

2.2.27. ТОНКОШАРОВА ХРОМАТОГРАФІЯ

▼ПРИНЦИП▲

Тонкошарова хроматографія являє собою метод розділення, в якому нерухома фаза складається з придатного матеріалу, нанесеного як однорідний тонкий шар і зафіксованого на основі (пластинці) зі скла, металу або пластмаси. Перед хроматографуванням розчини речовин, що аналізуються, наносять на пластинку. Розділення базується на процесах адсорбції, розподілу, іонного обміну або їх комбінації і здійснюється за допомогою міграції (елюювання) у тонкому шарі (нерухомій фазі) випробовуваних речовин, розчинених у розчиннику або в підходящій суміші розчинників (рухомій фазі).

ОБЛАДНАННЯ

Пластинки. Хроматографування проводять із використанням пластинок, що попередньо вкриті тонким шаром, як зазначено в розділі 4.1.1 «*Реактиви*». ▼У монографії, яка передбачає можливість використання звичайних і високоефективних пластинок, ▲ розмір частинок силікагелю зазначають ▼у дужках (▲) після назви реактиву.

Попередня підготовка пластинок. У деяких випадках може бути необхідне промивання пластинок перед хроматографуванням, яке може бути виконане за допомогою попереднього елюювання пластинки в підходящому розчиннику. Пластинки можуть бути також імпрегновані (просочені) за допомогою таких процедур, як елюювання, занурення або обприскування. Якщо необхідно, перед використанням пластинки активують нагріванням у термостаті за температури 120 °С протягом 20 хв.

Хроматографічна камера являє собою ємність із плоским дном або дном із двома жолобами, яка виготовлена з інертного прозорого матеріалу, відповідає за розміром використовуваним пластинкам і споряджена щільно припасованою кришкою. Камера для горизонтального елюювання має жолоб для рухомої фази й додатково споряджена пристроєм для подачі рухомої фази до нерухомої.

Мікропіпетки, мікрошприци, калібровані одноразові капіляри або інші пристрої, придатні для нанесення розчинів.

Пристрій для детектування флуоресценції, за допомогою якого оцінюють безпосередньо флуоресценцію або її гасіння.

Пристрої для візуалізації та реактиви. Для дериватизації використовують підходящі пристрої: для нанесення реактивів на пластинку обприскуванням, обробленням парою або зануренням і, якщо необхідно, такі,

що забезпечують нагрівання для візуалізації розділених компонентів.

Документування. Для документування візуалізованих хроматограм можуть бути використані, наприклад, фотографічні знімки або комп'ютерні файли.

▼ПРОЦЕДУРА▲

Нанесення зразка. Наносять зазначені об'єми розчинів на лінію, паралельну нижньому краю, на підходящій відстані від нижнього краю і від сторін пластинки; допускають відстань мінімум 10 мм (5 мм для високоефективних пластинок) між центрами округлих плям і 5 мм (2 мм для високоефективних пластинок) між сторонами смуг. Розчини наносять достатньо малими порціями, одержуючи круглі плями від 2 мм до 5 мм у діаметрі (від 1 мм до 2 мм для високоефективних пластинок) або смуги завдовжки від 10 мм до 20 мм (від 5 мм до 10 мм для високоефективних пластинок) і завширшки від 1 мм до 2 мм.

Якщо допускається використання як звичайних, так і високоефективних пластинок, експериментальні умови для високоефективних пластинок зазначають у монографії в дужках [] після зазначення таких для звичайних пластинок.

Вертикальне елюювання. Стінки хроматографічної камери вистилають фільтрувальним папером. Наливають у камеру рухома фаза в кількості, достатній для того, щоб після змочування фільтрувального паперу покрити дно камери шаром рідини, що відповідає розміру використовуваної пластинки. Для насичення хроматографічну камеру з рухома фазаю закривають кришкою і витримують протягом 1 год за температури від 20 °С до 25 °С. Якщо в монографії не зазначено інше, хроматографічне розділення проводять у насиченій камері. Зазначені об'єми розчинів наносять, як описано вище. Після випаровування розчинників з нанесених проб пластинку поміщають у хроматографічну камеру якомога більш вертикально, стежачи за тим, щоб плями або смуги були вище поверхні рухомої фази. Камеру закривають і залишають її за температури від 20 °С до 25 °С у захищеному від прямих сонячних променів місці. Пластинку виймають після того, як рухома фаза пройде зазначену в монографії відстань, вимірювану між точками нанесення зразків і фронтом розчинника. Пластинку висушують і візуалізують хроматограми способом, зазначеним у монографії.

У разі двовимірної хроматографії після першого елюювання пластинку висушують і проводять друге елюювання в напрямку, перпендикулярному до першого.

Горизонтальне елюювання. Зазначені об'єми розчинів наносять, як описано вище. Після випаровування розчинників з нанесених проб у жолоб хроматографічної камери вводять за допомогою шприца або