



GIỚI THIỆU MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH SẮC KÝ (2)



CHƯƠNG 20

MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH SẮC KÝ

20.7 SẮC KÝ KHÍ GC (Gas Chromatography)

- Nguyên tắc
- Hệ sắc ký khí
- Kỹ thuật thực nghiệm & ứng dụng

NGUYÊN TẮC

Sắc ký khí (GC): PP sắc ký mà φ_m là chất khí hoặc ở dạng hơi

Sắc ký khí hấp phụ

φ_s là chất hấp phụ rắn

**Sắc ký khí phân bố
(SK khí – lỏng)**

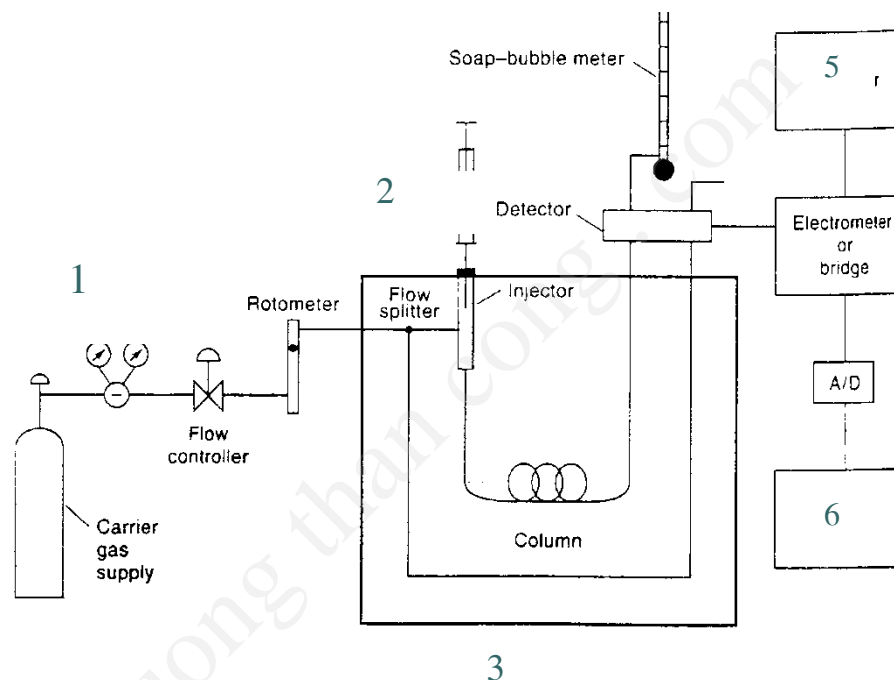
φ_s là màng mỏng chất lỏng trên bề mặt chất hấp phụ rắn

Các đại lượng đặc trưng cho quá trình GC bao gồm thời gian lưu, hệ số phân bố, hệ số chứa, hệ số chọn lọc, độ phân giải, chiều cao đĩa lý thuyết ...

Nhìn chung, các mẫu được bay hơi cho đến 450°C mà không bị phân hủy đều có thể được nghiên cứu trên GC

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ

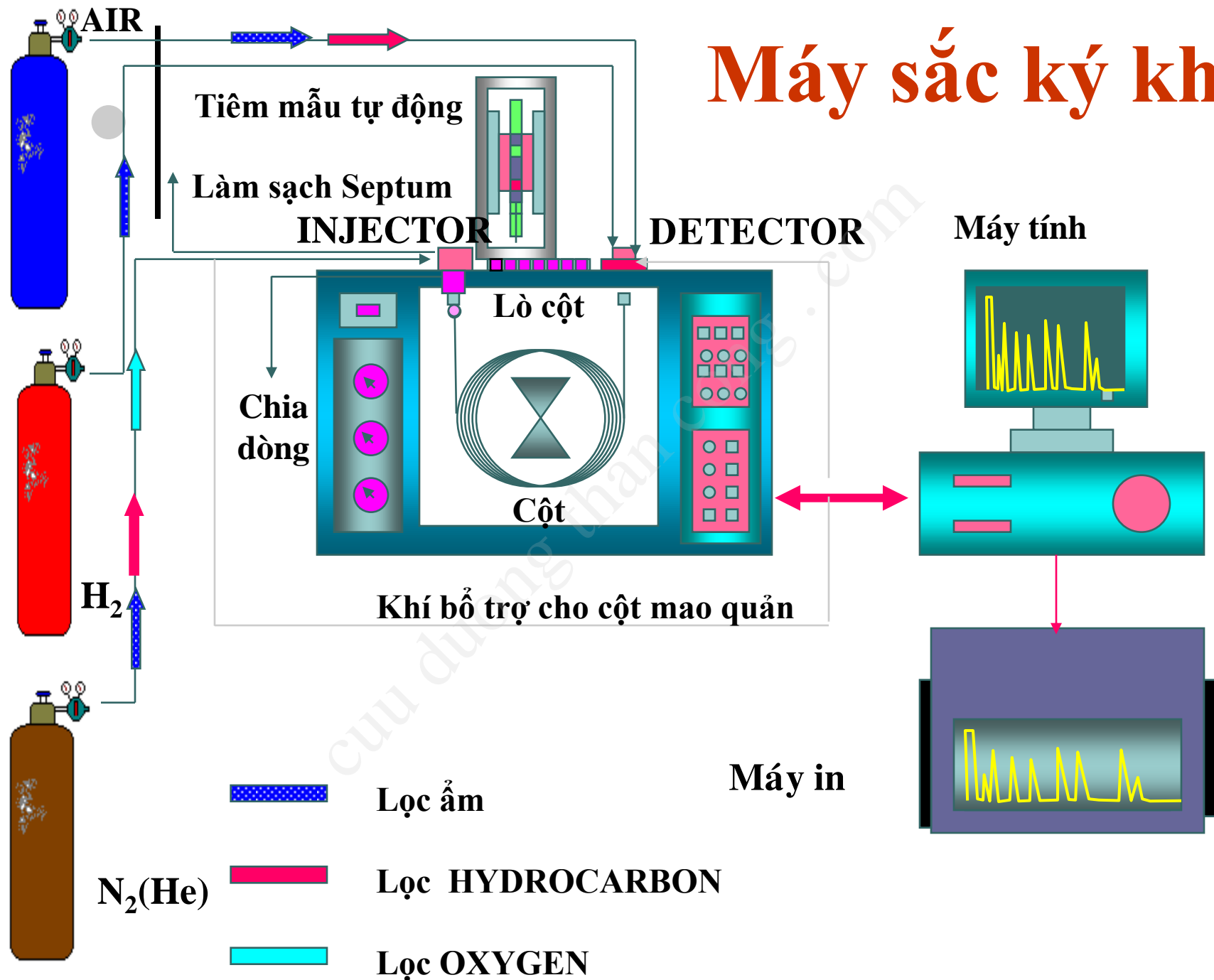


Sơ đồ máy sắc ký khí

1. Hệ thống bình khí
2. Bộ nạp mẫu
3. Hệ thống cột tách

4. Detector
5. Bộ ghi
6. Bộ phận in kết quả

Máy sắc ký khí



KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ

Khí mang (pha động)

Trơ với cấu tử khảo sát

Tinh khiết

Có độ nhớt thấp, để làm tăng vận tốc khí mang

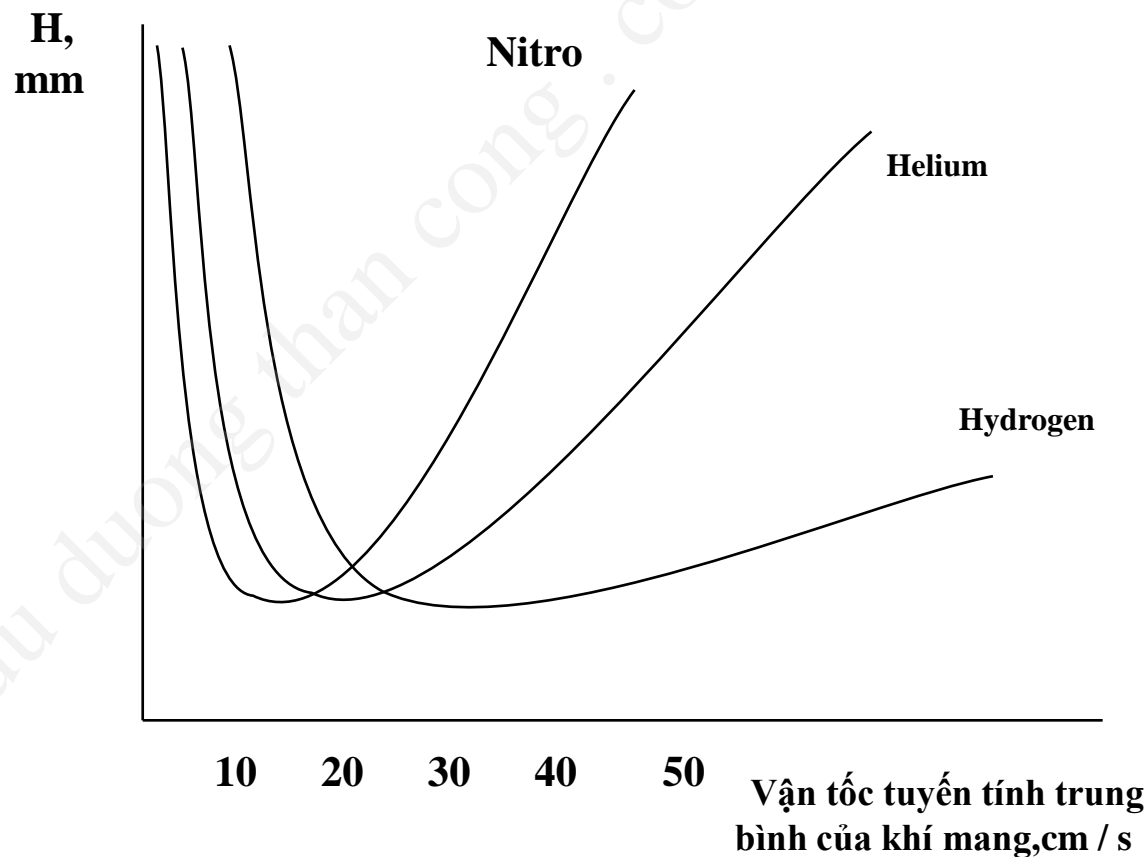
Khi xét quan hệ giữa chiều cao đĩa lý thuyết H và vận tốc tuyến tính của dòng khí mang, loại khí mang nào cho cực tiểu càng trải rộng càng tốt

Những loại khí mang thường dùng là H_2 , N_2 , He , Ar ...

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Khí mang (pha động)

THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ



Sự phụ thuộc của H vào vận tốc tuyến tính của H_2 , N_2 , He làm khí mang

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Khí mang (pha động)

THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ

Chọn lựa khí mang còn phải lưu ý đến detector sử dụng:

**Detector
độ dẫn
(TCD)**

Nên dùng khí mang có độ dẫn cao như H_2 , He (nhưng H_2 ít được dùng vì dễ cháy nổ, dù cực tiểu trải rộng nhất)

**Detector
Ion hóa
ngọn lửa
(FID)**

Có thể dùng tất cả các khí (trừ O_2). Thường chỉ cần dùng N_2 , nhưng nếu ghép máy GC với máy khác, VD khối phổ, phải dùng He làm khí mang. Khi vận hành FID phải dùng H_2 và O_2 để đốt cháy ngọn lửa

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

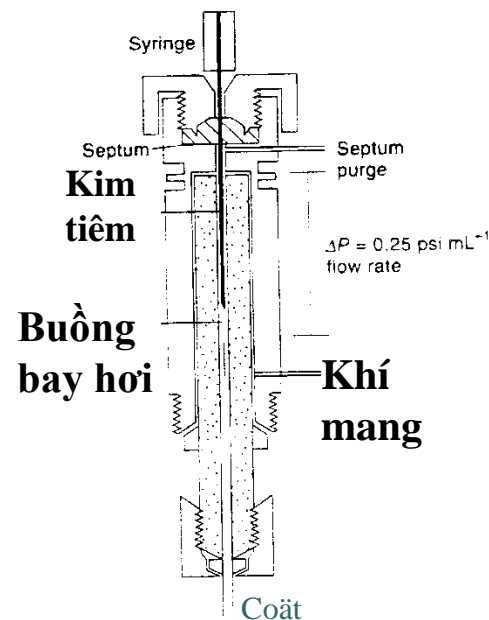
THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ

Bộ nạp mẫu

Mẫu dạng lỏng được bơm vào cột (bằng syringe) qua một màng cao su đặc biệt có khả năng giữ cho áp suất của hệ thống luôn ổn định gọi là *septum*

Lượng mẫu được bơm vào cột khoảng 1 – 10 μl

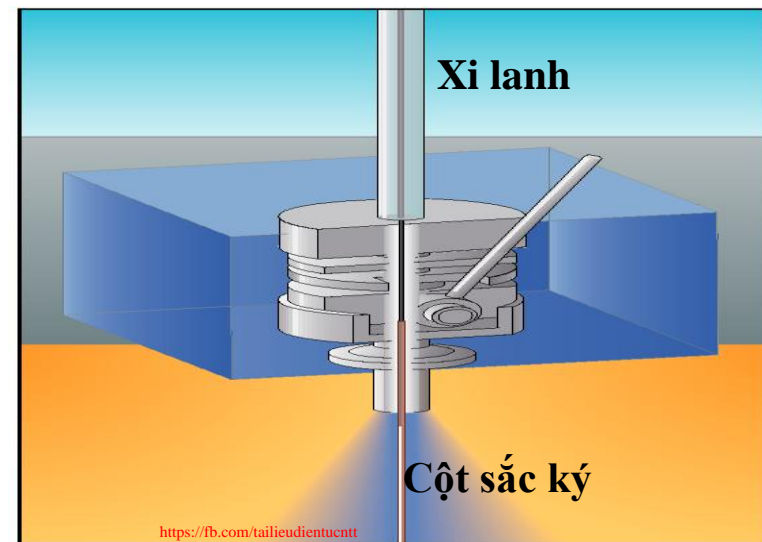
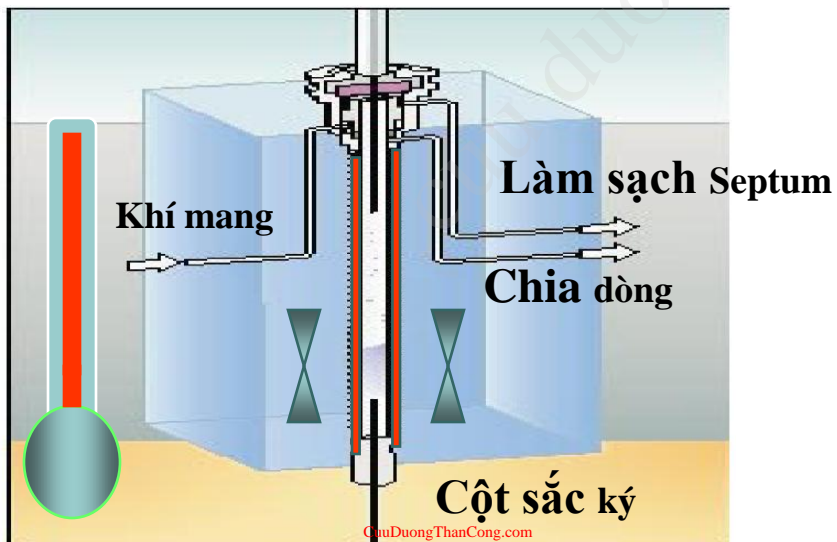
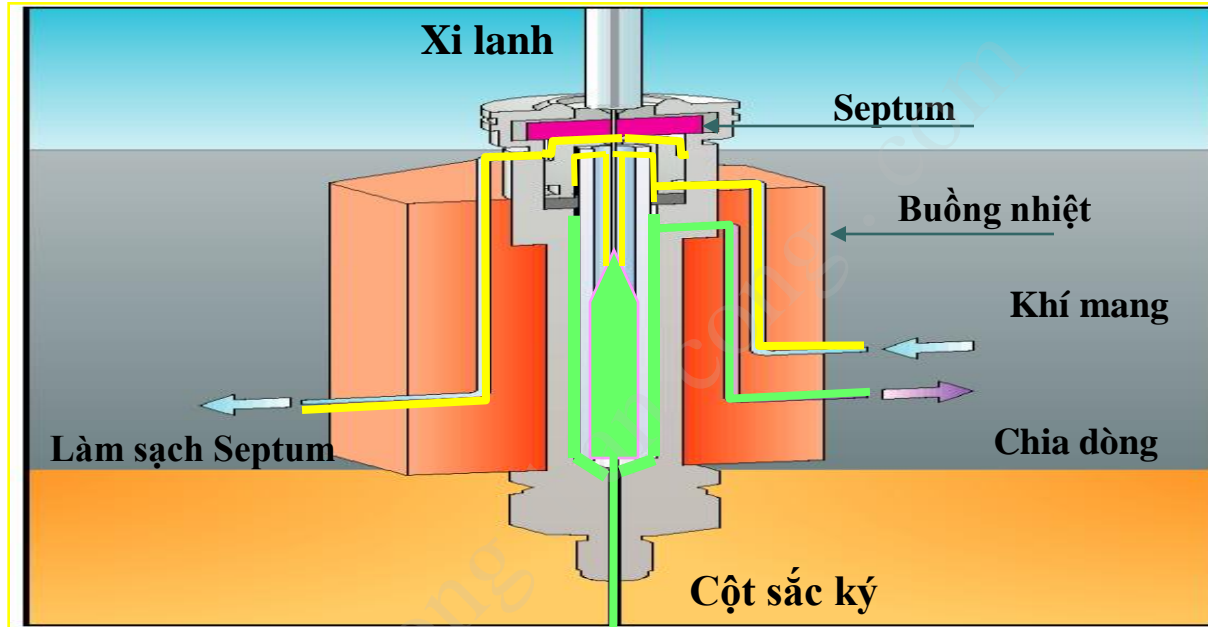
Bộ nạp mẫu được giữ ở nhiệt độ thích hợp theo chương trình nhiệt độ, thường cao nhiệt độ hóa hơi của cấu tử một ít



Bộ nạp mẫu GC

Các loại buồng tiêm mẫu thông dụng

Split/Splitless Injector



KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ

Cột sắc ký

Cột tách sắc ký khí phải:

- + Đảm bảo quá trình trao đổi chất giữa φ_s và φ_m
- + Độ giảm áp suất qua cột nhỏ
- + Tải trọng cao
- + Làm việc được ở nhiệt độ cao trong khoảng nhiệt độ tương đối rộng

Cột được chế tạo bằng thép, đồng, thủy tinh nóng chảy... có độ bền nhiệt và bền hoá học cao

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ

Cột sắc ký

Các chất nhồi trong cột (pha tĩnh hoặc chất rắn mang) phải bền cơ, bền hóa và đáp ứng yêu cầu tách tốt

Trong GC hấp phụ: chất nhồi vào cột là chất hấp phụ rắn đóng vai trò φ_s

Trong GC phân bố: chất nhồi cột đóng vai trò chất mang cho φ_s lỏng

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Cột sắc ký

THIẾT
BỊ
SẮC
KÝ
KHÍ

Chất
nhồi
cột là
chất rắn
hấp phụ

Chất hấp phụ loại một
(chất hấp phụ không đặc hiệu): trên bề mặt không có nhóm chức nào, VD như than

Chất hấp phụ loại hai:
trên bề mặt có các điện tích, ví dụ OH^- của silicagel

Chất hấp phụ loại ba:
trên bề mặt có các liên kết hoặc các nhóm nguyên tử có mật độ điện tử cao, VD các polymer chứa nhóm nitril

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Cột sắc ký

**THIẾT
BỊ
SẮC
KÝ
KHÍ**

**Chất
nhồi
cột là
chất rắn
hấp phụ**

Được sử dụng phổ biến trong GC bao gồm than hoạt tính không phân cực (bề mặt riêng $1300 - 1700\text{m}^2/\text{g}$), dùng PT các khí nhẹ; silicagel, nhôm oxide là những chất hấp phụ có cực và zeolite tự nhiên/tổng hợp, thủy tinh xốp đóng vai trò các rây phân tử

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Cột sắc ký

**THIẾT
BỊ
SẮC
KÝ
KHÍ**

**Chất
nhồi
cột là
chất rắn
mang**

Dùng trong sắc ký khí–lỏng thường là các chất trơ có bề mặt phát triển nhưng ít lỗ xốp để không xảy ra hiện tượng hấp phụ, VD diatomite

Để tách các chất có hoạt tính mạnh, có thể dùng teflon làm chất mang. Đôi khi chất mang còn có thể làm từ bột thủy tinh dạng hạt hình cầu rất mịn

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Cột sắc ký

**THIẾT
BỊ
SẮC
KÝ
KHÍ**

**Chất
nhồi
cột là
chất rắn
mang**

Pha tĩnh lỏng tẩm trên chất mang bao gồm các alcohol, dầu vaseline, dầu silicon, các phtalate, các loại eter, ester, các hợp chất chứa N như nitrile, amin thẳng/thơm...

Đặc biệt người ta cũng dùng các loại tinh thể lỏng để làm pha tĩnh lỏng

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ

Cột mao quản

Là một phát minh quan trọng trong lĩnh vực sắc ký. Nhờ trở lực dòng khí trên cột rất bé, có thể tăng chiều dài cột lên rất lớn (hàng trăm mét)

Trong cột mao quản, thành mao quản đóng vai trò chất mang (pha tĩnh được cho trực tiếp lên thành mao quản)

Đa số các loại cột mao quản đều làm từ thủy tinh nóng chảy

Hiện nay, loại cột mao quản phim mỏng dùng trong GC còn có loại d_{tr} 0,10mm

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Cột mao quản

THIẾT
BỊ
SẮC
KÝ
KHÍ

Các loại cột được cung cấp bởi các nhà SX khác nhau mang ký hiệu khác nhau cho biết cấu tạo và mức độ phân cực của cột. VD, hãng SGE sản xuất các loại cột:

HT5

φ_s là siloxan–carbon copolymer, không phân cực

BP1

φ_s là dimethyl siloxan, không p/cực

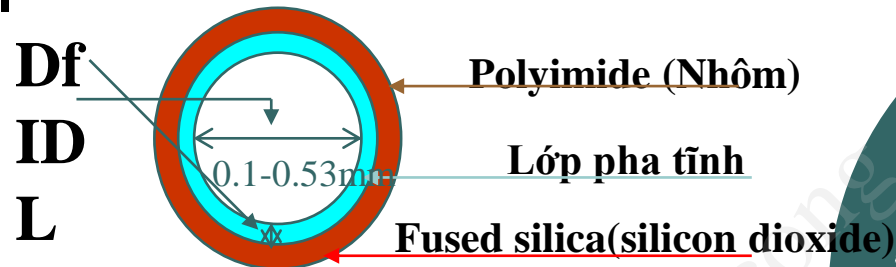
BP
225

φ_s chứa 50% cyanopropylphenyl dimethyl siloxan, phân cực t/bình

BP
20

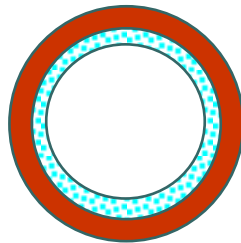
φ_s là polyethylene glycol, p/cực tốt

Các loại cột sắc ký khí thông dụng



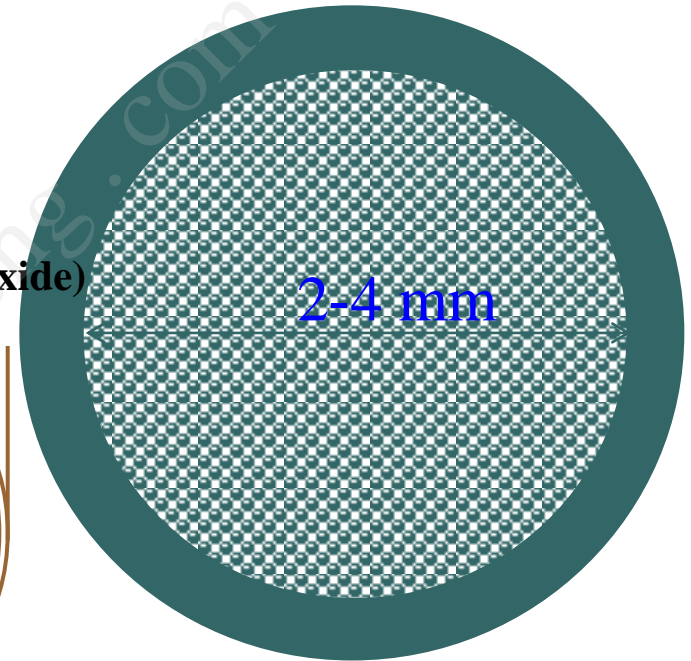
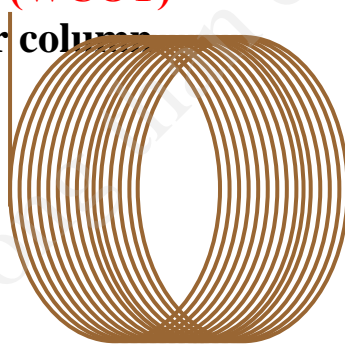
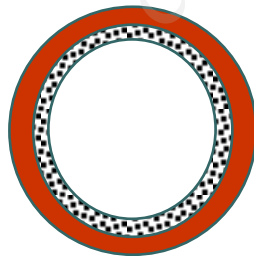
Cột mao quản phim mỏng (WCOT)

Wall-coated open-tubular column

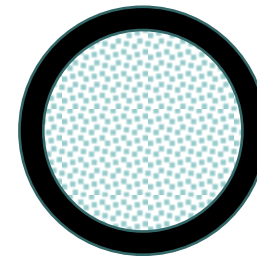


Cột mao quản lớp mỏng (SCOT)

Support-coated open-tubular column



Cột nhồi



Cột mao quản nhồi

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ

Detector

*Detector dẫn nhiệt TCD
(Thermal Conductivity Detector)*

Hoạt động trên nguyên tắc đo liên tục độ dẫn nhiệt của khí mang tinh khiết đi ngang qua một cột so sánh và khí mang có chứa các cấu tử cần tách đi qua cột phân tích

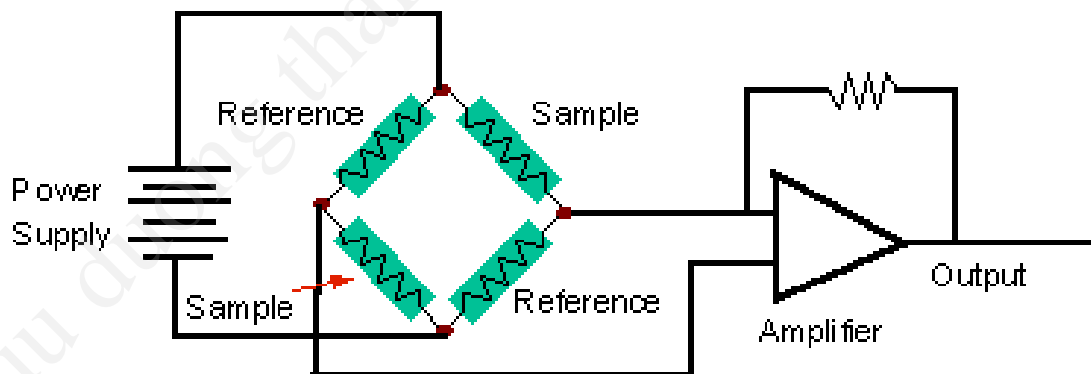
Hệ thống đo gồm các điện trở mắc theo nguyên tắc cầu Wheatstone

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Detector

*Detector dẫn nhiệt TCD
(Thermal Conductivity Detector)*

**THIẾT
BỊ
SẮC
KÝ
KHÍ**



© CHP 1995

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Detector

*Detector dẫn nhiệt TCD
(Thermal Conductivity Detector)*

**THIẾT
BỊ
SẮC
KÝ
KHÍ**

Độ nhạy của detector TCD phụ thuộc vào khả năng dẫn nhiệt của khí mang (H_2 , He, N_2 - trong đó H_2 , He dẫn nhiệt tốt hơn) và tỷ lệ với dòng nuôi cầu

Detector TCD đơn giản, dùng được cho một số mẫu vô cơ và hữu cơ, không phân hủy mẫu nhưng kém nhạy, thời gian cho tín hiệu lớn

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ

Detector

Detector ion hóa ngọn lửa FID (Flame Ionization Detector)

Có độ nhạy cao, dựa trên sự biến đổi độ dẫn điện của ngọn lửa H_2 đặt trong một điện trường khi mẫu chứa các cấu tử (thường là chất hữu cơ) cần tách đi qua

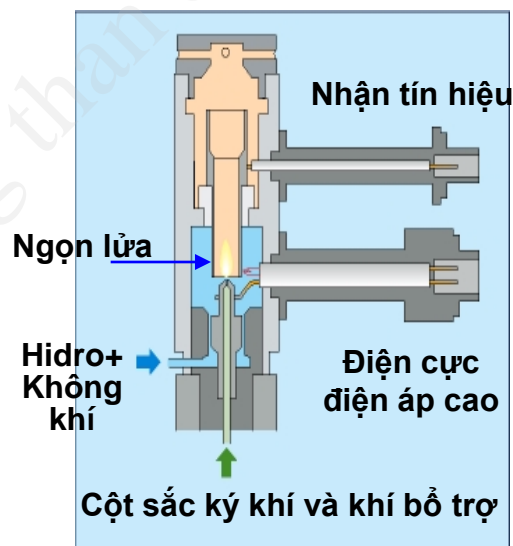
Nhờ NL cao của ngọn lửa H_2 , các cấu tử từ cột tách đi vào detector sẽ bị bẻ gãy mạch và bị ion hóa thành các ion trái dấu; Ion tạo thành được chuyển về các bản điện cực trái dấu nằm ở 2 phía của ngọn lửa

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Detector

*Detector ion hóa ngọn lửa FID
(Flame Ionization Detector)*

THIẾT
BỊ
SẮC
KÝ
KHÍ



KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ

Detector

Detector ion hóa ngọn lửa FID (Flame Ionization Detector)

FID có độ nhạy cao hơn nhiều so với TCD (khoảng 10^2 – 10^3 lần), thời gian phát tín hiệu bé ($<0,1$ giây) nhưng chỉ thích hợp đ/v các hợp chất có chứa C (CO , CO_2 , SO_2 , NH_3 , H_2S , H_2O , NO_x ... KPH được bằng FID)

Ngoài khí mang, còn phải dùng thêm hệ thống khí đốt (H_2 và O_2) làm cho thiết bị khá phức tạp; mẫu lại bị phá hủy trong ngọn lửa nên không thể cho tiếp qua một thiết bị phân tích khác (ví dụ như IR)

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

**THIẾT
BỊ
SẮC
KỶ
KHÍ**

Detector

***Detector phát xạ nguyên tử AED
(Atomic Emission Detector)***

Có độ nhạy cao và thời gian phát tín hiệu nhỏ, có khả năng ghi nhận sự hiện diện đồng thời của nhiều cấu tử

Nguyên tắc hoạt động: cấu tử mẫu ra khỏi cột được đưa qua ngọn plasma có NL của bức xạ vùng vi sóng (tạo ra bởi khí He)

Sau khi nhận NL, cấu tử mẫu bị nguyên tử hóa và nguyên tử bị kích thích, khi trở về trạng thái cơ bản sẽ phát ra bức xạ

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ

Detector

*Detector phát xạ nguyên tử AED
(Atomic Emission Detector)*

Cường độ phát xạ được ghi nhận và được chuyển thành peak sắc ký

Nhược điểm của detector loại này là chi phí phân tích cao do phải dùng khí He để tạo nguồn plasma

Ngoài ra còn sử dụng các detector khác như quang kế ngọn lửa (Flame Photometric Detector FPD), detector khối phổ (GC-MS)

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ SẮC KÝ KHÍ

Bộ phận ghi nhận kết quả

Kết quả phân tích bằng sắc ký khí là sắc ký đồ được ghi nhận từ máy ghi hay trên màn hình máy tính

Hiện nay đa số các máy sắc ký đều được ghép với hệ thống máy vi tính để xử lý số liệu, tính toán và lưu trữ kết quả

Các phần mềm ngày càng đa dạng càng làm tăng độ chính xác và hiện đại của PP

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

MỘT SỐ KỸ THUẬT TRONG SẮC KÝ KHÍ

Kỹ thuật bơm mẫu: **kỹ thuật kim đầy**

Mẫu được lấy vào thân kim lần đầu kim; tại buồng hóa hơi mẫu được bay hơi và được khí mang đưa vào cột tách ...

Nhược điểm là thể tích mẫu còn nằm lại ở đầu kim sau khi bơm mẫu vào máy khá lớn do “thể tích chết” của đầu kim syringe rất lớn (khoảng 1 μ l)

Đối với cột mao quản, sai số trên là rất lớn vì cột chỉ có khả năng tiếp nhận một lượng mẫu rất nhỏ

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

MỘT SỐ KỸ THUẬT TRONG SẮC KÝ KHÍ

Kỹ thuật bơm mẫu: **kỹ thuật kim đầy**

Để có thể lấy lượng mẫu nhiều hơn, người ta phát minh ra bộ chia dòng: lượng mẫu bơm vào được tách ra thành hai phần, trong đó chỉ có một phần nhỏ đi qua cột

Bơm chia dòng tránh được sai số do lượng mẫu quá bé, nhưng dễ đưa đến tình trạng phân biệt đối xử tại bộ chia

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

MỘT SỐ KỸ THUẬT TRONG SẮC KÝ KHÍ

Kỹ thuật bơm mẫu: **kỹ thuật kim lạnh**

Sau khi lấy mẫu vào xyringe, kéo ngược piston trở lại để toàn bộ lượng mẫu ở đầu kim trở lại trong thân kim

Kỹ thuật bơm mẫu: **kỹ thuật kim nóng**

Giống bơm kim lạnh, nhưng sau khi xuyên kim qua septum, chờ 5 giây cho kim được sấy nóng

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

MỘT SỐ KỸ THUẬT TRONG SẮC KÝ KHÍ

Kỹ thuật bơm mẫu: **kỹ thuật bơm trực tiếp**

Hiệu quả nhất, nhờ mẫu được đưa trực tiếp từ syringe vào đầu cột tách mà không qua buồng bay hơi. Ưu điểm:

Mẫu được đưa trực tiếp vào cột tách nên ít bị phân hủy

Mẫu không bị chia dòng nên loại bỏ được sự phân biệt đối xử đối với các cấu tử

Không dùng nhiều d/môi nên tránh được sự xen phủ của peak d/môi đối với peak cấu tử có T_R nhỏ

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Kỹ thuật bơm mẫu: **kỹ thuật bơm trực tiếp**

MỘT
SỐ
KỸ
THUẬT
TRONG
SẮC
KỶ
KHÍ

Kim của syringe rất mỏng nên tránh được “thể tích chết”

Không cần septum, giảm được tổn kém

Ngoài ra, còn có kỹ thuật **bơm mẫu tự động**, kỹ thuật **bơm mẫu rắn** (trước đây để PT mẫu rắn, phải hòa tan mẫu bằng d/môi rồi bơm vào máy SK như mẫu lỏng. Hiện nay, người ta đã phát minh bộ phận bơm mẫu rắn đặc biệt bằng thủy tinh rất tiện dụng)

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

**MỘT
SỐ
KỸ
THUẬT
TRONG
SẮC
KÝ
KHÍ**

Kỹ thuật khác

Rút ngắn thời gian phân tích bằng cách sử dụng hệ thống sắc ký bao gồm nhiều cột tách

Dùng kỹ thuật sắc ký tuần hoàn nhằm kéo dài cột tách

Tạo dẫn xuất để phân tích các hợp chất khó bay hơi (kỹ thuật này không chỉ giúp khắc phục sự biến dạng của peak mà còn làm tăng độ phân giải của QT sắc ký):

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

MỘT SỐ KỸ THUẬT TRONG SẮC KÝ KHÍ

Kỹ thuật khác

Hai kiểu tạo dẫn xuất phổ biến nhất là *tạo dẫn xuất với trimetysilan (TMS) và metylester hóa*

Tạo dẫn xuất với TMS: silan hóa các nhóm chức $-OH$, $-COOH$, $-NH_2$, $-NH$ và $-SH$ (thay thế hydro hoạt động bằng TMS)

Metylester hóa : phân tích các acid béo. Tác nhân *metylester hóa* thường là dung dịch BF_3 14% trong metanol



CHƯƠNG 20

MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH SẮC KÝ

20.8 SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO HPLC (High Perform Liquid Chromatography)

- Đặc điểm
- Hệ sắc ký lỏng
- Kỹ thuật thực nghiệm & ứng dụng

ĐẶC ĐIỂM

HPLC là PP SK lỏng có hiệu quả tách cao nhiều so với PP SK lỏng cổ điển nhờ sử dụng các chất nhồi có kích thước rất nhỏ (5 - 10 μ m)

Tốc độ nhanh, độ tách tốt, độ nhạy cao (detector UV10⁻⁹g; detector huỳnh quang và điện hóa 10⁻¹²g)

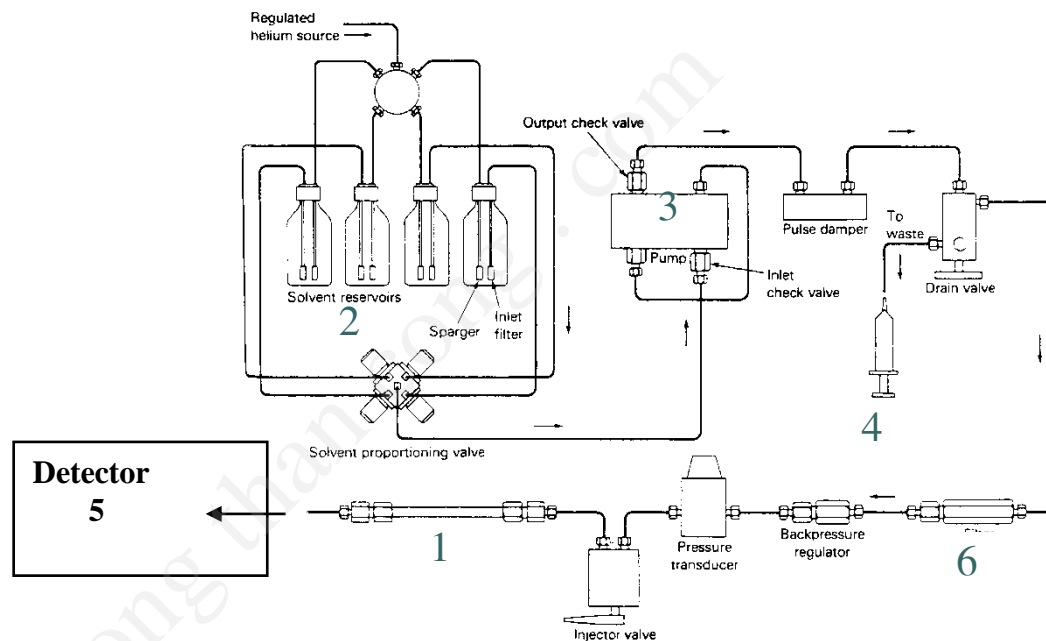
Cột tách được sử dụng nhiều lần; khả năng thu hồi mẫu cao vì hầu hết các detector không phá hủy mẫu

Lượng mẫu cho phép bơm vào cột tách trong HPLC lớn hơn PP GC giúp giảm đáng kể sai số phân tích

PP HPLC có thể là SK hấp phụ rắn – lỏng, SK phân bố lỏng – lỏng, SK lỏng trao đổi ion hoặc rây phân tử

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ HPLC

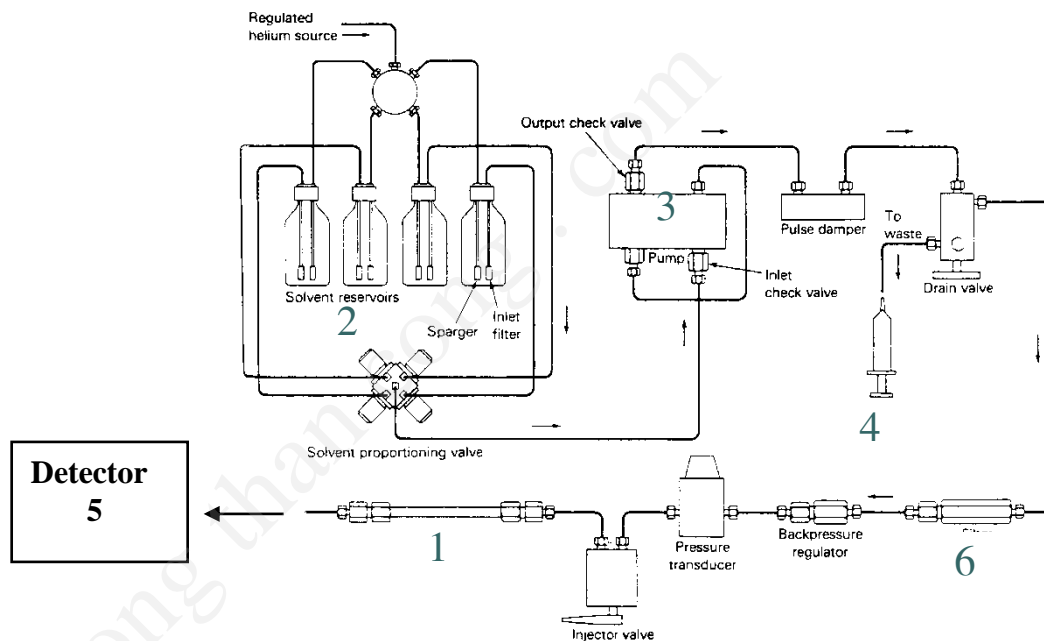


Sơ đồ thiết bị HPLC

Hai bộ phận quan trọng nhất là bơm cao áp 3 và detector 5

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ HPLC

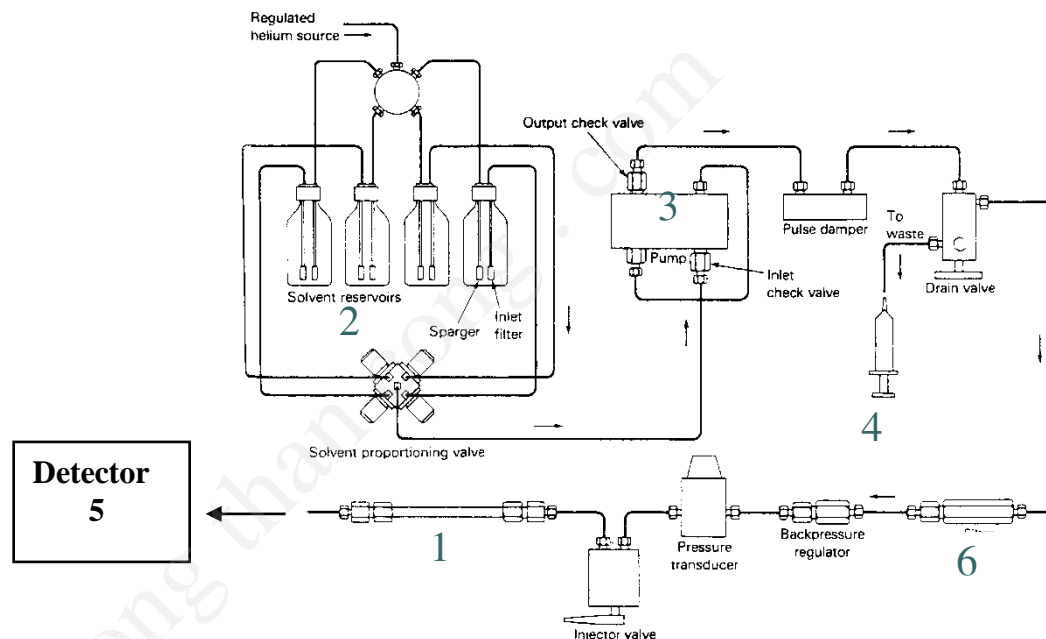


Sơ đồ thiết bị HPLC

Các bộ phận khác gồm có hệ thống cột tách 1, hệ thống pha động 2, bộ nạp mẫu 4 và các bộ lọc tạp chất 6

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ HPLC



Sơ đồ thiết bị HPLC

Vì phải sử dụng bơm cao áp để đẩy pha động đi qua cột tách, PP này trước kia còn được gọi là PP sắc ký lỏng cao áp (High Press)

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ HPLC

Bơm cao áp

Thường được dùng hiện nay là bơm xyringe lượng lớn. Công suất bơm dùng cho SK phân tích với lưu lượng dòng pha động 0,1-10 ml/phút (d_{tr} của cột tách là 5 mm) ở áp suất 300–400 bar, còn trong SK điều chế, công suất đòi hỏi phải lớn hơn nhiều

Bộ nạp mẫu

Được thiết kế phù hợp với 2 kiểu bơm mẫu: bơm cùng với dòng dung môi (giống GC) hoặc bơm mẫu vào cột tách trong điều kiện dòng d/môi ngưng lại không chịu áp suất, thường sử dụng khi thiết bị làm việc ở áp suất rất cao

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ HPLC

Cột tách

Thường được chế tạo bằng thép không gỉ, có $L = 12,5 - 25$ cm, d_{tr} từ 2-4mm (SK phân tích)

Với cột có $d_{tr} = 2$ mm, hạt nhồi kích thước $30\mu\text{m}$ (220 mesh) là phù hợp

Trước khi nhồi cột, làm sạch cột bằng HNO_3 50%, rửa nhiều lần với nước, tráng bằng acetone, chloroform, lại acetone và làm khô bằng khí N_2 hoặc không khí nóng

Có thể nhồi cột bằng PP khô khi hạt nhồi $> 20\mu\text{m}$ hoặc PP ướt với huyền phù (metanol, acetone, dioxane.. hoặc hỗn hợp của chúng với parafin, cyclohexanol...) bằng bơm cao áp, khi hạt nhồi bé ($5 - 10\mu\text{m}$).

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ HPLC

Bộ lọc tạp chất

Trước khi dung môi đi vào cột phải được lọc bỏ các chất phân cực (thường dùng các bộ lọc chứa các chất hấp phụ hoạt động)

Hệ thống pha động

Hệ thống pha động bao gồm các bình thủy tinh 500ml chứa các dung môi rửa giải (PP HPLC có thể được thực hiện với nhiều dung môi khác nhau khi chạy theo chương trình dung môi)

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ HPLC

Detector

Detector hấp thu tử ngoại UV (Ultra Violet)

Được sử dụng rộng rãi vì dễ vận hành, ít phụ thuộc nhiệt độ và vận tốc pha động

Phần lớn detector UV làm việc ở 254nm (cung cấp bởi đèn Hg áp suất thấp) thích hợp để phân tích hydrocarbon thơm, cetone, aldehyd, các hợp chất vòng thơm

Một số máy cũng dùng detector UV 280nm (vùng phát huỳnh quang)

Các chất không hấp thu UV phải được chuyển thành các dẫn xuất hấp thu UV

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

THIẾT BỊ HPLC

Detector

*Detector chiết suất vì sai RI
(Refractive Index)*

Dựa trên sự khác nhau về chỉ số chiết suất của dd và dung môi nguyên chất

Đo chiết suất bằng cách đo sự khúc xạ của tia sáng đơn sắc đi qua mẫu và dung môi, hoặc xác định cường độ tia phản xạ tỷ lệ nghịch với chiết suất, hoặc đo độ truyền của bức xạ qua mẫu

Detector RI rất bền và nhạy, dùng rất phổ biến trong sắc ký gel

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Detector

Detector hấp thu nhiệt

THIẾT BỊ HPLC

Dựa trên cơ sở của việc đo nhiệt hấp thu và giải hấp

Ngoài các loại detector trên, PP HPLC còn sử dụng các loại detector khác: detector huỳnh quang, cực phổ, độ dẫn...

Trường hợp đặc biệt, có thể ghép máy HPLC với một máy khác để nâng cao tính năng phân tích, VD ghép với máy quang phổ hấp thu nguyên tử (AAS) để phân tích các hợp chất vô cơ...

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Kỹ thuật chương trình dung môi

MỘT SỐ KỸ THUẬT HPLC

CT dung môi hay còn gọi là rửa giải gradient trong HPLC tương đương với kỹ thuật CT nhiệt độ trong GC

Sử dụng CT dung môi sẽ giúp rút ngắn đáng kể thời gian phân tích, độ phân giải của PP tăng lên, peak nhọn hơn và độ nhạy tăng lên

Trong HPLC, CT dung môi đòi hỏi độ phân cực của pha động tăng lên theo thời gian rửa giải.
VD: để tách các amin phân cực trên cột silicagel thì pha động ban đầu có thể là dioxane (p/cực trung bình), pha động tiếp theo là DMSQ (p/cực hơn)...

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Kỹ thuật CT tốc độ dòng

MỘT SỐ KỸ THUẬT HPLC

Ap đặt tốc độ dòng thấp ở giai đoạn đầu của quá trình tách và tăng tốc độ ở phần sau theo từng nấc hoặc liên tục sẽ giúp cho độ phân giải tăng lên ở phần đầu của sắc ký đồ và giảm đi ở phần sau

Ưu điểm là làm giảm thời gian phân tích mà không ảnh hưởng đến độ phân giải, không cần tái sinh cột tách như trong CT dung môi, có thể áp dụng cho các hệ SK lỏng không thể chạy theo CT dung môi

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Kỹ thuật CT tốc độ dòng

MỘT SỐ KỸ THUẬT HPLC

Tốc độ dòng thích hợp: phụ thuộc d_{tr} cột tách

$d_{tr} = 2\text{mm}$

Tốc độ dòng 0,5–2,0 ml/ph

$d_{tr} = 3\text{mm}$

Tốc độ dòng 2,0 ml/ph

$d_{tr} = 4\text{mm}$

Tốc độ dòng 2,0–3,0 ml/ph

$d_{tr} = 8\text{--}10\text{mm}$

Tốc độ dòng 4,0–20 ml/ph

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Kỹ thuật sắc ký pha thuận HPLC – NP

MỘT SỐ KỸ THUẬT HPLC

Khi phân tích các hợp chất khá phân cực, thường sử dụng chất mang–pha tĩnh ϕ_s có độ phân cực cao như NH_2 , CN với pha động ϕ_m p/cực yếu như hexane hay hỗn hợp (hexane/ CH_2Cl_2 tỷ lệ 95:5)

Các cấu tử sẽ được tách ra theo thứ tự độ phân cực tăng dần (hợp chất kém phân cực nhất được rửa giải đầu tiên)

PP HPLC theo nguyên tắc trên được gọi là HPLC pha thuận: (HPLC–NP)

KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM

Kỹ thuật sắc ký ngược pha HPLC – RP

MỘT SỐ KỸ THUẬT HPLC

Khi thay đổi tính chất của chất mang, QT tách các cấu tử có thể diễn ra theo thứ tự ngược lại: HPLC–RP (ngược pha)

VD: phân tích các hợp chất khá phân cực, nếu dùng HPLC–RP với ϕ_s không phân cực (ví dụ như RP–18), ϕ_m phân cực cao ($\text{CH}_3\text{OH} / \text{H}_2\text{O}$ tỷ lệ 40:60), các hợp chất phân cực cao hơn sẽ được rửa giải trước

Để chuyển chất mang từ phân cực thành không p/cực, người ta gắn các nhóm không phân cực như alkyl lên bề mặt chất mang



CHƯƠNG 20

MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH SẮC KÝ

20.9 ỨNG DỤNG

ỨNG DỤNG

PP sắc ký được sử dụng rất hiệu quả trong việc tách và phân tích các chất phức tạp ở dạng khí hoặc lỏng, thậm chí cả chất rắn

PP sắc ký hấp phụ lỏng

Tách và xác định thành phần của dầu mỏ, tách và phân tích các hợp chất thiên nhiên...

PP sắc ký phân bố lỏng–lỏng

Phân tích các hợp chất hữu cơ có tính chất hoá học gần nhau: hydrocarbon, rượu, phenol, aldehyde, cetone, acid carboxylic, esther, acid amin, vitamin, glucit...



ỨNG DỤNG

PP sắc ký phân bố lỏng–lỏng

Trong nhóm này, PP SK giấy rất đơn giản, rẻ tiền nhưng có độ nhạy cao, thích hợp trong lĩnh vực phân tích hữu cơ và hóa sinh

PP sắc ký bản mỏng có độ lặp lại cao, tốc độ phân tích nhanh, kỹ thuật tiến hành đơn giản, được sử dụng rất rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khoa học và công nghiệp khác nhau, đặc biệt trong hữu cơ để PT các hợp chất tự nhiên, dược phẩm, các mẫu thuộc lĩnh vực hóa sinh và các đối tượng khác



ỨNG DỤNG

PP sắc ký trao đổi ion

Khử độ cứng của nước (do các muối tan của Ca và Mg tạo thành); khử độ khoáng của nước (loại hoàn toàn các cation và anion có trong nước); tinh chế các thuốc thử hoá học như tinh chế HCl kỹ thuật, tinh chế chất không điện ly ra khỏi chất điện ly; điều chế hợp chất hoá học như điều chế phân bón hoá học dạng lỏng từ nước thải, tách lượng nhỏ của một số nguyên tố...



ỨNG DỤNG

PP sắc ký rây phân tử

Tách và phân tích các hợp chất cao phân tử, các protein, polymer cũng như nghiên cứu tính chất của các đại phân tử trong dung dịch, xác định kích thước và M của chúng, điều chế và tinh chế các polymer sinh học...

ỨNG DỤNG

PP sắc ký khí

Một trong những PP quan trọng nhất được sử dụng để tách, xác định cấu trúc, nghiên cứu các thông số hóa lý như hệ số hoạt độ, nhiệt hoá hơi, hệ số khuếch tán phân tử, động học các quá trình xúc tác, phân tích dầu mỡ và các sản phẩm của chúng, rất nhiều loại thực phẩm như rượu, bia, bơ, sữa, đường..., dược phẩm, các chỉ tiêu thuộc hoá học môi trường...

SK khí phân bố có khả năng tách các hỗn hợp chứa nhiều cấu tử phức tạp hơn SK khí hấp phụ, và nhờ vào miền đẳng nhiệt tuyến tính có phạm vi nồng độ rộng hơn, các peak trên sắc ký đồ của sắc ký phân bố cũng có tính đối xứng cao hơn



ỨNG DỤNG

PP sắc ký lỏng hiệu năng cao

Được sử dụng để tách các acid nucleic, acid amin, vitamin, glucit, các dược phẩm, các steroid, các vitamin, các chất bảo vệ thực phẩm, thuốc bảo vệ thực vật, các phụ gia cho nhiên liệu, các chất dẻo hóa, các phức chất....