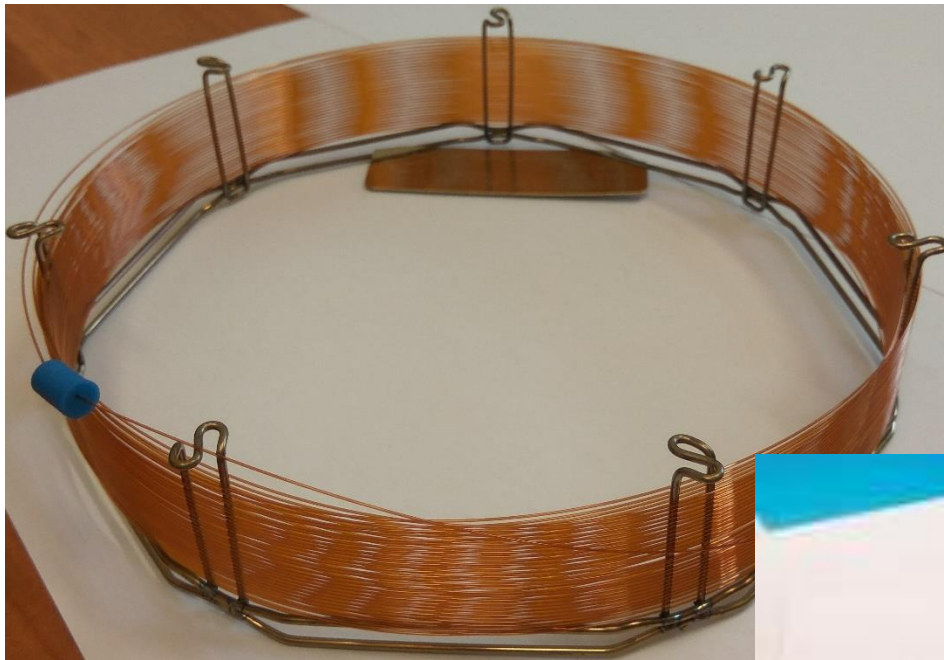
Faza ruchoma:

substancja płynąca w sposób ciągły przez fazę stacjonarną, oddziałująca z nią oraz ze składnikami rozdzielanej mieszaniny.

Faza stacjonarna:

substancja umieszczona w kolumnie chromatograficznej lub na płaszczyźnie, oddziaływanie z którą umożliwia rozdzielanie składników mieszanin.

Kolumny i płytki chromatograficzne

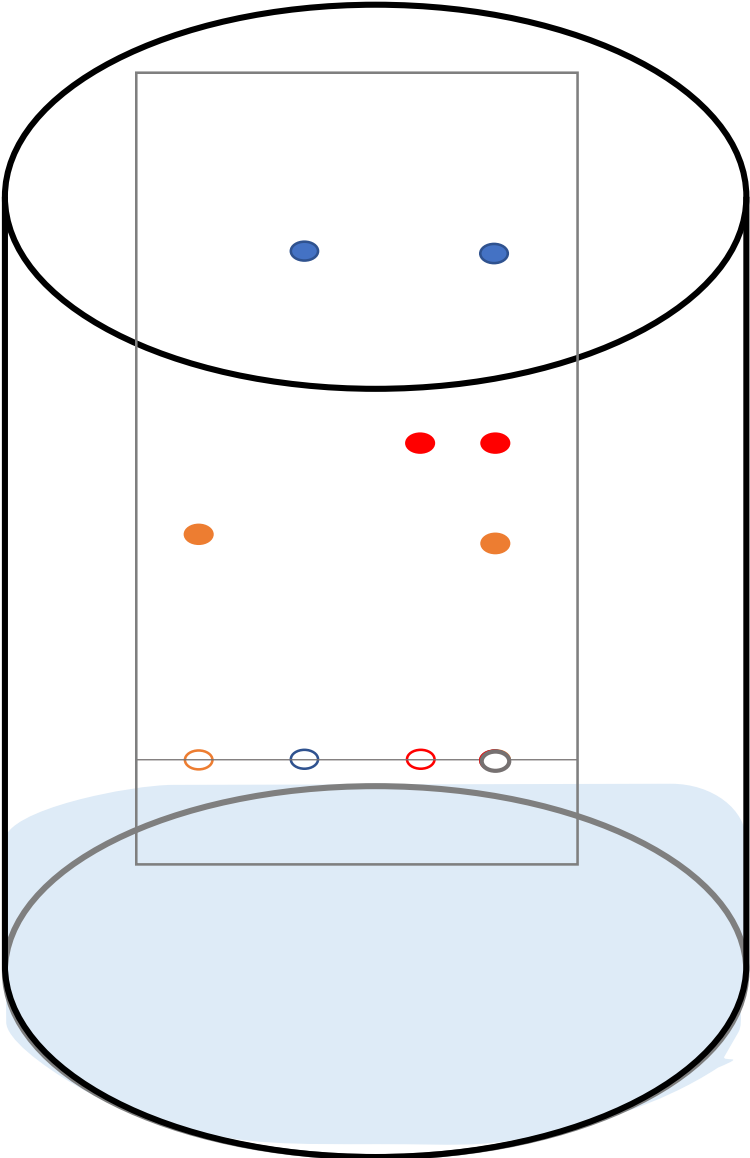
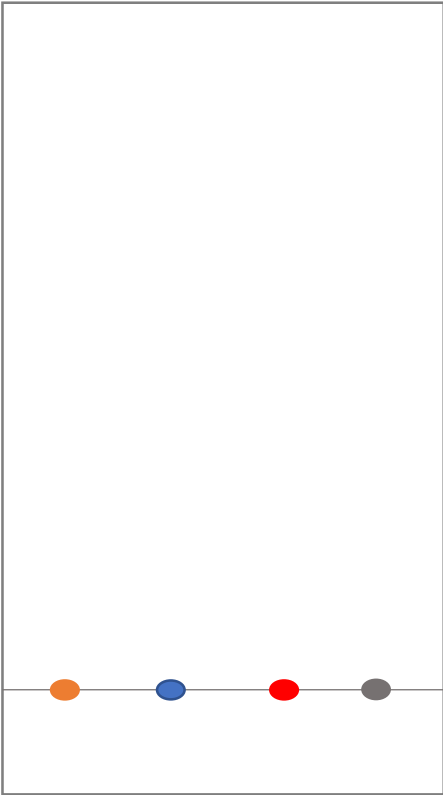




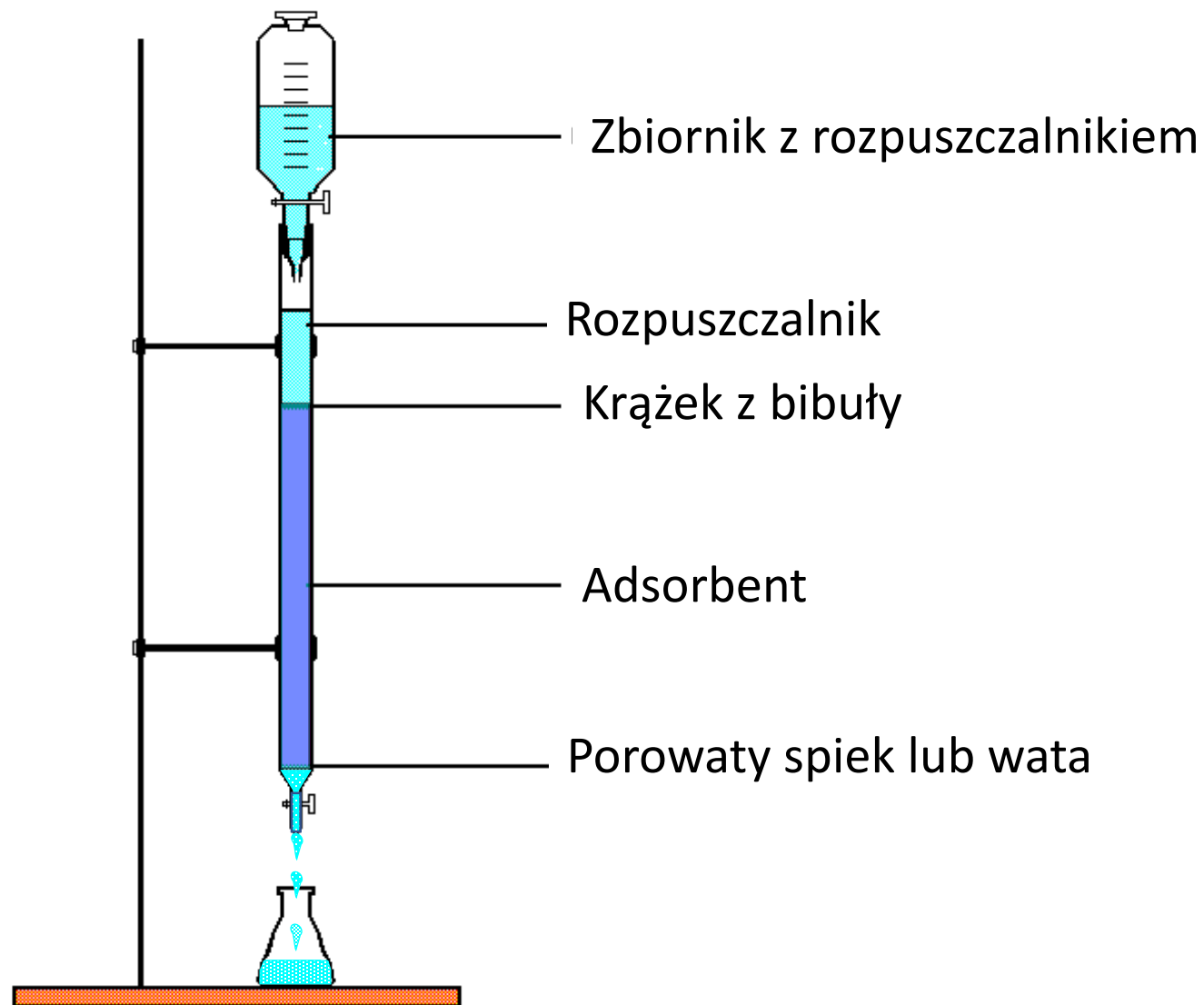
Podział ze względu na sposób prowadzenia eksperymentu

- ✓ Chromatografia planarna
- ✓ Chromatografia kolumnowa

Chromatografia planarna



Chromatografia kolumnowa - klasyczna

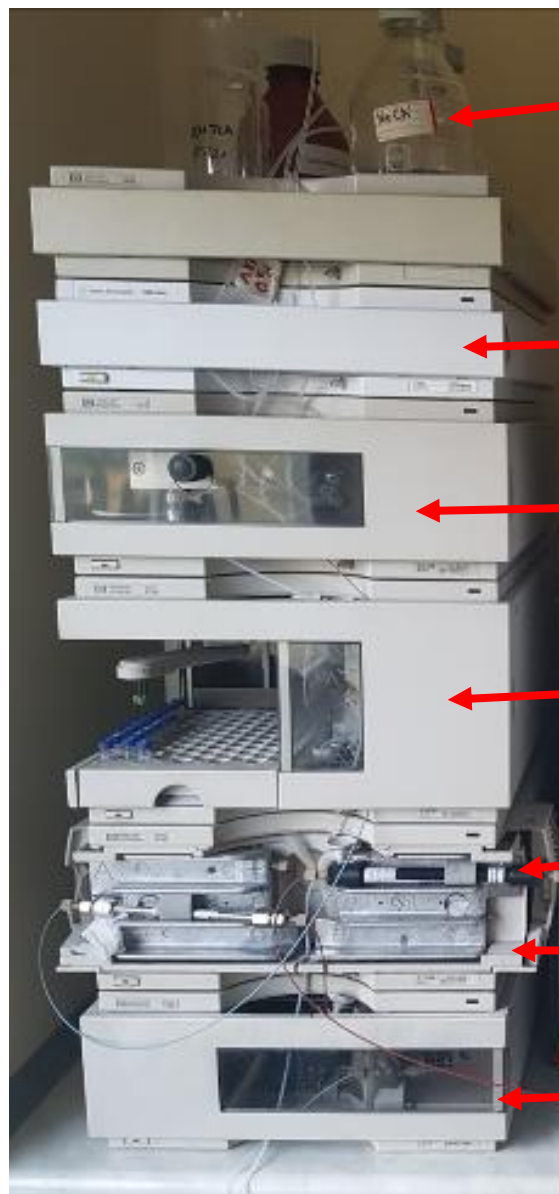




Wysokosprawna chromatografia cieczowa

(HPLC - ang. *High Performance Liquid Chromatography*)

Budowa chromatografu cieczowego



Zbiornik z rozpuszczalnikami

Degazer

Pompa

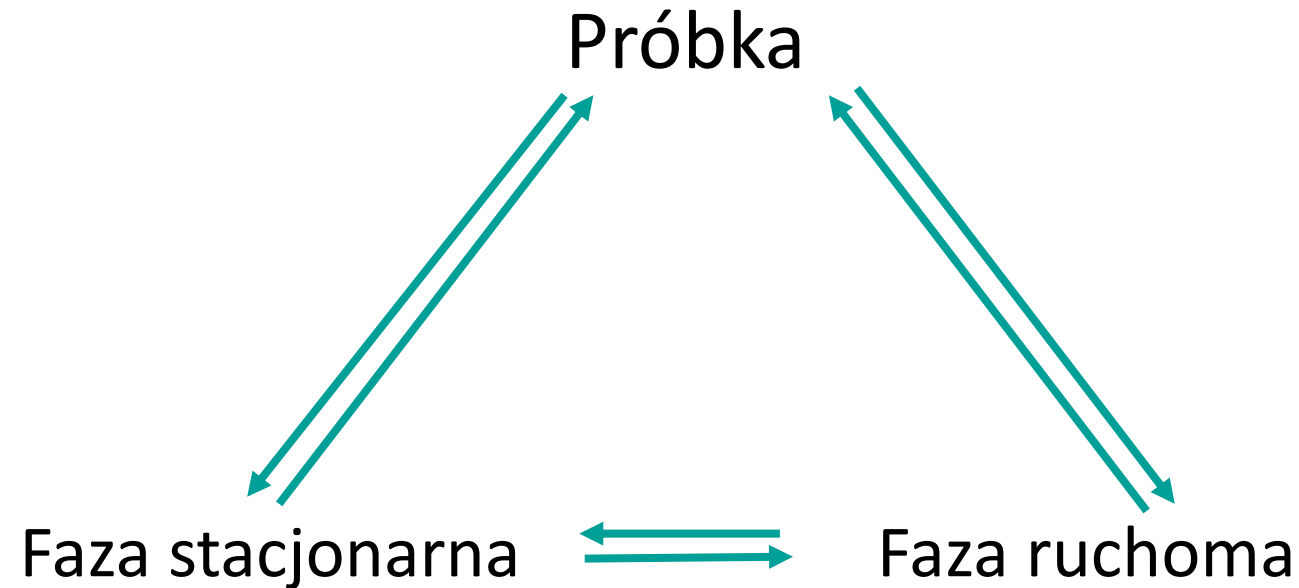
Automatyczny podajnik próbek/zawór dozujący

Kolumna chromatograficzna

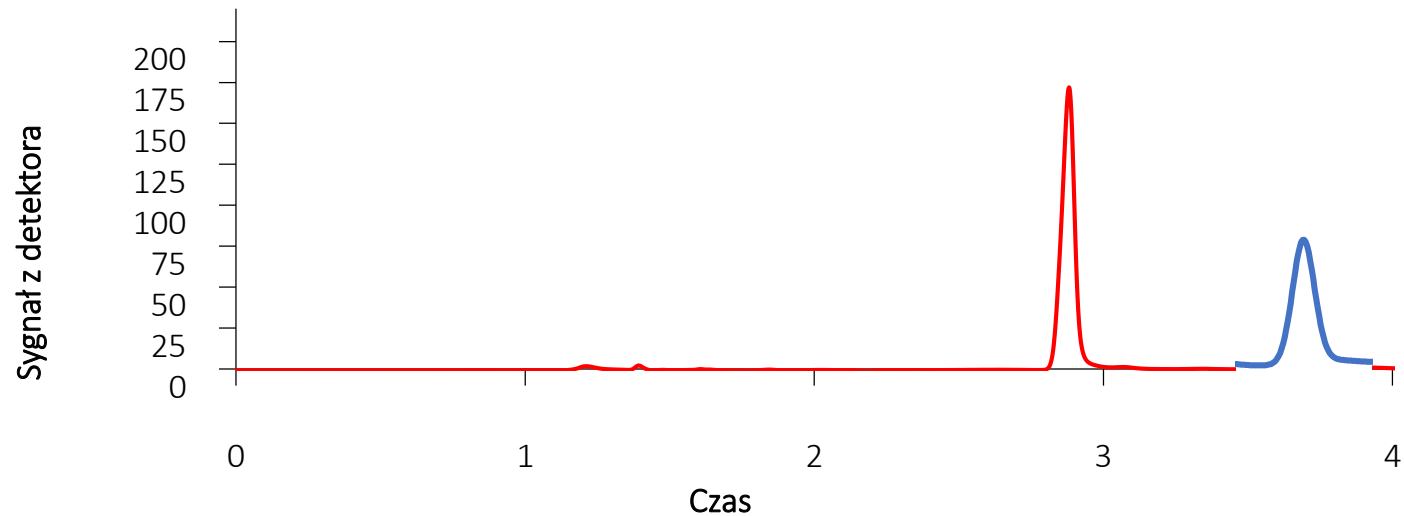
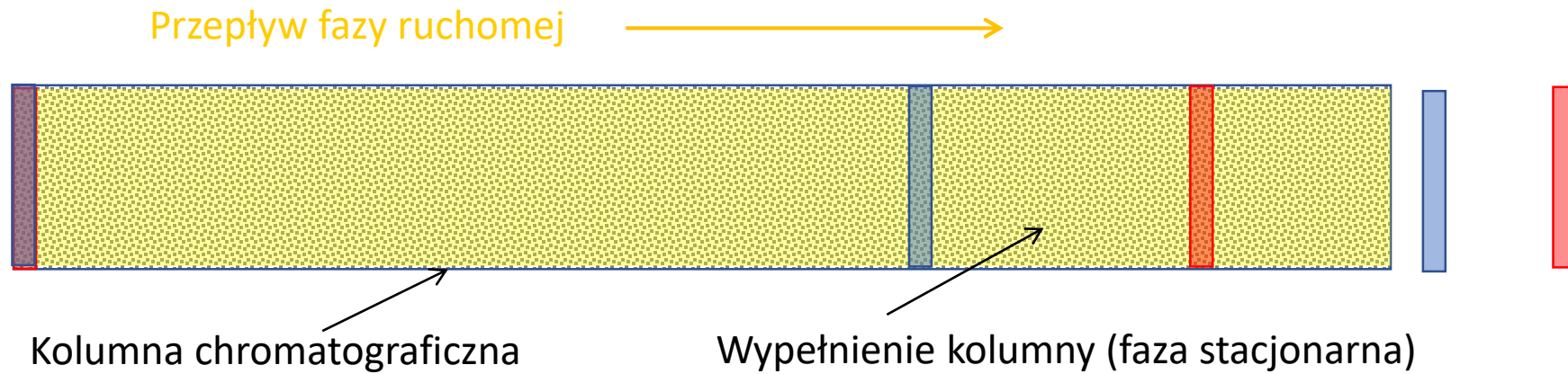
Termostat

Detektor

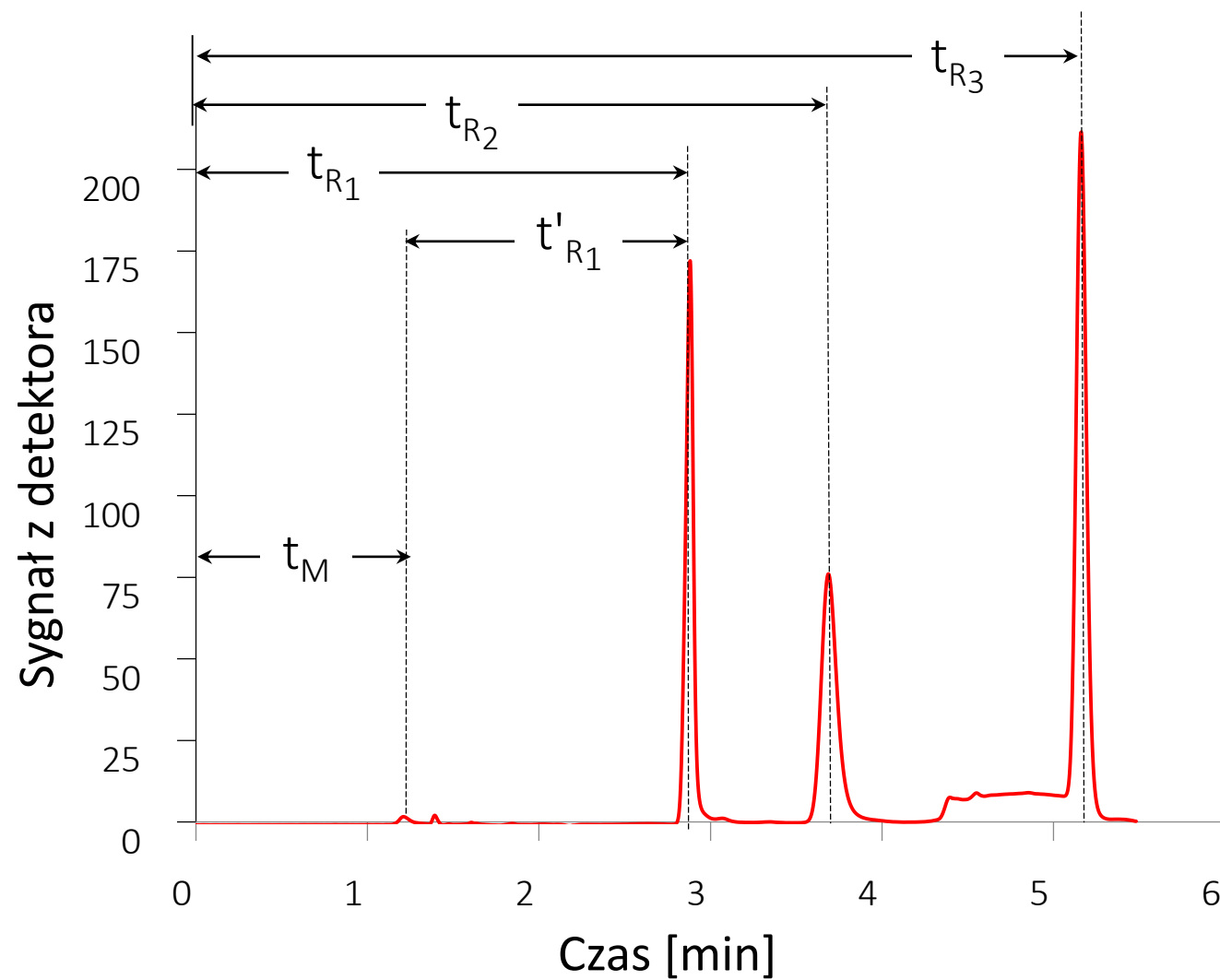
Oddziaływania między cząsteczkowe w chromatografii cieczowej



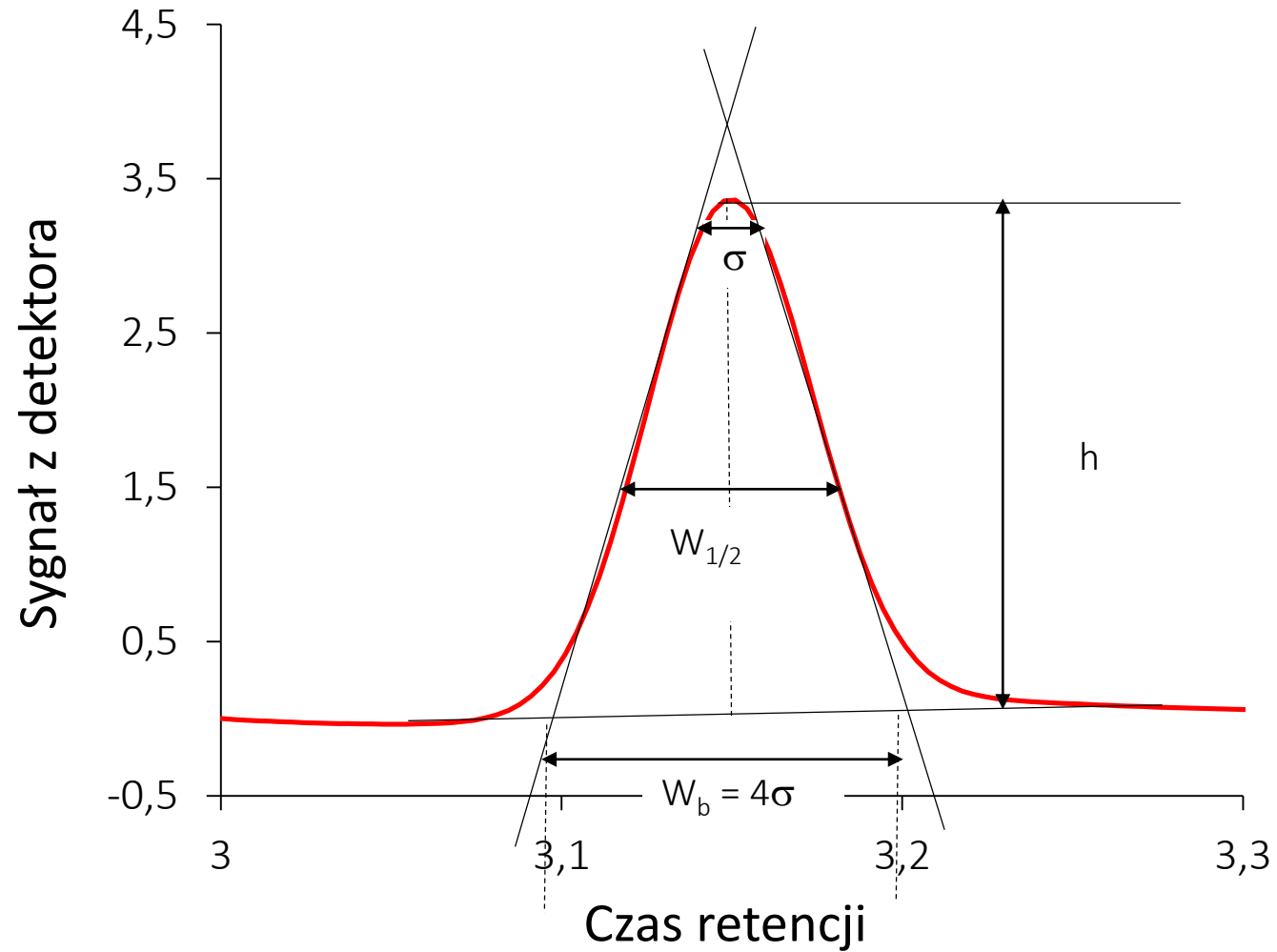
Schemat rozdzielania chromatograficznego



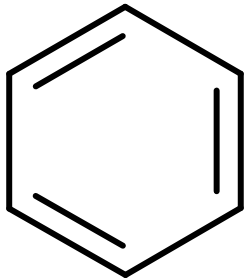
Krzywa elucji - chromatogram



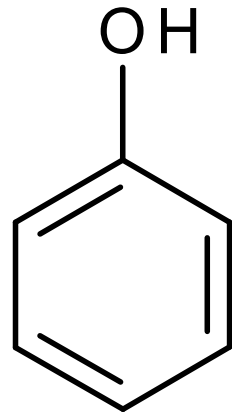
Pik chromatograficzny



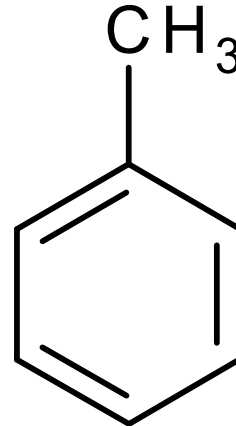
Właściwości badanych związków a kolejności elucji w RP-HPLC



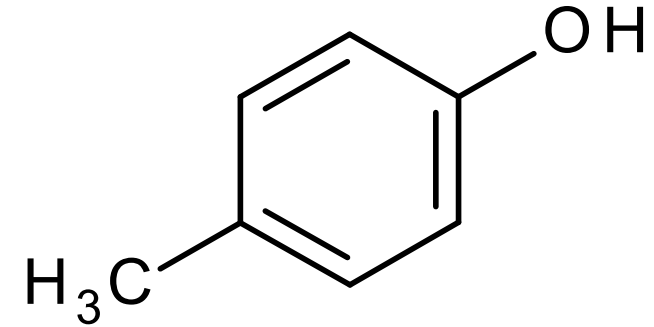
benzen



fenol



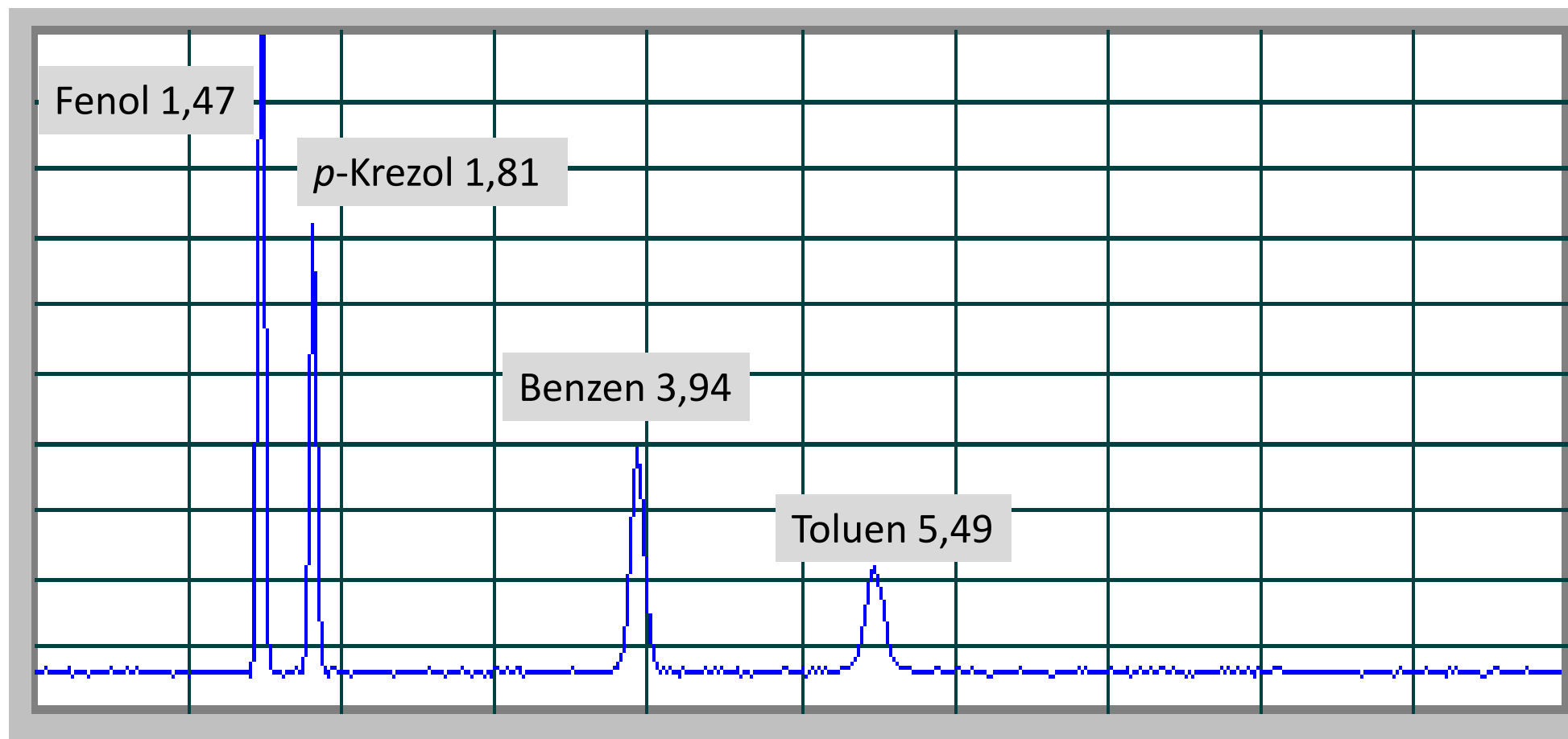
toluen



p-krezol



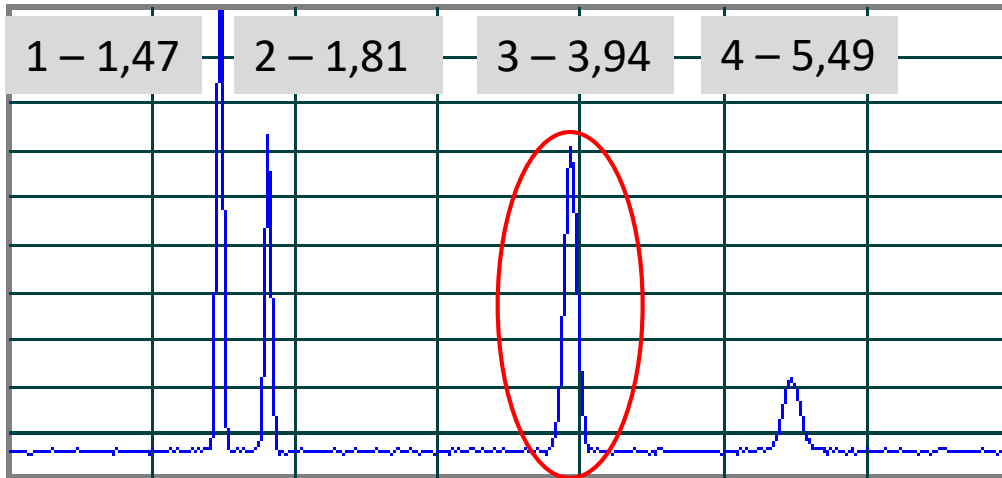
Kolejności elucji w odwróconym układzie faz



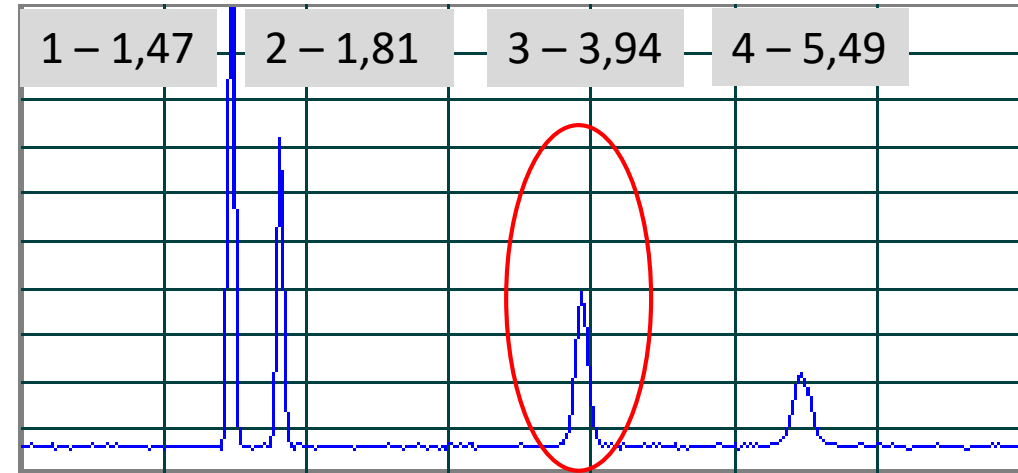
Identyfikacja analitów



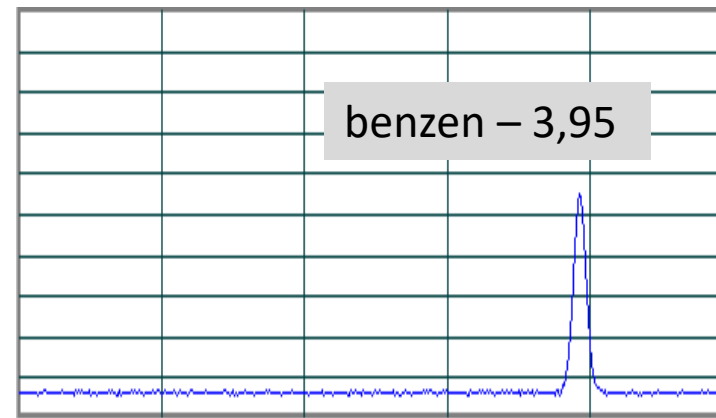
Mieszanina o nieznanym składzie
z dodatkiem standardu benzenu



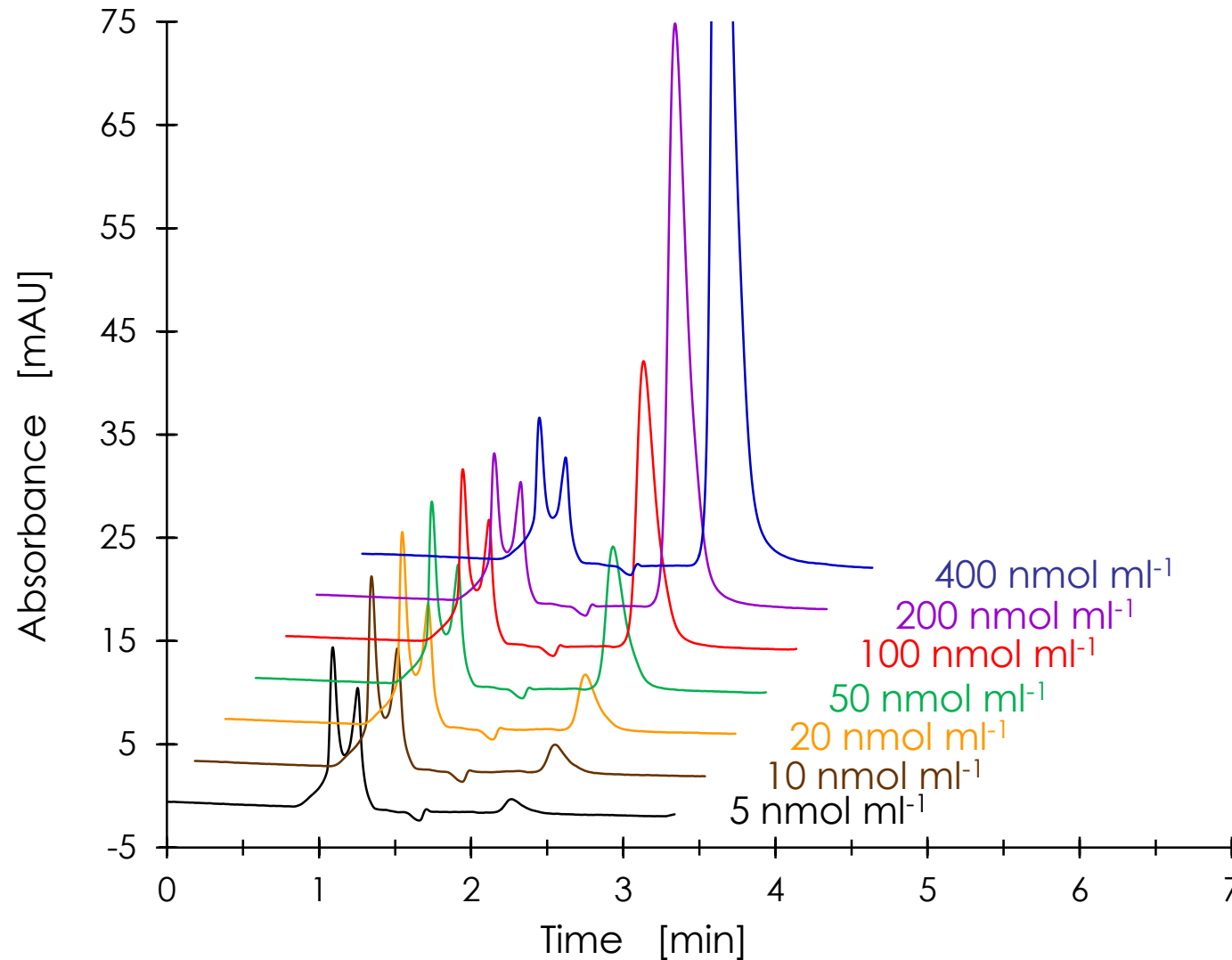
Mieszanina o nieznanym składzie



Roztwór standardowy
benzenu



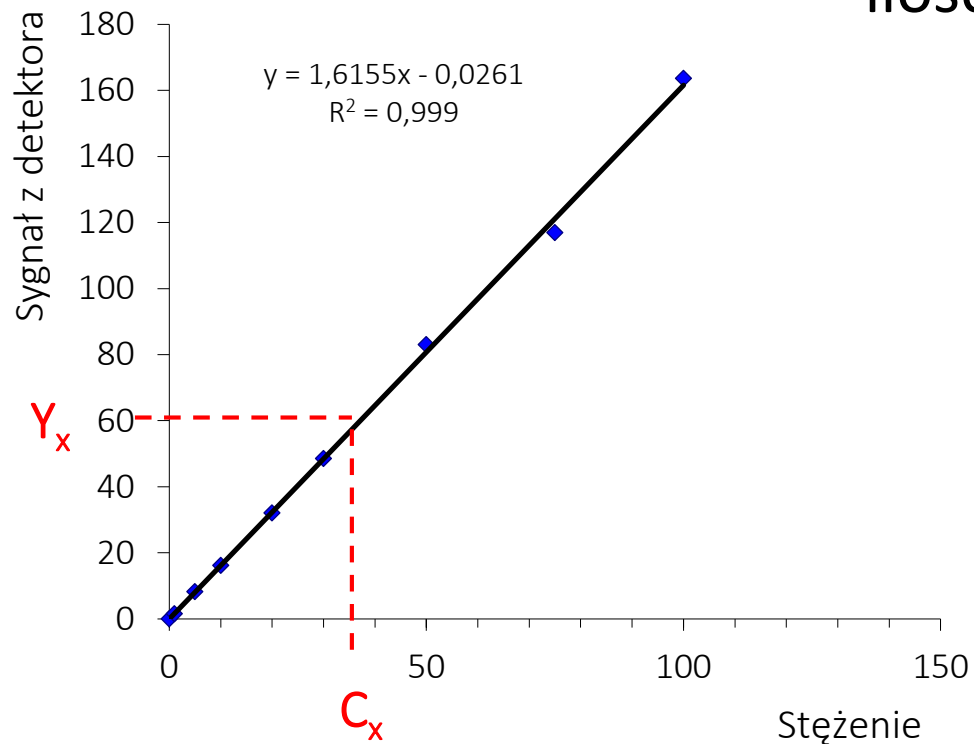
Oznaczanie analitów – krzywa kalibracyjna



Krzywa kalibracyjna



Pole powierzchni lub wysokość piku jest funkcją ilości (stężenia) oznaczanego składnika



$$Y = f(c) = ac + b$$

Y – sygnał z detektora

a – współczynnik kierunkowy prostej

c – stężenie analitu

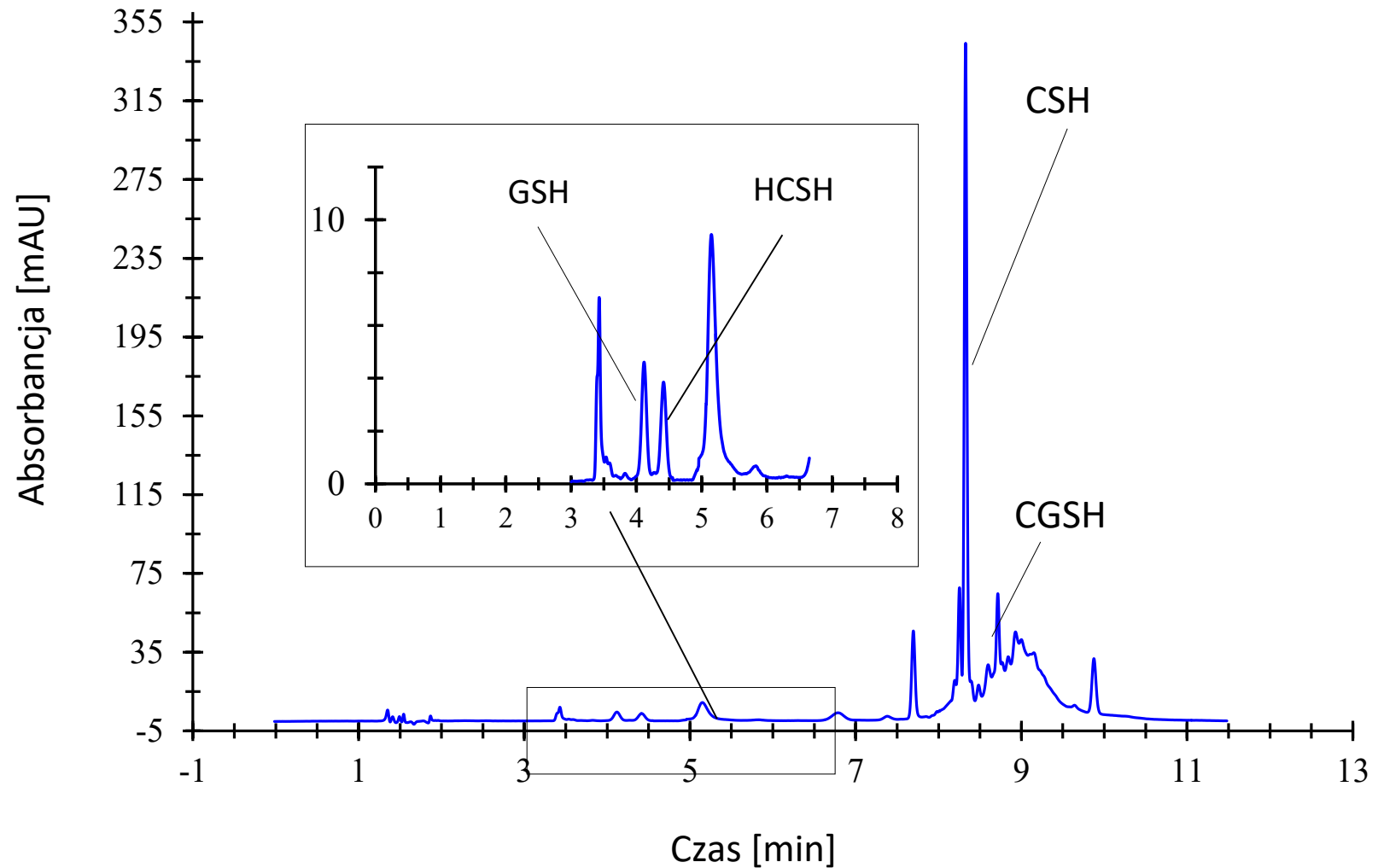
b – wartość stała, będąca wartością eksperymentalną ślepej próby ($b \rightarrow 0$)

Rodzaje oznaczeń prowadzonych z wykorzystaniem technik chromatograficznych

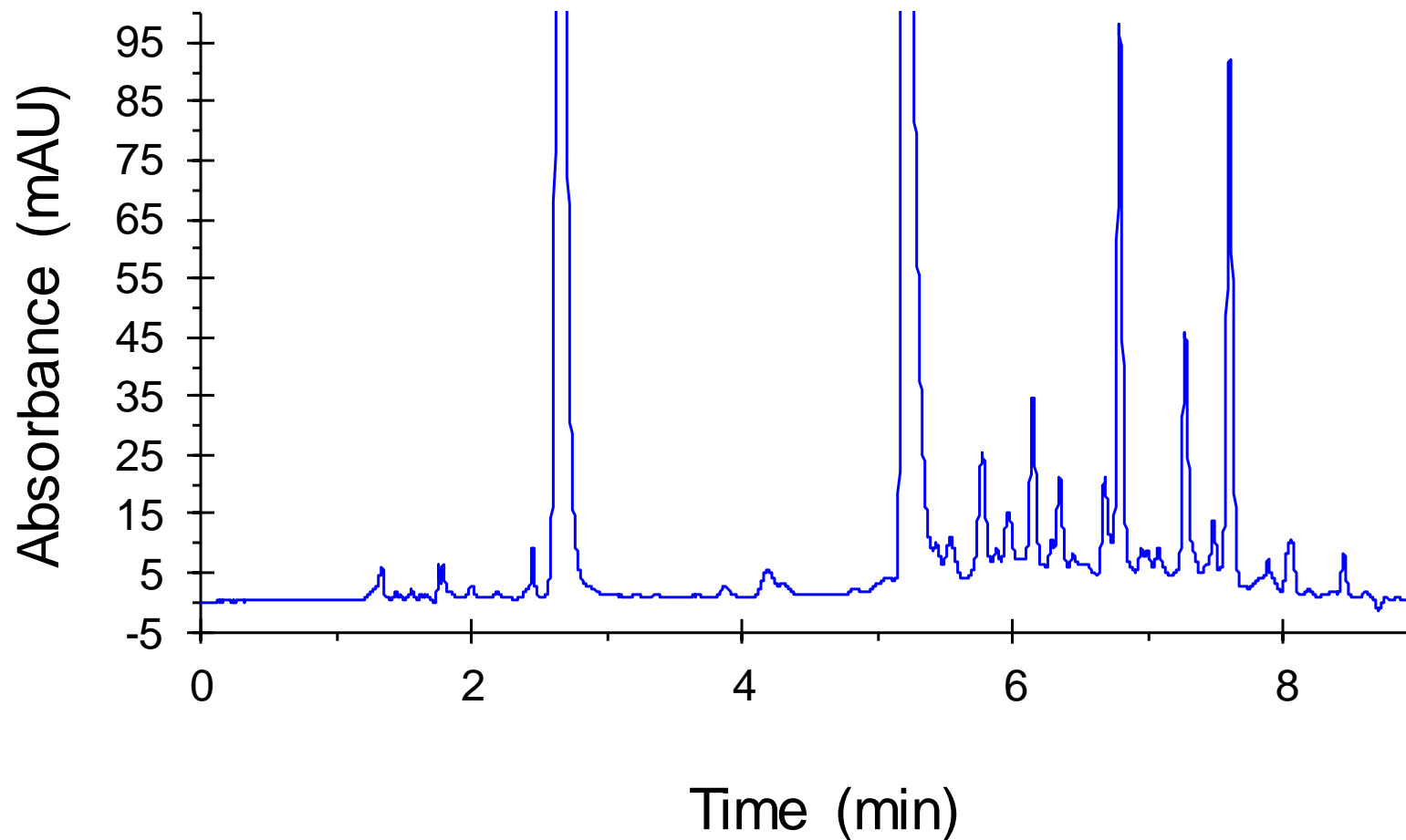


- ✓ Jakościowa i ilościowa analiza mieszanin związków nieorganicznych i organicznych:
 - kontrola procesów przemysłowych (przemysł chemiczny, spożywczy, farmaceutyczny),
 - kontrola zanieczyszczeń środowiska,
 - analiza kliniczna.
- ✓ Badania fizykochemiczne.
- ✓ Badania strukturalne związków organicznych.

Chromatogram próbki osocza



Chromatogram próbki moczu



Dziękuję za uwagę

