

НИУ «Ташкентский институт инженеров ирригации и механизации сельского хозяйства»

дисциплина «Инструментальные методы анализа»

ТЕМА

Тонкослойная хроматография. Схема хроматографического процесса. Хроматографический пик и его параметры.

Направление 5630101-экология и охрана окружающей среды (в водном хозяйстве)

ПЛАН

- Тонкослойная хроматография.
- Схема хроматографического процесса.
- Хроматографический пик и его параметры.

Общие сведения

Метод ТСХ был предложен в 1938 г. отечественными учеными Н.А. Измайловым и М.С. Шрайбер. Однако широкие возможности метода были открыты позднее благодаря работам Ю. Кирхнера и Э. Шталя, посвященным биохимии и фармацевтике.

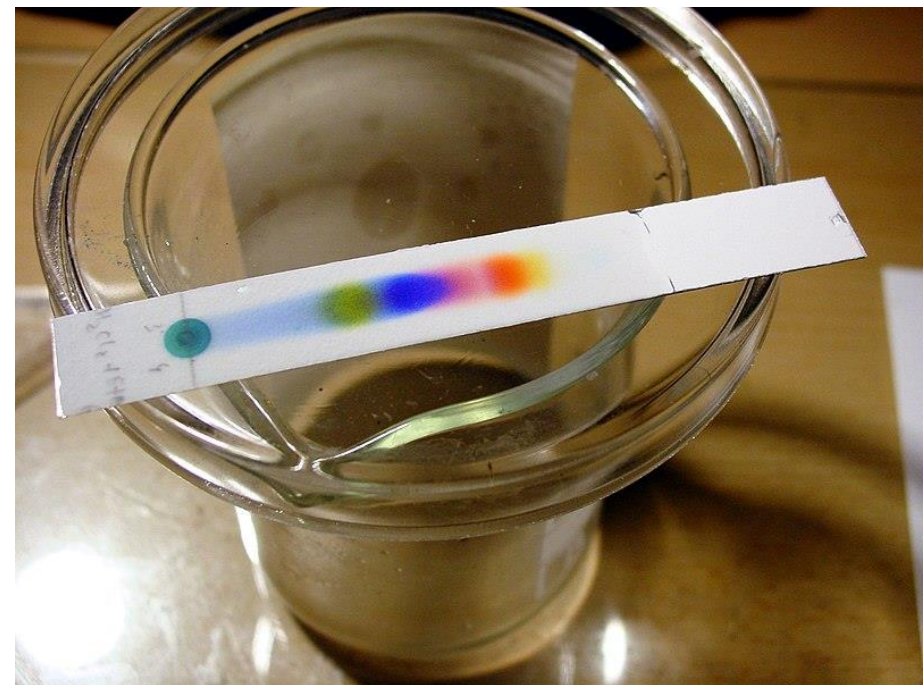
Тонкослойная хроматография (ТСХ) является одним из вариантов планарной хроматографии. *Планарная хроматография* — способ анализа, в котором процессы разделения смеси веществ осуществляются в плоском слое сорбента (неподвижной фазе).

ТСХ подразделяется :

на *бумажную* хроматографию- в качестве сорбента используется специальная бумага

тонкослойную хроматографию - процессы разделения происходят в тонких слоях сорбента, нанесенного на инертную твердую подложку, или в пленках пористого полимерного материала

Бумажная и тонкослойная хроматография сходны по технике выполнения анализа.

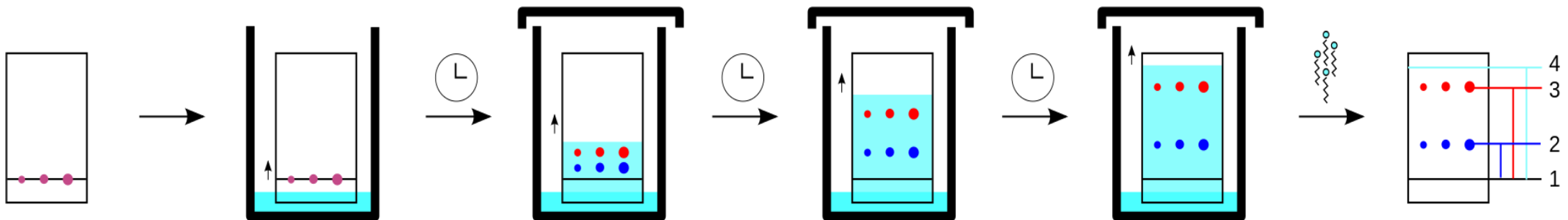


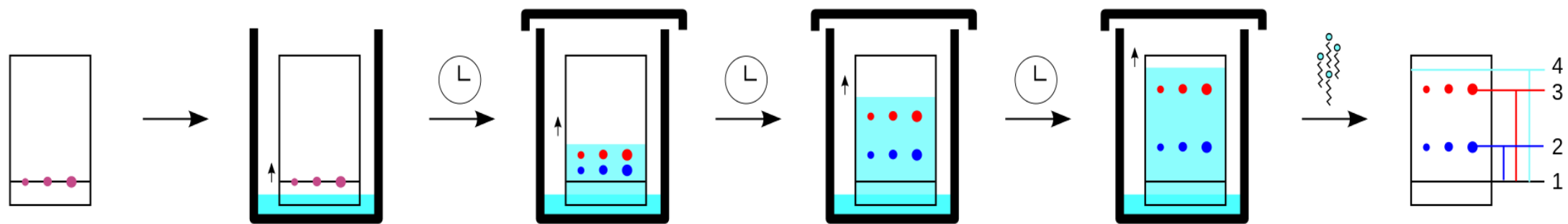
Тонкослойная хроматограмма чёрных чернил

Элюирование

После нанесения раствора исследуемой смеси веществ пластинка помещается в сосуд, в котором на дне налит слой элюента. При погружении нижнего края пластины в жидкость элюент под действием [капиллярных](#) сил начинает подниматься вверх по хроматографическому слою. Чтобы избежать испарения летучего элюента с поверхности пластинки в процессе хроматографирования, сосуд герметизируют. После того, как линия фронта достигнет достаточной для анализа высоты, пластинку извлекают и высушивают. Расстояние, проходимое линией фронта, принято отсчитывать от линии старта. Его выбирают достаточным для последующей идентификации разделённых веществ на поверхности пластинки. Разделение компонентов смеси улучшается с увеличением этого расстояния, но существует оптимальное значение, которое для обычных пластин составляет 12—15 см. Это обусловлено тем, что капиллярные силы действуют на линии фронта смачивания, и подвижная фаза по мере продвижения по хроматографическому слою испытывает всё меньшее воздействие капиллярных сил из-за уравнивания их силой тяжести.

При проведении хроматографии для продвижения фронта на оптимальную длину требуется, в зависимости от вязкости элюента, от 45 до 150 минут. В высокопроизводительной ТСХ упаковка частиц хроматографического слоя плотнее, оптимальная дистанция составляет приблизительно 6 см, а элюирование занимает от 15 до 50 минут [\[13\]](#).





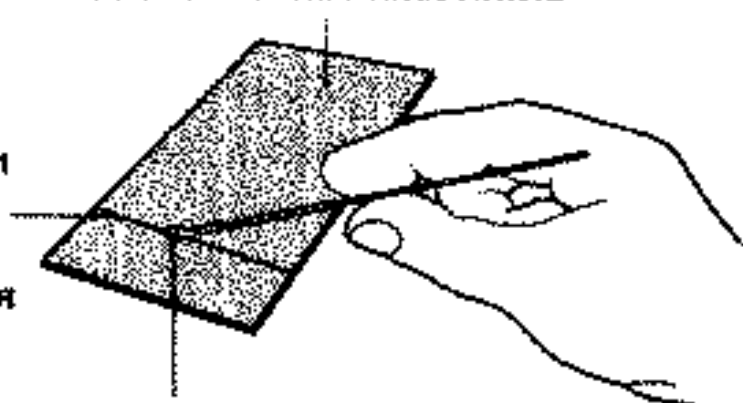
Приготовление тонкослойной хроматограммы

Прохождение хроматограммы

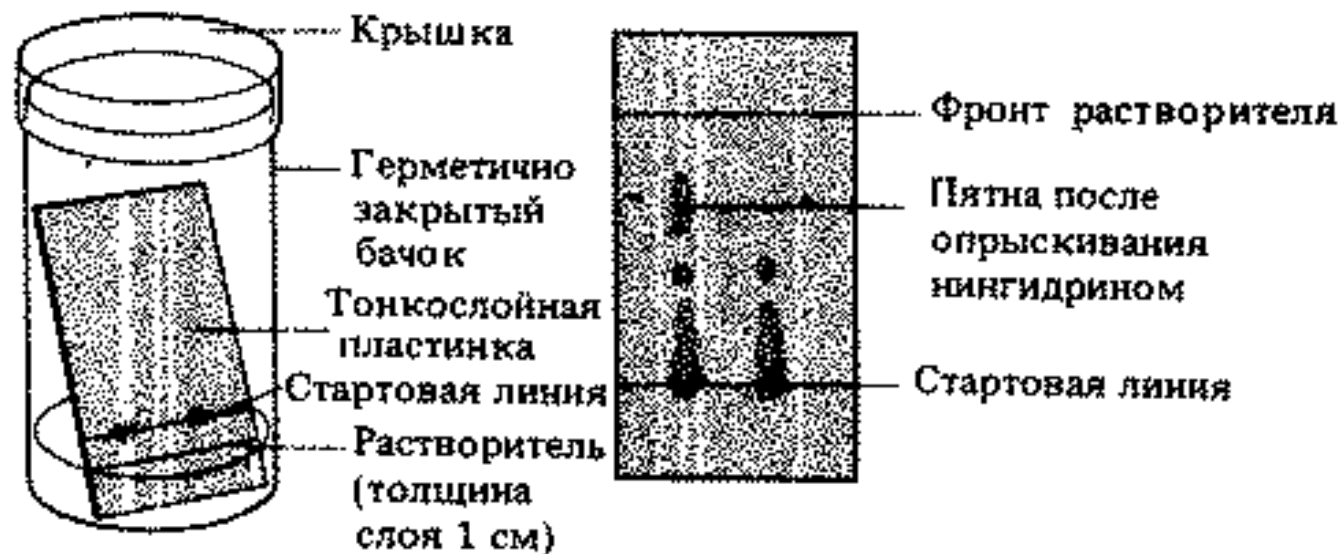
Хроматограмма после опрыскивания нингидрином

Готовая к использованию тонкослойная пластинка

Проведите карандашом линию на расстоянии 2 см от края



С помощью маленькой проволочной петли нанесите небольшую каплю экстракта



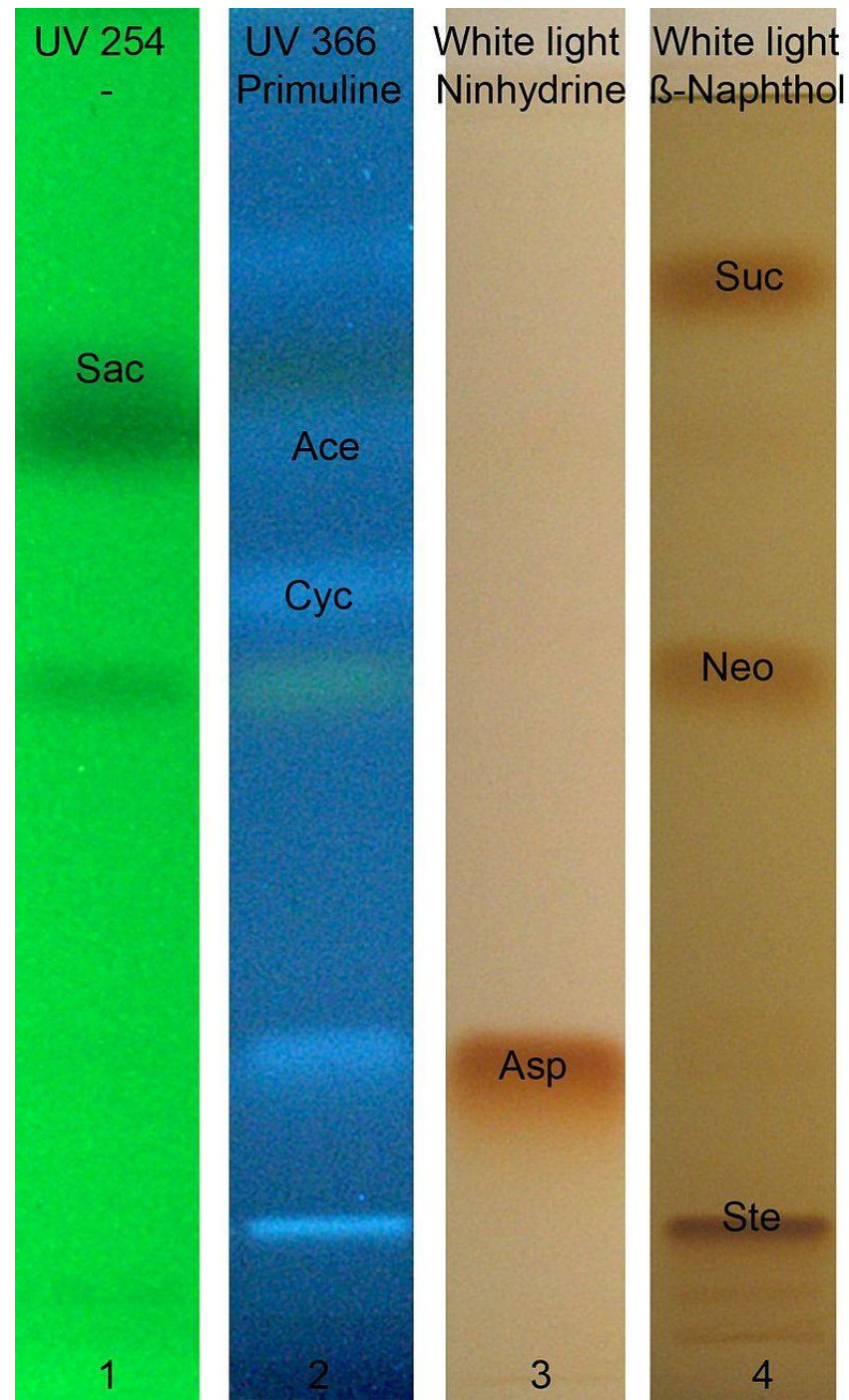
Визуализация

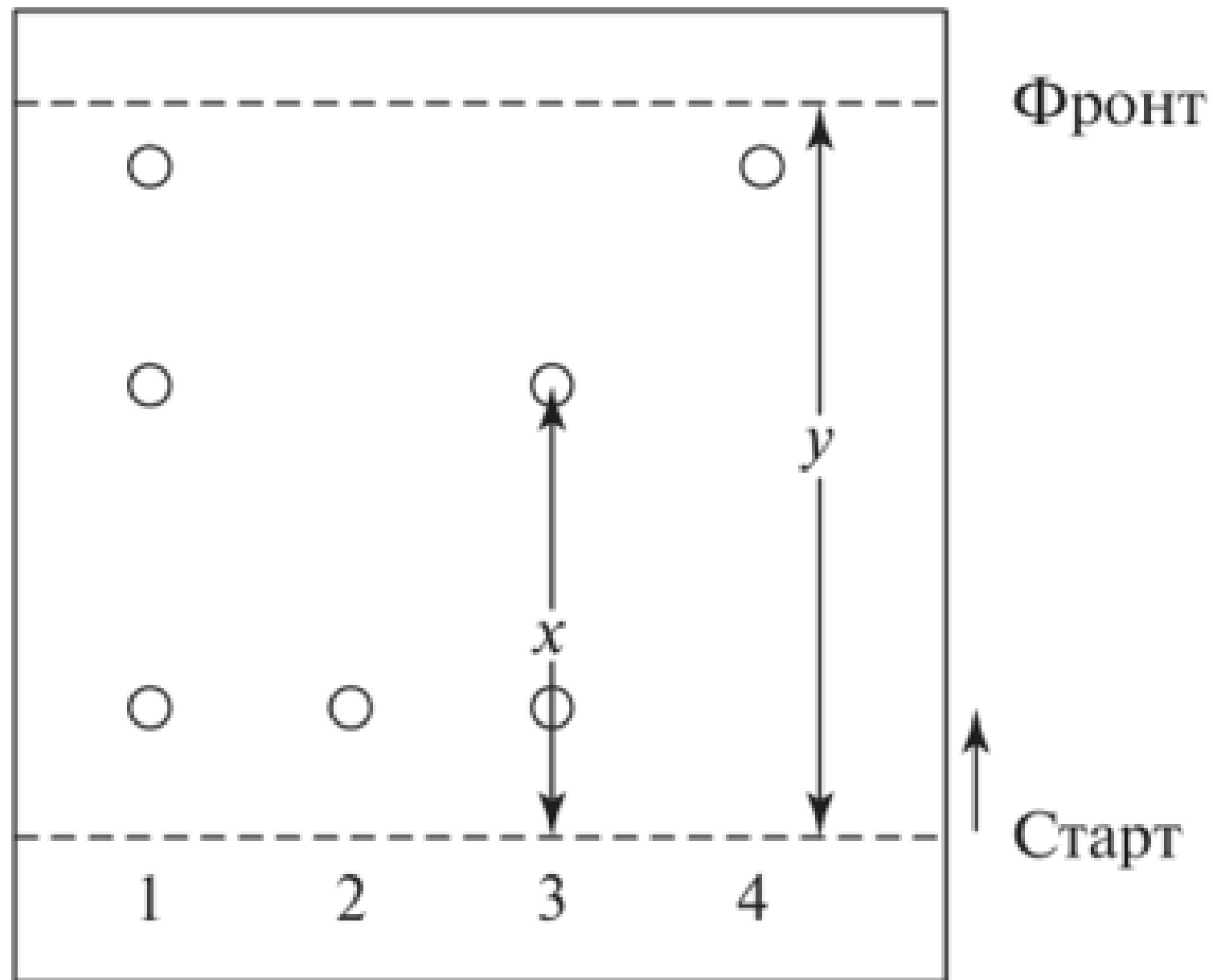
После элюирования разделяемые вещества смеси оказываются расположенными на поверхности пластинки в определённых положениях. Для определения их положений на пластинке предложен ряд методов. Если вещество окрашено, то положение пятна определяют визуально невооруженным глазом, какая-либо дополнительная обработка реактивами или визуализация иными методами не требуется. Однако большинство органических соединений бесцветны. Если вещество поглощает в ультрафиолетовой области, то оно визуализируется на пластинке с флуоресцентным индикатором F_{254} под ультрафиолетовым излучением (пятна таких веществ на пластинке выглядят либо тёмными, либо флуоресцирующими)^[14].

Широко применяются более или менее селективные химические методы визуализации, в которых реагент или раствор, который используется для визуализации, называют **проявителем**. Например, простейший метод заключается в обработке парами [иода](#), при этом сорбированные вещества становятся тёмно-коричневыми, а фон остаётся светлым. Универсальные методы основаны на применении растворов различных [кислот](#) или [окислителей](#), при нагревании с которыми вещества определённых классов образуют коричневые или чёрные пятна. Селективные реагенты, например, [нингидрин](#), позволяют визуализировать соединения конкретного класса — [амины](#) и [аминокислоты](#)^[14].

Другим проявителем для обнаружения аминов и [алкалоидов](#) служит [реактив Драгендорфа](#).

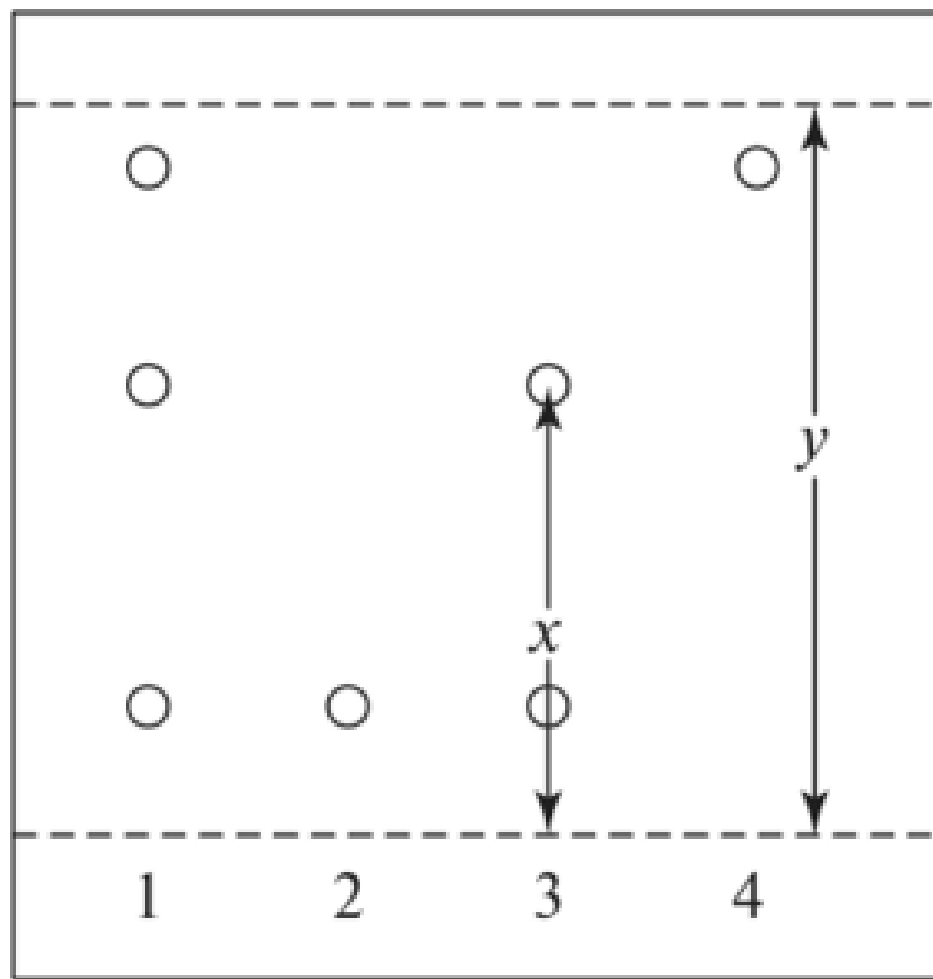
Хроматографические тонкослойные пластинки также могут быть использованы в биологических тестах для выявления веществ с биологической активностью к [микроорганизмам](#) методом посева культур микроорганизмов в питательной среде на пластины^[14].





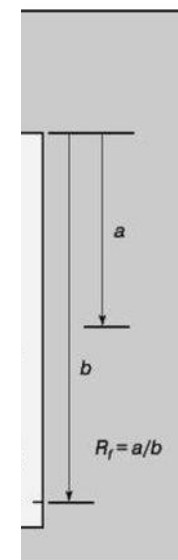
Тонкослойная хроматография

- Подложка + С**
- стекло - С
 - пластмасса - Ш
 - алюминий - С

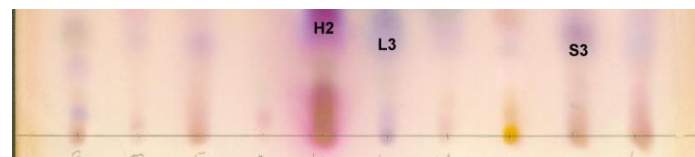


афия (ТСХ)

Фронт



Старт



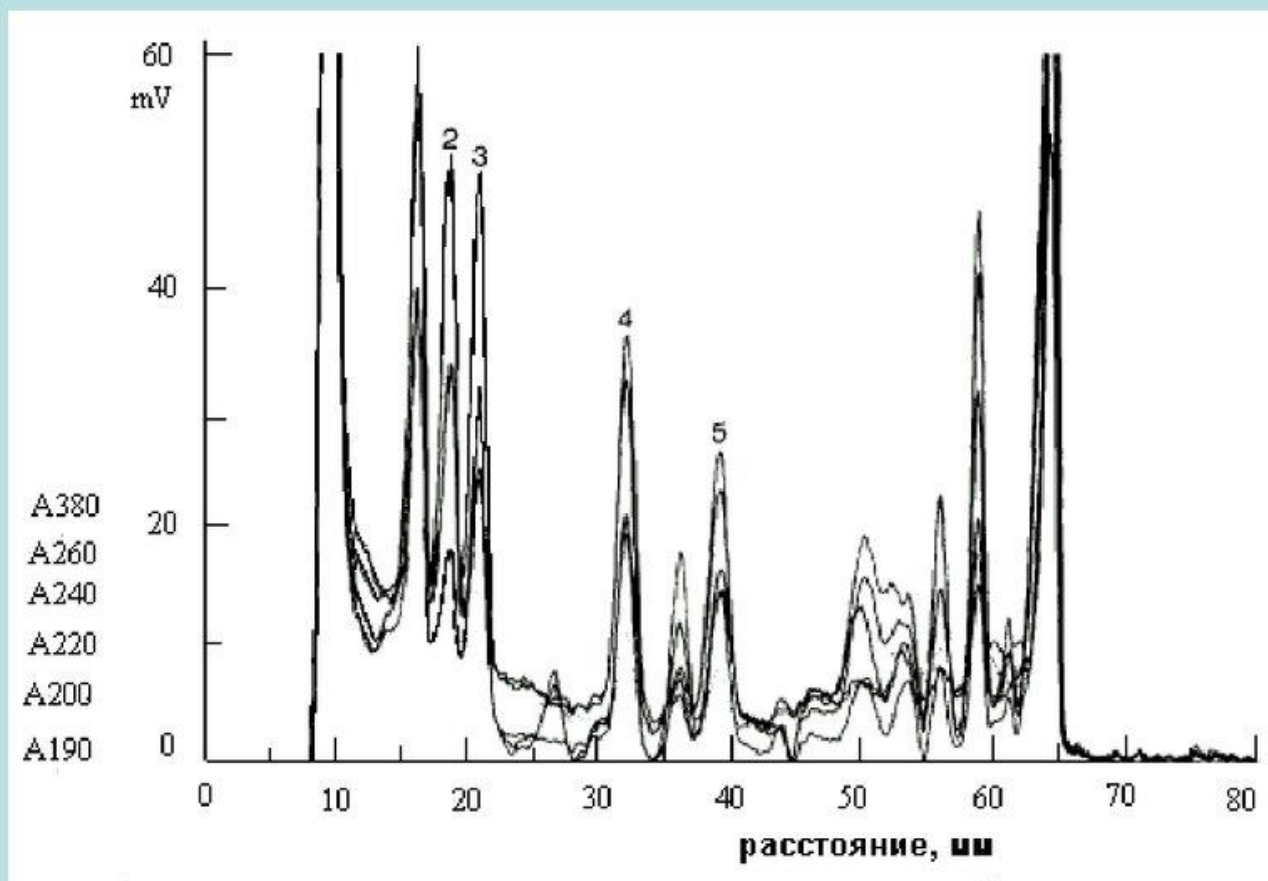
Реагенты для обнаружения некоторых органических соединений

Класс соединений	Реагент	Окраска пятен
Кислоты	Бромкрезоловый зеленый	Зеленое пятно на зеленом фоне
Спирты	Церий-аммоний-нитрат	Коричневое пятно на зеленом фоне
	8-Оксинолинат ванадия (V)	Красное пятно на зеленом фоне
Альдегиды	2,4-Динитрофенилгидразин	От желтого до красного на бледно-оранжевом фоне
Амины	Тиоцианат кобальта	Голубое пятно на розово-белом фоне
	4-Хлор-5,7-динитробензофуразан	Оранжево-красные, зеленые, синие пятна на желтом фоне

ТСХ использование высокоэффективных пластинок позволяет:

- увеличить число анализируемых проб за счет уменьшения размеров зон адсорбции первичной хроматограммы: диаметра пятен (до 1 – 2 мм) или длины полос (до 5 – 10 мм);
- значительно увеличить разделительную способность системы;
- снизить пределы обнаружения и количественного определения анализируемых веществ в 10 – 100 раз.

Денситограмма ТСХ-хроматограммы питьевой воды с добавкой гербицидов (20 нг в пробе)



1 – метоксурон; 2 – монурон; 3 – хлортолурун; 4 – небурон; 5 – линурон при различных длинах волн (200; 220; 240; 260; 280; 300 нм).

ПРИМЕНЯЕМЫЕ В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ МЕТОДЫ АНАЛИЗА И ИССЛЕДОВАНИЯ

Хроматографические



Высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC).



Тонкослойная хроматография (TLC).



Рентгенофлуоресцентный анализ



Спектрофотометрия в УФ и видимой области.



Газовая хроматография и хромато-масс-спектрометрия (GC; GC-MS).



Химические



Вопросы для самоконтроля

- 1. Опишите основы тонкослойной хроматографии и методику проведения анализа.
- 2. Каким образом осуществляется обработка тонкослойных пластинок?
- 3. Как проводится идентификация компонентов в анализируемой смеси и количественный анализ в методе ТСХ?

ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедева М.И. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа: учеб. Пособие. Тамбов: Изд-во Тамб. гос. техн. ун-та, 2005. 216с.
2. Saloxiddinov A.T., Nishonov B.E., Razikova I.R., Yo'ldosheva CH.A. "Ekologiya" fanidan laboratoriya ishlarini o'tkazish bo'yicha uslubiy qo'llanma. TIQXMMI, Toshkent, 2016. 33b.
3. Инструментальные методы анализа: лаборатор. практикум: [учеб.-метод. пособие] / [В. И. Кочеров, И. С. Алямовская, Н. Е. Дариенко, С. Ю. Сараева Т. С. Свалова, А. И. Матерн]; под общ. ред. С. Ю. Сараевой; М-во образования и науки Рос. Федерации, Урал, федер. ун-т. - Екатеринбург : Изд-во Урал, ун-та, 2015. - 96 с. ISBN 978-5-7996-1385.
4. Химические и инструментальные методы анализа : учеб. пособие / С. Ю. Сараева, А. В. Иванова, А. Н. Козицина, А. И. Матерн ; под общ. ред. В. И. Кочерова ; М-во образования и науки Рос. Федерации, Урал. федер. унт. Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2021. — 216 с.