***Əczaçılıq kimyası I fənni***

***Təcrübi dərs – 1***

***Mövzu “Xromatoqrafiya və xromotoqrafik çihazlar”***

Fiziki-kimyəvi üsullar maddənin fiziki xassələrinin onun kimyəvi tərkibindən asılı olmasına əsaslanır. Fiziki-kimyəvi üsullar əsasən tez yerinə yetirilməsi, seçici olması, yüksək həssaslığı və avtomatik yerinə yetirilməsi imkanlarına görə fərqlənir. Bu üsullarla dərman maddələrinin eyniliyini, təmizliyini və miqdarını təyin etmək mümkündür. Analiz üçün yoxlanılan maddənin az miqdarı da dəqiq nəticələrin alınması üçün yetərlidir. Göstərilən amillərə görə fiziki-kimyəvi üsulların əhəmiyyəti daha da artır və ayrı-ayrı dərman maddələri və ya dərman qarışıqlarının analizində geniş istifadə olunur.

Fiziki və fiziki-kimyəvi üsulları aşağıdakı qruplara bölmək olar:

* optik üsullar;
* elektromaqnit şüalarının udulmasına əsaslanan üsullar;
* şüanın buraxılmasına əsaslanan üsullar;
* maqnit sahəsinin istifadəsinə əsaslanan üsullar;
* elektrokimyəvi üsullar;
* termiki üsullar;
* bölünmə üsulları.

***Xromatoqrafik analiz üsulları***

Xromatoqrafiyanın əsasını qarışığın tərkibində olan maddələrin fiziki və ya kimyəvi xassələrindən asılı olaraq iki faza (hərəkətli və hərəkətsiz) arasında bölünərək ayrı-ayrı komponentlərə ayrılması prosesi təşkil edir. Hərəkətli faza–maye və ya qaz; hərəkətsiz faza–bərk daşıyıcı adsorbsiya edilmiş bərk maddə və ya məhluldur. Bölünmə zamanı hissəciklərin yerdəyişmə sürəti, onların hərəkətsiz faza ilə qarşılıqlı təsirindən asılıdır. Buna görə də hər maddənin daşıyıcı üzərində keçdiyi müəyyən bir məsafə vardır. Maddənin yerdəyişmə məsafəsinin, həlledicinin yerdəyişmə məsafəsinə olan nisbətini ifadə edən xromatoqrafik kəmiyyət Rf adlanır. Rf kəmiyyəti müəyyən şəraitdə bölünməni ifadə edən kəmiyyətdir və dərman maddələrinin identifikasiyasında istifadə olunur.

Təbii maddələrin–antibiotiklər, alkaloidlər, steroidlər və s. öyrənilməsində xromatoqrafıya mühüm yer tutur. Bu üsulun köməyilə bir-birlərinə quruluşca yaxın olan maddələrin qarışığını ayırmaq və bölmək mümkündür.

Xromatoqrafıyadan əczaçılıq analizində geniş istifadə olunur. Belə ki, bu üsulla mürəkkəb qarışığı onun komponentlərinə ayırmaq, kimyəvi maddələrin təmizlik dərəcəsini və ya fərdi olmasını, həddindən artıq duru məhluldan maddələri çıxarmaq, bir-birinə bənzəyən iki maddəni və mürəkkəb qarışıqda olan komponentlərin miqdarını təyin etmək olar.

Xromatoqrafiyada əsas anlayışlar:

* **Hərəkətsiz (stasionar) faza** – elüent, bərk daşıyıcı (üstü örtülmüş);
* **Hərəkətli faza (mobil)** – qarışığın komponentlərini hərəkətsiz faza üzərində bölən maye, flüid və ya qazın axını.
* **Sorbsiya** - bitişik fazalardan birində bir maddənin qatılaşdırılmasıdır.
* **Adsorbsiya** - bərk fazanın səthində bir maddənin (maye və ya qaz) qatılaşdırılmasıdır.
* **Absorbsiya**- maddənin (qaz və ya maye) maye tərəfindən udulmasıdır.
* **Sorbentlər** - ətraf mühitdən qaz, buxar və həllolan maddələri seçici olaraq udan (sorbsiyaedən) bərk maddə və ya mayelərdir.
* **Elüasiya** – maddənin uyğun bir həlledici (eluent) ilə yuyaraq çıxarılmasıdır.

Xromatoqrafıyada qarışığın komponentlərə bölünməsi adsorbent və həlledicinin təbiətindən asılıdır. Bununla əlaqədar olaraq xromatoqrafiyanın aşağıdakı növləri vardır:

a) adsorbsiya ilə xromatoqrafiya;

b) iondəyişdirici xromatoqrafiya;

c) bölüşdürücü xromatoqrafiya;

d) gel xromatoqrafiyası

e) affin xromatoqrafiya.

 Fazaların nisbi hərəkətlərinə görə xromatoqrafik üsullar frontal, sıxışdırıcı və elyent xromatoqrafiyaya bölünür.

Frontal xromatoqrafiya.

Üstülükləri:

Effektiv üsuldur

Az miqdarda həlledici tələb edir.

Çatışmamazlığı:

Yalnız 1 maddə təmiz haldadır.

Suyun codluğunu azaltmaq üçün cihazlarda, respiratorlarda və sənaye filtrlarında istifadə olunurlar.

Sıxışdırıcı xromatoqrafiya.

Təmiz həlledici yox, yüksək dobsiya qabiliyyətinə malik maddə (sıxışdırıcı) istifadə olunur.

Üstünlükləri:

Yüksək iş qabiliyyəti

Az miqdarda həlledici tələb olunur

Zonaların yayılması qeydə alınmır

Sürəti daimidir və sıxışdırıcının hərəkət sürətinə bərabərdir.

Çatışmazlıqları:

Uzunmüddətli olması.

Elyuent xromatoqrafiya.

Üstünlükləri:

Xromatoqrafik qarışıq ayrı-ayrı zonalara bölünür.

Çoxkomponentli qarışıqların bölünməsi üçün uyğundur. Çatışmazlıqları:

Çoxlu miqdarda həlledici tələb olunur.

 Daşıyıcı fazanın aqreqat vəziyyətinə görə xromatoqrafiya üsulları 2 qrupa bölünür:

a) qaz xromatoqrafiyası

b) maye xromatoqrafiya.

 Yerinə yetirilmə qaydalarına görə xromatoqrafiya üsulları aşağıdakı qruplara bölünür:

1. Sütun xromatoqrafiyası – bölünmə xüsusi sütunlarda (boru) aparılır.
2. fleş xromatoqrafiya – dərman maddələrinin, təbii və sintetik birləşmələrin, bioloji çıxarışların və s. bölünməsi və təmizlənməsi məqsədi ilə istifadə olunur. Hətta çox kiçik miqdarda (mq-la) olan maddənin də təmizlənməsini təmin edir. Çox sadə və iqtisadi cəhətdən əlverişli olan müasir üsuldur.
3. müstəvi xromatoqrafiya – bölünmə xüsusi kağızlarda (KX) və sorbentin nazik təbəqəsində (NTX) yerinə yetirilir.

Əczaçılıq təcrübəsində analiz məqsədləri üçün iondəyişdirici və bölüşdürücü, qaz, qaz–maye və yüksək effektli xromatoqrafiya üsulları geniş tətbiq edilir.

Məqsəd və vəzifələrə görə təsnifat:

**Analitik** xromatoqrafiya – eynilik və miqdarı təyinat

**Preparativ** xromatoqrafiya – maddələrin bölünməsi və təmizlənməsi

**Sənaye** xromatoqrafiyası – sənaye tullantılarına avtomatik nəzarət.

**Bölünmə xüsusiyyətinə görə:**

İnteqral (istifadə olunmur).

Differensial.

**Xromatoqrafik üsullarla dərman maddələrin eyniliyin təyini.**

Planar üsullarda (KX, NTX) Ləkələrin xüsusiyyətinə görə– rəngi, ölçüsü, şahid maddəyə uyğun olması (Rf).

Maddənin yerdəyişmə məsafəsinin, həlledicinin yerdəyişmə məsafəsinə olan nisbətini ifadə edən xromatoqrafik kəmiyyət Rf adlanır.

Rf kəmiyyəti müəyyən şəraitdə bölünməni ifadə edən kəmiyyətdir və dərman maddələrinin identifikasiyasında istifadə olunur.

Sütun xromatoqrafiyası üsullarında (QX, MX, QMX, YEMX):

Piklərə görə. **Pik** **(h)** - xromatoqramın kolonkadan xaric olan təyin edilən qarışığın komponentlərindən birinin (və ya qarışığın bir neçə bölünməmiş komponentinin) differensial detektor vasitəsilə qeyd olunan hissəsi.

**Saxlanma vaxtı (tR)** - nümunənin daxil edilməsi ilə maddənin maksimum qatılığının qeydə alınması arasındakı zamandır.

**Saxlanılma həcmi (VR)** — nümunənin daxil edilməsi ilə kolonkanın çıxışında təzyiq və temperaturdan asılı olaraq maddənin maksimum qatılığınin qeydə alınmasına qədər kolonkadan keçən daşıyıcı qazın həcmidir.

**Xromatoqrafik üsullarla dərman maddələrinin təmizliyinin təyini:**

Planar üsullarda (KX, NTX) əlavə ləkələrin əmələgəlməsinə görə.

Sütun xromatoqrafiyası üsullarında (QX, MX, QMX, YEMX) yeni piklərin əmələ gəlməsinə görə.

**Xromatoqrafik üsullarla dərman maddələrinin miqdarının təyini:**

Planar üsullarda (KX, NTX) Rf-ə görə.

Maddənin kağız üzərində yerdəyişməsinin böyüklüyünü Rf ilə ifadə edirlər. Rf yoxlanan maddənin keçdiyi məsafənin həlledicinin keçdiyi məsafəyə olan nisbətidir. Rf aşağıdakı düsturla hesablanır.

Rf= a/b

burada:

a - start xəttindən bölünmüş maddə ləkəsinin ortasına qədər olan məsafə;

b - start xəttindən həlledicinin sərhəd xəttinə qədər olan məsafədir.

RS= Rf(analiz olunan maddə/ Rf(standart nümunə)

Sütun xromatoqrafiyası üsullarında (QX, MX, QMX, YEMX) miqdarı təyinatda əsas göstərici pikin hündürlüyü və sahəsidir.

Miqdarı təyinatı üsullarının növləri:

* Daxili normallaşdırma üsulu
* Xarici standart üsulu
* Əlavə üsulu
* Daxili standart üsulu

**Gel xromatoqrafiya** təyin edilən maddə molekullarının ölçü və forma fərqlərinin olmasına əsaslanır.

**Affin xromatoqrafiya** bəzi biokimyəvi və bioloji proseslərin xarakter və spesifik qarşılıqlı təsirinə əsaslanır.

*İondəyişdirici xromatoqrafiya üsulu*

İondəyişdirici xromatoqrafiya üsulunun əsasını analiz olunan məhlulun ionları ilə sorbentin ionogen qrupları arasında olan dönər dəyişmə təşkil edir. Bu üsulda sorbent kimi ionitlər işlənir. İonitlər iondəyişdirici sorbentlər və ya qətranlar olub, molekullarında ionları dəyişə bilən ionogen qruplar olan qeyri-üzvi və ya polimer üzvi birləşmələrdir. İonogen qrupların təbiətindən asılı olaraq iondəyişdirici sorbentlər kationdəyişən (kationitlər) və aniondəyişən (anionitlər) ola bilər. Kationitlərin tərkibində kationları dəyişə bilən sulfo-, karboksil-, oksifenil- və digər qruplar vardır. Anionitlər isə aromatik amin və ya alifatik amin, ya da ammonium əsası tipli birləşmələr olub anionları dəyişmə qabiliyyətinə malikdir. H formada olan kationitlər və OH formada olan anionitlər yalnız həmin ionları dəyişmək xassəsinə malikdir.

Kationitlərlə ionların dəyişməsini belə göstərmək olar:

[R]-H+ + NaCl ⮀ [R]- Na+ + HCl

Beləliklə, ionların dəyişməsi nəticəsində duz turşuya çevrilir.

Anionitlərlə ionların dəyişməsi nəticəsində duz əsasa çevrilir.

[R]+OH- + NaCl ⮀ [R]+ Cl- + NaOH

İondəyişdirici qətranların bir xüsusiyyəti də ondan ibarətdir ki, onların iondəyişmə qabiliyyətini yenidən bərpa etmək mümkündür.

Bu məqsədlə içərisində kation dəyişən sorbent olan kolonkaya 4%-li turşu məhlulu, aniondəyişən sorbent olan kolonkaya isə 5%-li natrium-karbonat və ya 2%-li qələvi məhlulları o vaxta qədər əlavə edilir ki, xaric olan turşu və qələvinin konsentrasiyası ilkin konsentrasiya ilə eyni olsun. Sonra kolonkanı neytral reaksiya alınana kimi distillə edilmiş su ilə yuyurlar.

İçərisində sorbent olan kolonkanı bərpa etmədən bir neçə analiz üçün istifadə etmək olar.

*Sorbentin nazik təbəqəsində xromatoqrafıya* şüşə lövhələr üzərində olan sorbentin nazik təbəqəsində maddələrin tezliklə bölünməsinə əsaslanır. Nazik təbəqədə xromatoqrafiya iki şəkildə işlənir: sorbentin bərkidilmiş və
bərkidilməmiş təbəqəsi ilə. Sorbent kimi ən çox, “xromatoqrafiya üçün olan
alüminium-oksid,” “KSK markalı silikagel” işlənir .

Hazırda bu məqsədlə sənayedə istehsal olunan bərkidilmiş silikagel təbəqəli hazır “Silufol” lövhələrindən də istifadə edilir.

*Qaz xromatoqrafiyası (QX)*  müasir dövrdə geniş istifadə edilən, ekspress və yüksək həssaslığa malik üsuldur.

QX-nin köməyi ilə qazşəkilli və yüksək qaynama temperaturuna malik qarışıqları yüksək dəqiqliklə təyin etmək mümkündür.

**QAZ XROMATOQRAFİYASININ NÖVLƏRİ**

**Qaz-adsorbsion xromatoqrafiya (QAX)**

hərəkətsiz faza bərk adsorbentdən ibarətdir

***Qaz-maye xromatoqrafiya (QMX)***

hərəkətsiz faza bərk adsorbent üzərinə hopdurulmuş mayedən ibarətdir

**Xromatomass-spektrometriya (QX-MS)**

qaz xromatoqrafiyası - mass spektroskopiya (kütlə spektroskopiyası) tandemi

*Qaz-maye xromatoqrafiyası* (QMX) komponentlər qarışığının qaz və maye və ya bərk fazalar arasında paylanmasına əsaslanır.

Analiz edilən maddələrin paylanması çoxsaylı sorbsiya və desorbsiya prosesləri nəticəsində baş verir.

Analiz edilən maddə daşıyıcı-qaz axınına yeridilir, buxarlanır və buxarabənzər formada sorbentlə doldurulmuş kolonkadan keçir. Məhz buna görə də, QMX üsulu ilə uçucu və ya qaz halına keçirilə bilən maddələri analiz etmək olur.

Yüksək Effektivli Maye Xromatoqrafiyası – maye, sütun (boru) xromatoqrafiyasının bir növüdür.

YEMX maye xromatoqrafiyanın bir növüdür ki, burada nümunə yüksək təzyiq altında maye ilə (mobil faza) qeyri-bərabər və ya sferik hissələrdən, məsaməli monolitik təbəqədən və ya məsaməli membrandan ibarət olan stasionar faza ilə doldurulumuş boruya (sütuna) yönəldilir.