روش های آنالیز دستگاهی

دانشـگاه علوم پزشـکی همدان

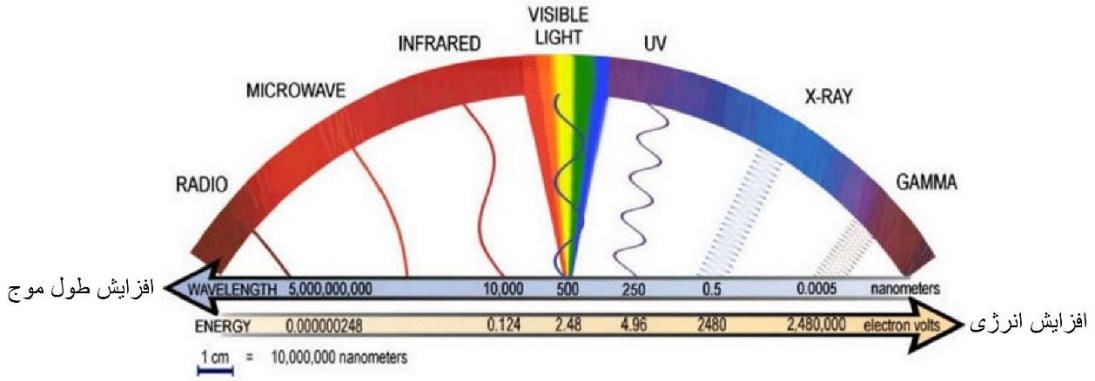
دکتر دستان

Cover page designed by Iranpuyesh.ir

Spectroscopy:

مطالعه برهم کنش ماده با تابش الکترومغناطیس / بر اساس نور عبوری یک طیف به دست می‌آید

امواج الکترومغناطیس:



امواج رادیویی در MRI و NMR کاربرد دارند
پرتوهای فروسرخ(infrared) در IR کاربرد دارند
امواج UV(280-400 nm) و نور مرئی(400-800 nm) در ELISA و spectrophotometer کاربرد دارند
پرتوهای X در crystallography کاربرد دارند(محدودیت:نمونه باید کریستال تک بلور باشد)

IR ← شناسایی گروه‌های عاملی
NMR ← تعیین نوع اتم‌ها(به عنوان مثال مشخص می‌شود که به هر اتم کربن چه تعداد هیدروژن متصل است)
در Mass spectrometry نمونه یونیزه می‌شود

جداسازی(separation):

تقطیر
- ساده ← نقطه جوش مواد فاصله زیادی با هم دارد
- جزء به جزء ← نقطه جوش مواد به هم نزدیک است

استخراج مایع- مایع

salting out:گرم یا سرد کردن محلول ، اشباع کردن محلول ، اضافه کردن ماده دیگر ← رسوب کردن نمونه

کریستالیزه کردن یکی از ترکیبات و باقی ماندن بقیه ترکیبات در محلول

کروماتوگرافی

دستگاه استخراج سوکسله(Soxhlet extractor)

کاربردهای کروماتوگرافی:

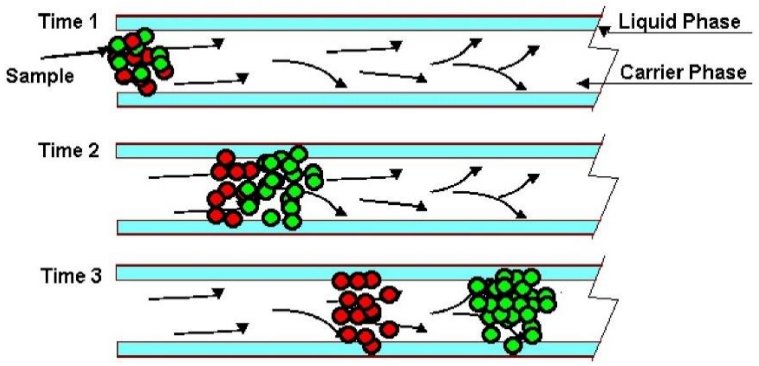
- استخراج(extraction)
- خالص سازی(purification)
- تعیین مقدار(determination)
- شناسایی(identification)

تامین جزوات دانشگاهی iranpuyesh.ir

اساس کروماتوگرافی:

فاز ساکن ← لوله را از این فاز پُر می‌کنیم
فاز متحرک ← حلالی که ماده را می‌شوید و پایین می‌آورد

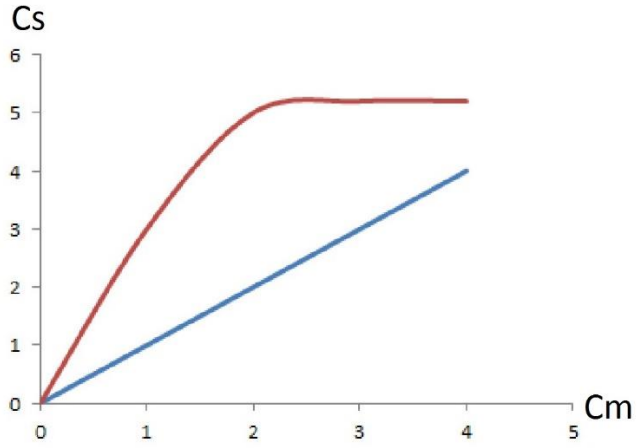
نمونه بر اساس میزان affinity به فاز ساکن و متحرک بین این ۲ فاز در حال حرکت است:
ترکیب قرمز رنگ به فاز ساکن affinity بیشتری دارد ← جابجایی بین ۲ فاز بیشتر
ترکیب سبز رنگ به فار متحرک affinity بیشتری دارد ← جابجایی بین ۲ فاز کمتر



مکانیسم جداسازی:

ضریب توزیع(K) = $\frac{Cs}{Cm}$ ← مربوط به نمونه است
Cs:غلظت در فاز ساکن
Cm:غلظت در فاز متحرک

K = 1 ← affinity نمونه به هر ۲ فاز یکسان است
K > 1 ← affinity نمونه به فاز ساکن بیشتر است
K < 1 ← affinity نمونه به فاز متحرک بیشتر است



در منحنی آبی رنگ:K = 1

در منحنی قرمز رنگ K در ابتدا بزرگتر از ۱ است اما به دلیل اینکه فاز ساکن ظرفیت مشخصی دارد و تعداد محدودی مولکول را به خود جذب می‌کند بعد از مدتی K ثابت می‌شود

انواع کروماتوگرافی:

Adsorption chromatography:نمونه روی فاز ساکن جذب سطحی می‌شود

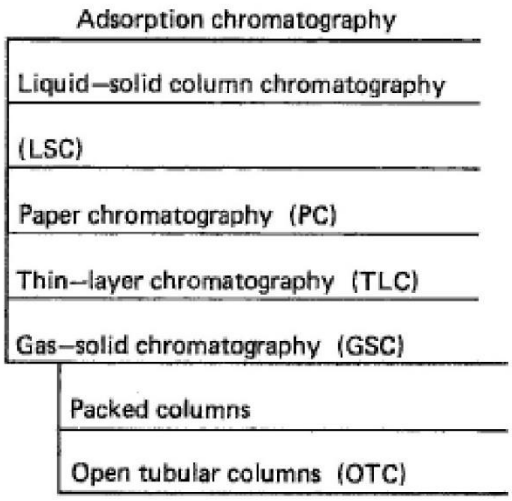
Partition chromatography

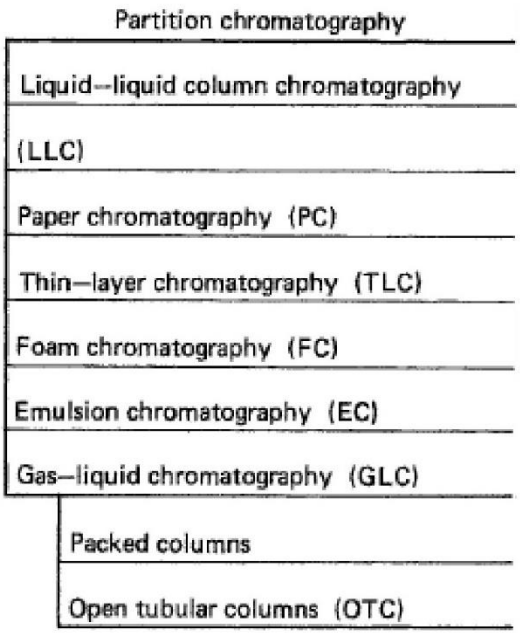
Ion exchange chromatography:اتصال کاتیون/آنیون فاز متحرک به آنیون/کاتیون فاز ساکن

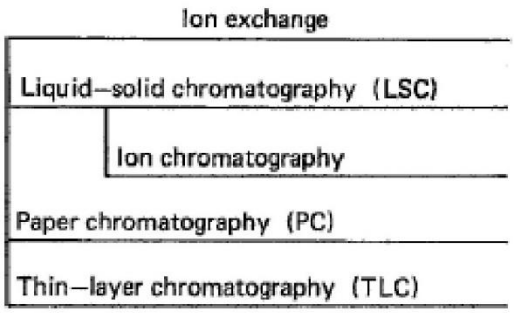
Size exclusion chromatography:وجود حفرات در فاز ساکن

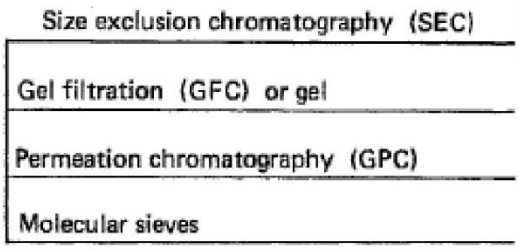
← گیر افتادن مولکول‌های کوچک

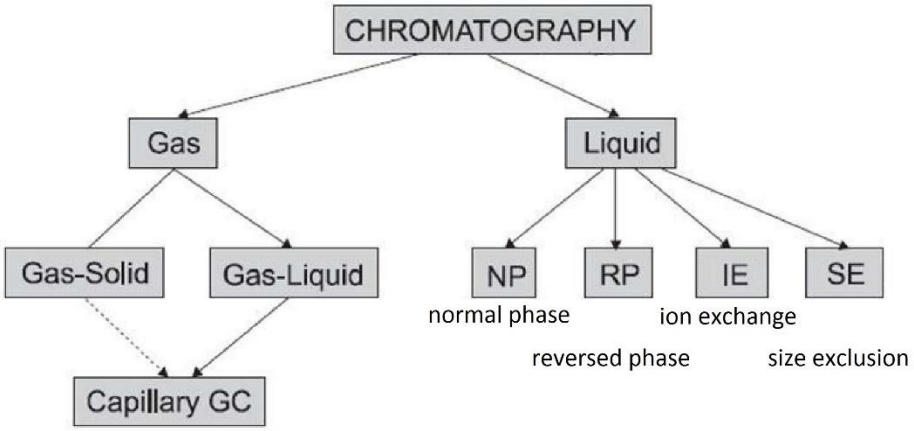
← شسته شدن مولکول‌های بزرگ توسط حلال







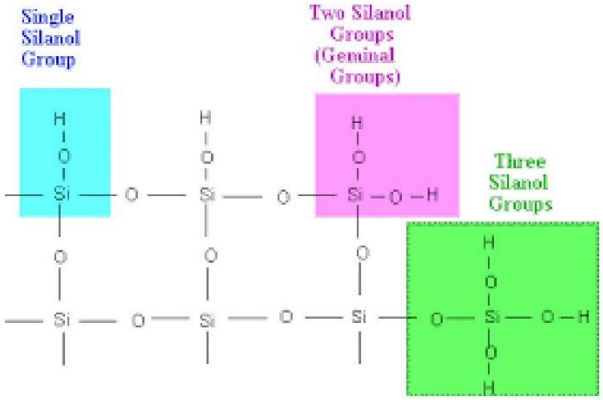




نام روش	علامت	فاز متحرک	فاز ساکن
گاز-جامد	GSC	گاز	جامد
گاز-مایع	GLC	گاز	مایع
مایع-مایع (تقسیمی)	LLC	مایع	مایع
جذب سطحی	AC	مایع	جامد
لایه نازک	TLC	مایع	مایع یا جامد
ژل	GPC	مایع	مایع
تعویض یونی	IEC	مایع	جامد
مایع با کارایی بالا	HPLC	مایع	جامد

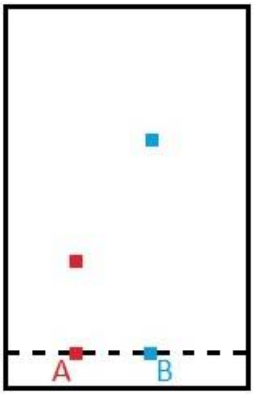
:Thin-layer chromatography

جنس کاغذ TLC(فاز ساکن) = سیلیکاژل ← دارای گروه‌های silanol(OHها می‌توانند با نمونه برهم کنش کنند)



حلال مورد استفاده **نباید** قطبیت بسیار بالایی داشته باشد زیرا گروه‌های OH را اشغال می‌کند و در نتیجه کارایی جداسازی کاهش می‌یابد

B:ناقطبی / A:قطبی ← تمایل به فاز ساکن بیشتر ← حرکت کمتر

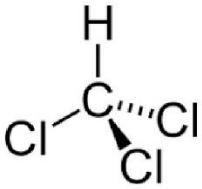


به منظور بالا آوردن لکه(قطبی یا ناقطبی) در TLC از حلال **قطبی** استفاده می‌کنیم زیرا بین فاز ساکن و فاز متحرک رقابت ایجاد می‌شود

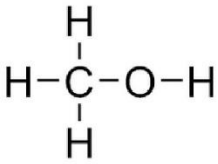
به منظور پایین آوردن لکه(قطبی یا ناقطبی) در TLC از حلال **ناقطبی** استفاده می‌کنیم

هر چه affinity نمونه نسبت به حلال بیشتر باشد مسیر بیشتری را طی می‌کند و بالاتر جایگزین می‌شود

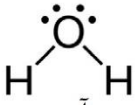
حلال‌های مورد استفاده در TLC:



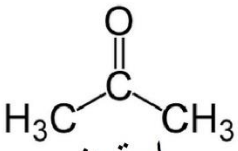
کلروفرم



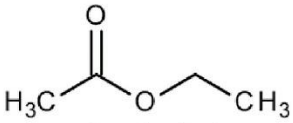
متانول



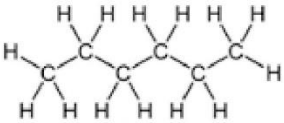
آب



استون



اتیل استات



n-هگزان

در TLC معمولا از آب به عنوان حلال استفاده **نمی‌شود** چون سبب اشباع شدن گروه‌های OH و غیرفعال شدن فاز ساکن می‌شود

تا اینجا هر چه گفته شد در مورد normal-phase TLC بود که در این نوع از TLC فاز ساکن قطبی است و برای نمونه های ناقطبی مناسب است