

ІНСТРУКЦІЙНО-ТЕХНОЛОГІЧНА КАРТА №21

Професія: 8229«Лаборант хіміко-бактеріологічного аналізу»

Кваліфікація: Лаборант хіміко-бактеріологічного аналізу, кваліфікація 2 розряду

Тема модуля: Модуль ЛХБА 2. 2. -90 год.

Тема уроку: Проведення хроматографії .

Час виконання: 6 годин

№ з/п	Зміст завдання та послідовність виконання	Обладнання, механізми, інструмент, матеріали, захисні засоби	Вказівки щодо виконання завдання
1	2	4	5
1.	Інструктаж з охорони праці та організації робочого місця за змістом занять	Інструкція з охорони праці та організації робочого місця за змістом занять	1. Отримати інструктаж з охорони праці та організації робочого місця за змістом занять 2. Дати відповіді на отримані питання щодо інструктажу
2.	Проведення хроматографії	мікропіпетки, пульверизатор у разі використання пластинок Silufol або джерело ультрафіолетового світла у разі використання пластинок Silufol-UV, хроматографічна камера, лінійка, простий олівець, планіметр, сушильна шафа.	Паперова хроматографія (ПХ, paper chromatography) є різновидом розподільної хроматографії, розділення речовин відбувається внаслідок їх розподілу між волокнами целюлози (НФ) і розчинником (РФ). У НФ речовина може утримуватися завдяки: - розчиненню в адсорбованій папером воді (зв'язана вода навіть у висушеному папері міститься у значній кількості); - адсорбційним ефектам на папері; - іонообмінному механізму, бо целюлоза може частково окислюватись. Для ПХ застосовується якісний папір, який може бути модифікованим відповідно до поставлених завдань. Хроматографічний папір має бути хімічно чистим, нейтральним, інертним по відношенню до компонентів розчину і РФ, бути однорідним по щільності. Розчинники РФ і НФ не повинні змішуватися, склад розчинника в процесі хроматографування не повинен змінюватися, розчинники повинні легко віддалятися з паперу. Індивідуальні розчинники використовуються досить рідко. Для поділу водорозчинних речовин, наприклад, неорганічних іонів, як РФ зазвичай беруть органічний розчинник, а як НФ – воду (папір заздалегідь змочують водою). Розчинниками є спирти (метанол, етанол, н-пропанол, бутанол), прості ефіри (етиловий, метиловий), кетони (ацетон, ацетил-ацетон), ефіри органічних

			кислот (метилацетат, етилацетат), піридин, хлороформ. Частіше використовуються суміші розчинників. перименту. За технікою виконання розрізняють такі види ПХ: одновимірна (висхідна і спадна), двовимірна, кругова й електрофоретична. Одновимірна хроматографія Для одновимірної хроматограми використовують скляні герметичні камери, паперові смуги шириною 4,5-5 см і завдовжки 30-50 см. Якщо елюент рухається на паперу вгору, метод називають висхідною ПХ (рис. 15., а, а1); при його русі зверху вниз – спадною ПХ (рис. 15, б). На нижню частину смужки фільтрувального паперу наносять краплину досліджуваного розчину. Папір уміщують у циліндр, на дно якого наливають РФ – розчинник. Нижній край паперової смужки занурюють у розчинник так, щоб нанесена пляма знаходилася трохи вище від рівня розчинника. Циліндр закривають кришкою. Під впливом капілярних сил РФ піднімається вгору. Завдяки різній розчинності компонентів суміші в розчиннику та їх різній адсорбційній здатності на папері утворюються зони, що відрізняються за складом. Коли рівень підйому досягне 2 см від верхнього краю, смужку паперу виймають, відзначають рівень фронту розчинника й висушують. Після цього, якщо потрібно, зони проявляють певними реагентами. Двовимірна хроматографія Іноді при складному вмісті проби не вдається розділити її компоненти за допомогою одного розчинника, тоді застосовують двовірну хроматографію. Для цього методу застосовують листи паперу розміром $\approx 20 \times 25 - 40 \times 45$ см. Використовуючи принцип висхідної хроматографії, розділяють суміш на ряд зон. У кут квадратного аркуша наносять розчин проби і хроматографують спочатку в одному елюенті, папір висушують. Потім, повернувши хроматограму на 90°, щоб одержані зони знаходились над розчинником, – в іншому. При цьому кожна зона знову розділяється на плями (рис. 16). Методика дозволяє проводити більш точний поділ суміші. Рис. 16. Двовірна хроматографія суміші барвників Радіальна хроматографія Дуже швидко можна здійснити хроматографічний аналіз методом радіальної ПХ (рис.15, в), в якому використовується паперове коло (рис.15, г) з ґнотом, опущеним у елюент. Краплину
--	--	--	---

			досліджуваного розчину вміщують в центр кола зверху і висушують. Потім папір поміщають у герметичну камеру і один її кінець занурюють в розчинник, який є РФ. Розчинник підводиться знизу до центру за допомогою паперової смужечки, він переміщається від центру кола до периферії, розчиняючи і захоплюючи за собою компоненти зразка. Після того, як розчинник пройде певну відстань, лист виймають і сушать. Плями, які утворилися, можуть бути як видимими, так і невидимими, виявляють і відзначають. Радіальну хроматографію можна проводити в чашці Петрі. Окремі зони розташовуються навколо плями у вигляді концентричних кіл. Електрофоретична хроматографія Електрофоретичні хроматограми на папері отримують шляхом поєднання розподільної хроматографії з електрофорезом при проведенні їх одночасно або роздільно. Додатковий вплив електричного поля призводить до більш чіткого розподілу, особливо для іонів з різними зарядами. Тонкошарова хроматографія (ТШХ, Thin-layer chromatography, TLC) є площинним різновидом рідинної хроматографії, в якій елюент (РФ) рухається в шарі сорбенту за рахунок так званих капілярних сил. ТШХ може бути адсорбційного (більш поширений) і розподільного типів. Іонообмінна хроматографія (ІОХ, Ion exchange chromatography) В основі методу лежить зворотній процес обміну між іонами аналізованої речовини (РФ, розчин) та іоногенними групами сорбентів (іонітів) у результаті електростатичних взаємодій
3.	Прибрати робоче місце		

Майстер в/н

Л.А.Савчук