**5 dərs. Sütun xromatoqrafiyası.**

**Bərk qarışıqların və maye-maye qarışıqlarının ayrılması.**

**Sütun xromatoqrafiyası** - ayrılacaq maddələrin stasionar (sorbent) və mobil (elüent) fazalara müxtəlif yaxınlığına əsaslanan, maye və ya bərk maddələrin qarışıqlarının preparativ ayrılması üsuludur. Bir qayda olaraq, maddə stasionar faza ilə nə qədər yaxşı sorbsiya olunursa, maddə sütunu bir o qədər yavaş tərk edir.

Sütun xromatoqrafiyası maye və ya bərk üzvi maddələrin qarışıqlarını preparativ miqyasda (bir neçə milliqramdan on qrama qədər) ayırmaq üçün ən vacib üsuldur. Adətən ayrılma maye-adsorbsiya xromatoqrafiyası (fiziki təbiəti NTX-də olduğu kimidir) ilə həyata keçirilir ki, bu da əksər qeyri-ion birləşmələr üçün effektivdir.

Ayırma, məsaməli təbəqə rolunu oynayan sorbent (adətən silikagel) ilə doldurulmuş şüşə boru olan sütunda aparılır ki, mobil faza (elüent həlledici, məsələn, heksan, xloroform) oradan axır.

Ayrılacaq qarışıq sütunun yuxarı hissəsinə verilir, burada stasionar faza ilə sorbsiya edilir, sonra elüent sütundan davamlı olaraq axıdılır. Qarışığın hər bir komponenti sorbentə yaxınlıqdan asılı olan sürətlə mobil faza (elüent) tərəfindən sütuna aparılır. İdeal halda, qarışıq yavaş-yavaş sütundan aşağı enən və nəticədə qəbuledicidə toplanan bir sıra fərdi komponentlərə (zolağa) ayrılır. Həlledici uzaqlaşdırıldıqdan sonra müvafiq təmiz maddələr ayrılırlar.

Sütun xromatoqrafiyası üçün elüent nazik təbəqəli xromatoqrafiya üsulunda olduğu kimi. Qarışığı bir neçə elüentdə xromatoqrafiyadan keçirirlər və sütun xromatoqrafiyası üçün ləkələr arasındakı daha böyük məsafəyə malik olan həlledici istifadə olunur. Bir qayda olaraq, daha az polyar həlledicilər xromatoqrafiya ilə qarışıqların daha səmərəli ayrılmasına imkan verir. Polyarlığın artması və maddələri silikogelin səthindən "yumaq" qabiliyyətini artırmaqla (elüasiya etmə qabiliyyəti) həlledicilər aşağıdakı sırada yerləşdirilir:

sikloheksan < heptan < pentan < karbontetraxlorid < benzol < xloroform < dietilefiri < etilasetat < aseton < etanol < metanol < su < sirkə turşusu.

**Tətbiq sahəsi**

-Fərqli maye və ya bərk maddələrin qarışıqlarının ayrılması [Rf (və ya tR)](http://orgchemlab.com/chromatography.html).

-Hədəf maddənin sorulmayan qarışıqlardan ayrılması.

**1. Elüent.**

**Elüentə olan tələblər**.

1. Buraxılan maddələr elüentlə qarşılıqlı əlaqədə olmamalı və ya onun iştirakı zamanı parçalanmamalıdır.

2. Eluent ya fərdi həlledici, ya da bir neçə həlledicinin qarışığı ola bilər. Maddələrin ayrılmasından sonra həlledicilər asanlıqla yuyulmalıdır (buna görə də dimetilsulfoksid və ya dimetilformamid yüksək qaynama temperaturlarına malik olduqlarına görə uyğun deyillər).

3. Elüent elə seçilir ki, sorbentdə yoxlanılan maddələrin Rf-si ən azı 0,15 fərqlənsin, xromatoqrammanın bir dəfə yuylmasından sonra isə ləkələr 0,5-0,6-dan çox olmayan Rf ilə çıxsın.

4. Əgər müxtəlif polyar həlledicilərin təsiri altında: polyar (metanol, ola bilsin ki, sirkə turşusu və ya trietilamin əlavə edilməsi ilə) və qeyri-polyar (heksan, pentan) maddə başlanğıcdan hərəkət etmirsə və ya ön tərəflə hərəkət edirsə, sorbenti dəyişmək lazımdır.

Eluentin seçimini ən az polyar həlledicilərdən başlayırlar: n-heptan, n-heksan, n-pentan, sikloheksan və dıgər.

**Eluentin əlavə edilməsi.**

Eluent ya birbaşa, ya da damcı (ayırıcı) qıfdan etməklə əlavə edilir. Xromatoqrafiya zamanı **sorbent təbəqəsi heç vaxt qurumamalıdır**, əks halda o, çatlaya bilər və bu, ayırma gücünün azalmasına səbəb ola bilər.

**2. Xromatoqrafik sütun və sorbentin miqdarı**.

Sütün, tərəfinin birində məsaməli ucluğu olan və ya sorbentin tökülməməsi üçün bir parça pambıq yunla bağlanmış şüşə borudur. Sütunun uzunluğu ayrılacaq maddələrin Rf-dən asılıdır. Rf fərqi nə qədər kiçik olarsa, sütun bir o qədər uzun olar (sorbentin təbəqəsi).

3.**Sorbent.**

Ayrılacaq qarışığın xüsusiyyətlərinə əsasən seçilir.

**Sorbentə olan tələblər.**

1. Ayrılmalı olan maddələr sorbentin iştirakı zamanı parçalanmamalıdır.

2. Əgər müxtəlif polyar həlledicilərin təsiri altında maddə başlanğıcdan hərəkət etmirsə və ya ön tərəflə hərəkət edirsə - sorbent dəyişdirilməlidir (polyar sorbentdən qeyri-polyar sorbentə və əksinə).

Sütun xromatoqrafiyasında ən geniş istifadə edilən sorbentlərdən biri silikogeldir. Hərəkətli faza kimi metanol və etanoldan istifadə silikogelin aktivliyini azaldır. Xromatoqrafiya üçün istifadə olunan alüminium-oksid üç növdə ola bilər: əsası, neytral və turş. Sütun xromatoqrafiyasında adətən əsası (pH 9,0-10,0) və neytral alüminium-oksid istifadə olunur. Alüminium-oksidindən istifadə edərkən, aseton və etilasetat elüent kimi istifadə edilə bilməz. Maqnezium-oksidinin xüsusiyyətləri alüminium-oksidinin xüsusiyyətlərinə bənzəyir, lakin maqnezium doymamış birləşmələri ayırmasında daha effektivdir. Aktivləşdirilmiş kömür karbohidratların, peptidlərin, aminturşularının ayrılması üçün uygundur. Aromatik karbohidrogenləri seçici şəkildə sorbsiya edir.

**4. Fraksiya qəbulediciləri.**

Fraksiyaları toplamaq üçün həm adi yastı kolbalardan, həm də sınaq şşüşələrindən istifadə edə bilər. Ayrılacaq maddələr rəngli olduqda onların sütundan necə çıxdığını görmək olar. Hər bir maddə ayrı qəbuledicidə toplanır. Maddələr qarışıq şəklində çıxırsa, bu qarışıq ayrıca yığılır. Ayrılmalı olan maddələr rəngsiz olduqda, sütunun ölçüsündən və maddələrin ayrılma dərəcəsindən (Rf) asılı olaraq müəyyən həcmdə olan fraksiyalar yığırlar.

**5. Tutqac.**

Sütunu ştativdə tutqac vasitəsilə bərkidirlər.

Distilyasiya zamanı borunun çatlamaması üçün **metal tutqac şüşə ilə təmasda olmamalıdır**. Bunun üçün sütun ilə tutqac arasına rezin qoruyucular qoyulur.

**Sütun xromatoqrafiyanın aparılması üçün tövsiyələr**

Sütun xromatoqrafiyasının müasir üsulları, istənilən tərkibli qarışıqları ayırmağa imkan verir. Bunu etmək üçün qarışığın hər bir komponenti üçün elüent və sorbenti diqqətlə seçmək lazımdır.

1. Sütun xromatoqrafiyasını aparmazdan əvvəl müvafiq elüent və sorbenti seçmək lazımdır. Qarışığın ayrılmış komponentinin effektiv təmizlənməsi üçün Rf dəyəri ~0,5 olmalıdır. Qatışıqların Rf-də ən azı 0,15 ilə fərqlənməlidir.

2. Sütun xromatoqrafiyası üçün eluent NTX analizindən daha az polyar olmalıdır.

3. Bir neçə maddənin qarışığının effektiv ayrılması üçün gradient elüasiyadan istifadə edilə bilər, yəni (silikagel üzərində xromatoqrafiya misalında), qeyri-polyar həlledicilərlə (pentan, heksan) elüasiya etməyə başlanmalı, sonra qarışığın polyarlığını tədricən artırmalı (qarışıqlar: heksan/etilasetat 20:1-dən 1:5-ə qədər) və nəhayət yüksək polyar həlledicilərə və qarışıqlara (metanol, metanol/trietilamin (20:1)) keçmək lazımdır.

**4. Sütunun sorbentlə doldurulma üsulları:**

**1. Quru üsul.** Sütun sorbentlə doldurulur. Bundan sonra maddə dərhal tətbiq olunur və elüasiya başlayır. Bu üsulun çatışmazlığı sorbent təbəqəsinin tez-tez çatlamasıdır ki, bu da zəif ayrılma ilə nəticələnir. Bu üsul flaş xromatoqrafiyası üçün uyğundur.

**2. Eluent, sonra sorbent.** Sütun uzunluğunun yarısına qədər elüentlə doldurulur, sonra ora sorbent hissə-hissə əlavə edilir və onun tam islanmasına əmin olmaq lazımdır. Bu üsulun çatışmazlığı odur ki, sorbent kifayət qədər kiçik ölçülüdürsə, o, topaqlar şəklində bir-birinə yapışır və toplar şəklində sütunun aşağısına düşür. Üsul daha çox iri ölçülü silikogellə işlədikdə istifadə olunur.

**3. Eluentdə suspenziya şəklində sorbent.** Sütunalazım olan miqdarda quru sorbent əlavə olunur (lazım olan miqdarı müəyyən etmək üçün), sonra o, sütundan kimyəvi stəkana boşaldılır. Sorbentin üzərinə elüent əlavə olunur və homogen nəmləndirmə üçün qarışdırın. Bir müddət sonra əmələ gəlmiş suspenziya kimyəvi qıf vasitəsi ilə sütuna yerləşdirilir. Sorbentin qalıqları elüent vasitəsi ilə stəkanın divarlarından yuyulur.

**5. Maddənin sütuna yerləşdirmə yolları:**

**1. Quru üsul**. Maddələr fərdi olaraq tətbiq olunur - bərk (sadəcə sütuna yerləşdirilir) və ya maye (pipetlə sütuna köçürülür) şəkildə.

**2. Məhlulda**. Maddə elüentin minimum miqdarında və ya elüentdən daha az polyar həlledicidə həll edilir və pipet vasitəsi ilə sütuna yerləşdirilir. Həlledici elüentdən daha az polyar olmalıdır, əks halda yoxlanılan maddə bu həlledici ilə birlikdə sütundan çəkiləcəkdir. Maddə ilə məhlul təbəqəsi nə qədər dar olarsa, ayrılma bir o qədər yaxşı olar.

**3. Sorbentlə bərk qarışıq şəklində.** Maddə az miqdarda həlledici əlavə edilməklə sorbentlə qarışdırılır. Həlledici rotor buxarlandırıcı vasitəsilə uzaqlaşdırılır. Quru sorbent ilə maddə sütuna yerləşdirilir.

6. Sorbent təbəqəsini dağıtmamaq üçün maddəni (maye və ya məhlulda) sütuna divarları boyunca tətbiq etmək lazımdır. Maddə nə qədər bərabər paylanırsa, bir o qədər yaxşı ayrılır.

7. Maddə tətbiq edildikdən sonra sorbentin üzərini sütunun üst qatını pambıq və ya filtr kağızı qoymaqla örtmək olar ki, eluent əlavə edildikdə sorbent təbəqəsi yuyulmasın. Sorbent təbəqəsi nə qədər hamar olarsa, maddələrin ayrılması bir o qədər yaxşı olar.

**8. Təzyiq altında elüasiya.** Əksər hallarda elüasiya atmosfer təzyiqində aparılır. Elüasiya sürəti nə qədər yüksəkdirsə, ayrılma bir o qədər pis olacaq. Bununla belə, kiçik dənəli sorbentlərdən istifadə edildikdə, prosesin son dərəcə aşağı sürəti səbəbindən elüasiya yüksək təzyiqdə aparılmalıdır. Belə hallarda xromatoqrafik sütunların yerləşdirildiyi Bunsen kolbalarından istifadə olunur ki, o ya vakuum nasosuna qoşularaq (Şott ​​filtrində flaş xromatoqrafiyasının aparılması üçün ən uyğundur) və ya pompa ilə yüksək təzyiq altında olur.

9. Xromatoqrafiya zamanı sorbent təbəqəsi heç vaxt qurumamalıdır, əks halda o, çatlaya bilər və bu, ayırma gücünün azalmasına gətirib çıxara bilər.

10. Maddə istifadə olunan elüentdə həll olmalıdır, əks halda o, sütunda kristallaşacaq, bu da ayrılmanı pozur. Kristallaşma baş veribsə, aşağıdakıları etmək olar:

* 1. elüenti dəyişmək (maddəni həll edən başqa elüentə);
	2. elüentə, maddəni həll edən və polyarlığı yaxın olan həlledici əlavə etmək;
	3. sorbent təbəqəsini elüentin qaynama temperaturundan aşağı temperatura qədər qızdırmaq.
	4. gözləmək, bəzi hallarda maddənin böyük miqdarda elüentdə tədricən həll edilməsi mümkündür.

Sütun xromatoqrafiyasının uğuru əsasən sorbent və mobil fazanın düzgün seçilməsindən asılıdır.

Sütun xromatoqrafiyasının çatışmazlığı elüasiya müddətinin uzun olmasıdır.

Bölüşdürücü sütunun xromatoqrafiyası əks hərəkətli ekstraksiyaya bənzəyir. O, maddələrin mobil üzvi faza ilə bərk daşıyıcının saxladığı sulu faza arasında paylanmasına əsaslanır. Daşıyıcı ayrılacaq maddələrə münasibətdə inert olmalıdır, lakin stasionar maye fazını özündə yaxşı saxlamalıdır. Əsas istifadə olunan daşıyıcılar (silikagel, kizelqur, selüloz) öz çəkisinin 1 qramına 0,5-1 mq maye faza tutur. Su ən çox stasionar maye faza kimi istifadə olunur.

Bölüşdürücü sütun xromatoqrafiyası təmiz maddələrin preparativ izolyasiyası üçün faydalıdır.

**Bərk qarışıqların və maye-maye qarışıqlarının ayrılması.**

**Qarışıqların ayrılması üsulları** - ən vacib analitik əməliyyatlar biri olaraq hansısa bir maddənin identifikasiya və miqdarı təyini üçün digər maddələrin mane olması zamanı istifadə olunur.

**Qarışıqların ayrılması** - saf maddələrin qarışıqlardan ayrılması prosesidir.Ayrılacaq maddələr müxtəlif kimyəvi və fiziki xüsusiyyətlərə malikdir.

Fərdi maddələr qarışıqlardan təcrid edilə bilər. Qarışıqlarda ayrı-ayrı maddələr öz xüsusiyyətlərini saxlayır. Bunu etmək üçün müxtəlif yollar var. Qarışıqların ayrı-ayrı maddələrə ayrılması onları komponentlərinin fiziki xüsusiyyətlərinin fərqliliyinə əsaslanır.

**Müxtəlifcinsli (heterogen) qarışıqların ayrılması.**

1. Mayenin mayedə müxtəlifcinsli qarışığı ayrıcı qıfla ayrılır. Bu ayrılma üsulu maddələrin sıxlıqlarının fərqlənməsinə əsaslanır.
2. Bərk maddələrin maye ilə müxtəlifcinsli qarışığı süzmə, çökdürmə, filtirləmə, durultma üsulları ilə ayrılır. Bu üsullarda maddələrin sıxlıqlarının fərqinə əsaslanır.

Çökdürmə. Üsul müxtəlif sıxlığa malik, həll olunmayan maddələri ayırmaq üçün istifadə olunur. Məsələn, qum və kömürün ayrılması. Qarışıq suda həll edilir və qarışdırılır. Sıxlığı kömürün sıxlığından böyük olan qum kolbanın dibinə çökür, kömür isə suyun səthinə üzür. Suyun səthindən kömür çıxarılır, bundan sonra su şüşə çubuqdan istifadə edərək çöküntüdən diqqətlə boşaldılır.

Çökdürmə üsulu ilə həmçinin yağ və su kimi bir-birinə qarışmayan iki maye qarışığı da ayrıla bilər. Bunun üçün, bölüşdürücü qıfdan istifadə olunur. Ayrılacaq qarışıq qıfa tökülür və iki maye arasındakı sərhəd gözlənilir. Üst təbəqədə daha aşağı sıxlığa malik bir maye - yağ, aşağıda isə daha yüksək sıxlığa malik - su var. Bundan sonra kran açılır, su axır və yağ ayırıcı hunidə qalır.

*Dekantasiya* – suspenziyanın bərk fazasının maye fazadan ayrılması üçün istifadə olunur. Bərk fazanın şökməsindən sonra məhlulun ayrılması qeydə alınır.

Filtrasiya çöküntünü məhluldan ayırmağa imkan verir. Filtrləmə köməyi ilə suyu tərkibində həll olunmayan qarışıqlardan, məsələn, qumdan, gildən, təbaşirdən təmizləmək mümkündür. Laboratoriyada filtrasiya üçün filtr kağızı və ya xüsusi şüşə filtrlərindən istifadə olunur. Filtrdəki məsamələrin ölçüsü su molekullarını və orada həll olunan maddələri sərbəst şəkildə keçir, lakin həll olunmamış maddələrin hissəciklərini saxlayır. Filtr dörd qatlanır və qıfa daxil edilir. Sonra qıf kolbaya və ya stəkana qoyulur və ayrılacaq qarışıq diqqətlə süzülür. Süzgəcdən keçən və kolbaya və ya stəkana yığılan maye filtrat adlanır.

*Maqnit vasitəsi ilə ayrılma.* Maqnitdən istifadə edərək bəzi maddələrin, məsələn, dəmir, kobalt, nikel maqnit xüsusiyyətlərinə malik olduğu, digərlərinin isə maqnit xüsusiyyətlərini nümayiş etdirmədiyi qarışıqları ayırmaq üçün istifadə olunur. Maqnitdən istifadə edərək, dəmir və kükürd, dəmir və mis, dəmir və karbon qarışığı ayrıla bilər.

**Eynicinsli (homogen) qarışıqların ayrılması üsulları:**

1. qaz-qaz qarışığı – distillə ilə ayrılır.
2. qaz-maye qarışığı – buxarlandırma üsulu ilə ayrılır.
3. maye-maye qarışığı – distillə üsulu ilə ayrılır.
4. bərk maddə-maye qarışığı – buxarlandırma üsulu ilə ayrılır.

*Buxarlandırma* həll olunan bərk maddələri məhlullardan təcrid etmək üçün istifadə olunur. Bunun üçün məhlul buxarlanan çini kasada yumşaq bir şəkildə qızdırılır. Su buxarlandıqdan sonra məhlulda olan bərk maddələr kasanın dibində qalır. Buxarlandırma yavaş-yavaş aparılırsa, onda həll olunan maddə kifayət qədər böyük kristallar şəklində məhluldan təcrid oluna bilər. Və ya belə məhlulu soyutduqdan sonra duz kristalları məhluldan çökür, onu da mayeden süzməklə ayırırlar. Bu üsul *kristallaşma* adlanır.

*Sublimasiyav* iki qatı maddəni heterogen qarışıqdan ayırmaq üçün istifadə olunan xüsusi bir ayırma üsuludur. Adətən aşağı qaynama temperaturuna malik maddələrin təmizlənməsi üçün istifadə olunur. Bərk bir qarışıq qızdırıldıqda, lazımi maddə sublimasiya olunur və qaz halına gəlir, sonra soyudulur. Sublimasiya qızdırılmaya məruz qalan maddənin maye mərhələsindən yan keçərək bərk vəziyyətdən qaz halına keçməsidir

***Distillə*** – eynicinsli qarışıqlardan daha uçucu mayenin buxarlanması və sonra kondesləşməsi ilə ayrılması üsuludur.

Distillə və ya distillə bir-biri ilə qarışan və müxtəlif qaynama temperaturlarına malik mayeləri və ya qazları ayırmaq üçün istifadə olunur. Qarışıq qızdırıldıqda, tərkibindəki maye komponentlər qaynama temperaturlarına müvafiq ardıcıl olaraq buxarlanırlar. Buxarlar toplanılır və soyuduqdan sonra kondensasiya olunur. Bu üsulla yağı fraksiyalara, su və aseton, su və spirt ayırmaq olar. Distillə (təmizlənmiş) suyunu tərkibindəki həll olunan duzlardan təmizləmək üçün də istifadə edilə bilər.

Buxarın mayeləşməsi kondensləşmə adlanır. Etil spirtinin suda məhlulunu qızdırdıqda, ilk növbədə, qaynama temperaturu daha az olan, yəni daha uçucu maye spirt buxarlanır, onun buxarlarını soyutmaqla təmiz maye şəklində spirt alınır. Buradan belə nəticə çıxarmaq olar ki, distillə üsulu mayelərin qaynama temperaturunun fərqlənməsinə əsaslanır. Yəni qaynama temperaturu aşağı olan maye daha tez buxarlanır.