

Колоїдна хімія (Kolla – клей) – наука, що вивчає фізико-хімічні властивості багатофазних дисперсних систем, які складаються з двох або більше речовин, одна з яких перебуває у стані високого роздрібнення. Основні властивості типової колоїдної (дисперсної) системи :

а) гетерогенність; б) висока дисперсність (роздрібненість, розмір частинок $10^{-5} - 10^{-9}$ м); в) термодинамічна нерівноважність. Найдрібніші частинки дисперсної системи – не молекули, а значно більші утвори – міцели (агрегати з багатьох молекул). Ці частинки можуть бути маленькими кристалами речовини, роздрібненими в об'ємі іншої рідини або у газу.

Біологічні системи є гетерогенними. Вони складаються з кількох фаз, розділених поверхнею поділу. Процеси, що проходять на межі поділу фаз, - поверхневі процеси – визначають частину життєвих процесів. Живі організми містять безліч поверхонь поділу – стінки судин, клітин тощо. Так, загальна поверхня еритроцитів крові досягає ~ 3200 м². Протікання хімічних та біохімічних процесів на цих поверхнях складає основу життєдіяльності. Важлива роль у поверхневих процесах належить адсорбції. Будь-які поверхневі процеси – це сорбційні процеси. Дія біокаталізатора починається з адсорбції субстрату на поверхні ферменту. Первинним актом транспортування речовин крізь мембрану є адсорбція цієї речовини на мембрані. Кисень з'єднується з гемоглобіном адсорбційним зв'язком та переноситься кров'ю; еритроцити адсорбують та розносять до різних органів амінокислоти; стійкість ліпідних частинок у водних біологічних системах пов'язана з утворенням адсорбційної білкової оболонки. Отже, живлення, дихання, основні процеси організму – все це неможливе без адсорбції.

Будь-яка поверхня поділу фаз має вільну поверхневу енергію, тому що міжмолекулярні сили зчеплення на межі поділу фаз неоднакові. Так, у системі рідина–газ (Р-Г) молекули, що містяться всередині рідини, оточені такими самими молекулами, і тому їх силові поля (сили взаємодії) повністю скомпенсовані (див. рис. 1).

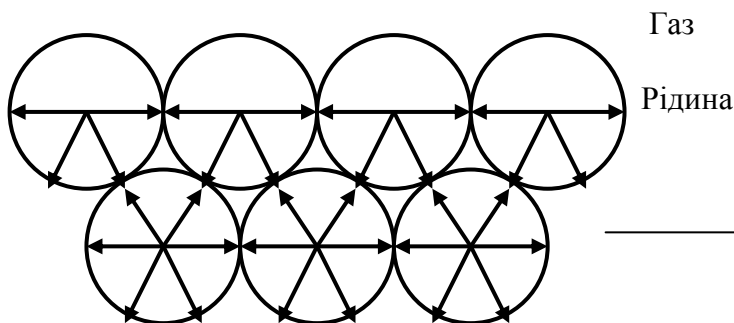


Рисунок 1 – Схема дії міжмолекулярних сил всередині рідини та на її поверхні

У той самий час молекули рідини, що перебувають на межі поділу фаз, зазнають неоднакового притягання з боку молекул рідкого та газоподібного середовищ – некомпенсовані силові поля. Таким чином, молекули рідини на поверхні зазнають дії сил, що намагаються втягнути їх всередину. Отже, поверхня рідини завжди намагається зменшитись, причому цей процес – спонтанний. Цим пояснюється сферична форма планет, кулеподібна форма крапель рідини.

Звідси усяка поверхня характеризується запасом енергії – поверхневою енергією F , яка залежить від величини поверхневого натягу δ та площі поверхні S і яка

для високодисперсних систем дуже велика – десятки та сотні м^2 на грам:

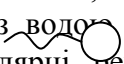
$$F = \delta S.$$

Поверхневий натяг, н/м , – сила, що діє на одиницю поверхні і намагається звести її до мінімуму:

$$\delta = F/S.$$

Для води поверхневий натяг $\delta = 7,3 \cdot 10^{-2} \text{ н/м}$, ртуті – $47,5 \cdot 10^{-2} \text{ Н/м}$. Речовини, що зменшують поверхневий натяг чистих розчинників, і концентруються на поверхні поділу фаз, мають назву ПАР (поверхнево-активні речовини). До них належать органічні кислоти R-COOH , спирти R-OH , сульфопохідні $\text{R-SO}_3\text{H}$, аміни R-NH_2 , білки, мила та СМС.

Молекули ПАР – дифільні (двоякі) або амфіфільні, складаються з 2-х частин: 1 – полярна гідрофільна група, що сприяє розчиненню ПАР у воді і 2 – неполярний гідрофобний радикал, який сприяє розчиненню ПАР у неполярних середовищах. Зображується у вигляді “пуголовків” або , де коло – полярна група, а хвіст – вуглеводневий радикал: $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$.

До ПАР (поверхнево-інактивні речовини) належать неорганічні кислоти, основи, солі, які гідратуються, тобто взаємодіють з водою  сильніше, ніж молекули води між собою. Неполярні речовини (вуглеводи)  практично не змінюють поверхневий натяг.

Крива, що виражає залежність поверхневого натягу розчину від концентрації з розчиненої ПАР, має назву ізотерми поверхневого натягу $\delta = f(C)$ (див. рис. 2)

δ

Оцтова кислота

Валеріанова кислота

Рисунок 2 – Залежність поверхневого натягу від концентрації ПАР

Накопичення однієї речовини на межі поділу фаз називається **адсорбцією**. Це спонтанний термодинамічно вигідний процес, у результаті якого зменшується вільна поверхнева енергія системи. Речовина, на поверхні якої відбувається адсорбція, - адсорбент (сорбент), адсорбуюча речовина – адсорбтив (сорбтив).

Залежність між адсорбцією, концентрацією ПАР та зміною поверхневого натягу, г, моль/м², виражає рівняння Гіббса

$$\Gamma = - \frac{C}{RT} \frac{\Delta\delta}{\Delta C},$$

де $\Delta\delta$ – зміна поверхневого натягу, що відповідає зміні концентрації C ; $\Delta\delta/\Delta C$ – поверхнева активність; Γ – величина, що являє собою надлишок молів речовини, який накопичується в 1 м² поверхневого шару і має товщину приблизно в 1 молекулу (мономолекулярний шар). У випадку ПАР поверхнева активність $\Delta\delta/\Delta C < 0$, поверхневий натяг зменшується із збільшенням концентрації ПАР і $\Gamma > 0$, тобто адсорбція позитивна (органічні кислоти, спирти). Це пояснюється тим, що у речовинах, які містять ПАР, взаємодія між молекулами ПАР та диполями води слабша, ніж взаємодія між молекулами розчинника. Тому молекули ПАР виштовхуються з об'єму розчину в поверхневий шар і концентруються у ньому.

У випадку, якщо поверхнева активність $\Delta\delta/\Delta C = 0$, то $\Gamma = 0$, тобто речовина рівномірно розподілена в об'ємі і на поверхні (розчин сахарози). У випадку ПІР поверхнева

активність $\Delta\delta/\Delta C > 0$, тоді $\Gamma < 0$, тобто адсорбція негативна, і концентрація розчиненої речовини у поверхневому шарі менша, ніж в об'ємі (мінеральні солі, кислоти, основи). Поверхнево-активні речовини, як правило, добре розчинні у воді, їх взаємодія з молекулами розчинника сильніша, ніж

між самими молекулами розчинника, і тому вони рухаються з поверхні розчину вглибину. Виходячи з експериментальних даних, при $\Gamma = \text{const}$ на основі рівняння Гіббса будують ізотерму адсорбції $\Gamma = f(C)$ (див.рис.3).

З рівняння адсорбції випливає, що при малих концентраціях ПАР кількість адсорбованої речовини прямо пропорційна його концентрації, а при великих – адсорбується найбільш можлива кількість Γ_{max} . При цьому величина Γ_{max} постійна для всіх членів одного гомологічного ряду, що можна пояснити таким чином.

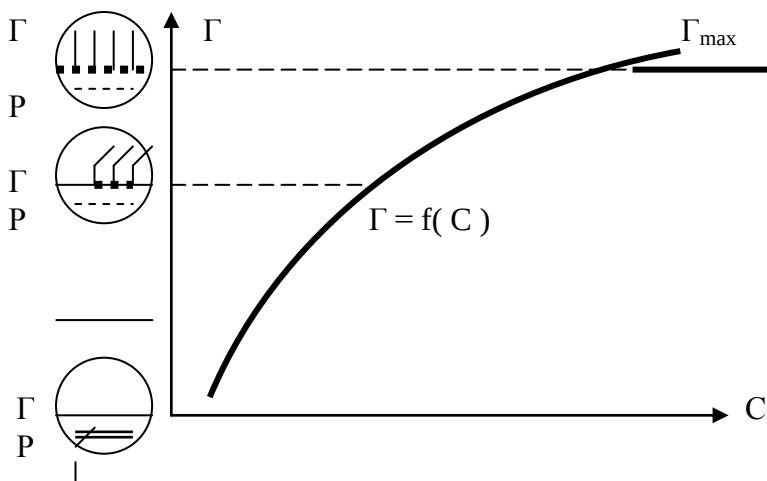


Рисунок 3 – Ізотерма адсорбції ПАР: структура поверхневого шару:

1 - чистий розчин; 2 - ненасичений мономолекулярний шар ПАР; 3 - насичений мономолекулярний шар ПАР

Молекули ПАР – дифільні молекули, потрапляючи на поверхню поділу фаз, орієнтуються там певним чином: полярна гідрофобна група розчиняється у воді, а неполярний гідрофобний радикал виштовхується в неполярну фазу. На рис. 4 зображена модель будови адсорбційного моношару ПАР залежно від концентрації ПАР:

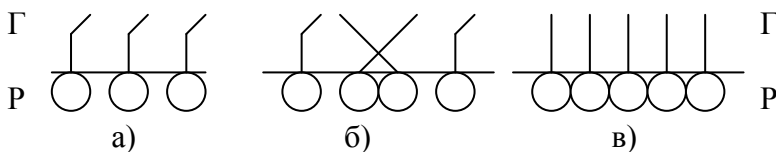


Рисунок 4 – Модель будови адсорбційного моношару ПАР

а) низька концентрація ПАР (молекули вільно “плавають” на поверхні);

б) середня концентрація ПАР;

в) велика концентрація (щільна упаковка) - насичений мономолекулярний шар, де радикали молекул ПАР перпендикулярні до поверхні води. Дійсно, при вертикальній орієнтації зміна довжини вуглеводного радикала не змінює площі, зайнятої гідрофільною групою однієї молекули ПАР. Отже, кількість молекул, що припадають на одиницю площі, пропорційна $\Gamma_{\max}$. Таким чином, виходячи з будови поверхневого адсорбційного моношару, можна зробити такі висновки:

1 Велика кількість малорозчинних дифільних (амфіфільних) молекул (сполук) при нанесенні на

поверхню води довільно розтікаються по ній до найтоншого мономолекулярного шару (нафта).

- 2 Поверхнева активність ПАР одного гомологічного ряду, наприклад, органічних кислот, спиртів збільшується в 3-3,5 рази при збільшенні вуглеводного радикала на одну CH_2 – групу (правило Дюкло-Траубе). Обмеження: для вищих кислот і спиртів розчинність значно знижується і відповідно знижується поверхнева активність.
- 3 На 1 м^2 площі поверхневого адсорбційного моношару вміщується одна і та сама максимальна кількість адсорбційних молекул, яка не залежить від довжини вуглеводного радикала ПАР. Звідси посадкова площадка однієї молекули ПАР у насиченому моношарі залежить тільки від природи полярної групи і є постійною для гомологічного ряду:

$$S_0 = \frac{1}{\Gamma_{\max} \cdot N_0},$$

де N_0 – число Авогадро, що дорівнює $6,024 \cdot 10^{23}$.

- 4 Товщину насиченого мономолекулярного адсорбційного шару (довжина молекули ПАР) можна визначити за формулою

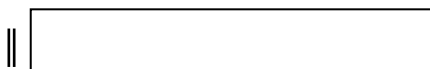
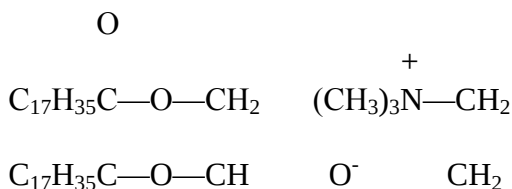
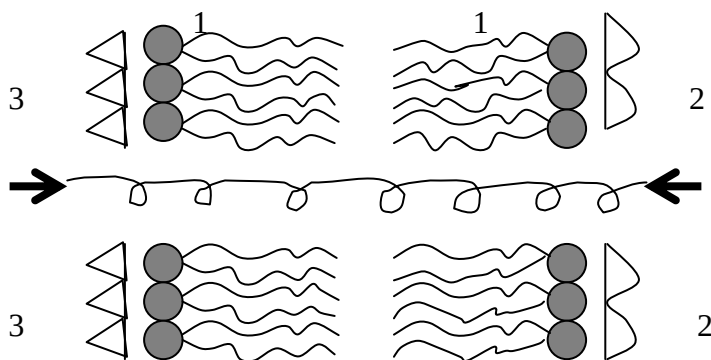
$$l = \frac{\Gamma_{\max} \cdot M}{\rho},$$

де M – молярна маса ПАР, кг/моль ;

ρ – густина, кг/м^3 .

Таким чином, товщина насиченого адсорбційного моношару залежить від довжини вуглеводного радикала.

Уявлення про будову мономолекулярного шару лежить в основі сучасного вчення про будову біомембрани. Біомембрана клітини складається з двох шарів ліпідів (наприклад фосфатидилхоліну), молекули яких у водних розчинах утворюють багатомолекулярні структури з упорядкованим розташуванням. А саме: молекули ліпідів повернені гідрофобними хвостами всередину, взаємодіючи одна з одною, а гідрофільними водорозчинними групами - назовні, гідратуючись у воді (див. рис. 5). На полярних групах фосфоліпідів адсорбовані як молекули полісахаридів, так і молекули фібрилярних і глобулярних білків.





Неполярна

Полярна частина
фосфатидилхоліну



Рисунок 5 – Схема будови біомембрани типу сендвичу:

- 1 - подвійний шар ліпідів; 2 - шар білків;
- 3 - шар полісахаридів

Ці білки можуть перебувати або на поверхні мембран, або пронизувати мембрану наскрізь. Висловлено припущення, що активний транспорт речовин крізь мембрану здійснюється в результаті конформаційних змін білків, що пронизують мембрану. Шляхом активного переносу в клітину надходить і виводиться з неї велика кількість частинок: іони натрію, калію, хлору, глюкози і т.п. Іони, які адсорбуються на поверхні мембрани, створюють мембранний потенціал.

Адсорбція на твердих поверхнях. Для адсорбції на межі тверде тіло – розчин (Т-- Р) і тверде тіло – газ (Т – Г) характерно:

- а) поверхня твердих тіл фізично неоднорідна;
- б) значна частина твердих адсорбентів – порошки, гелі (ферогель, силікагель) – це пористі тіла, пронизані сіткою найтонших капілярів. У процесі адсорбції бере участь не тільки зовнішня, але і внутрішня поверхня адсорбентів. Процес адсорбції на твердому адсорбенті можна поділити на:

- а) **фізичну адсорбцію**, коли відбувається міжмолекулярна взаємодія між адсорбентом та адсорбтивом;

б) *хемосорбцію*, якщо процес супроводжується хімічною реакцією адсорбенту з адсорбтивом.

Адсорбцію на твердих тілах пояснює теорія силових полів притягання, що виникають за рахунок неврівноважених зв'язків у молекулярній решітці, причому на гранях твердого адсорбенту адсорбція особливо сильна. Адсорбційні сили складаються з хімічних сил взаємодії і більш слабких сил – вандерваальсівських.

Основні положення теорії мономолекулярної адсорбції газів на твердому адсорбенті обґрунтував Ленгмюр:

1 Адсорбція викликається силами, близькими до хімічних.

2 Адсорбція відбувається тільки на активних центрах твердої поверхні, що мають некомпенсовані міжмолекулярні сили. Кожний активний центр утримує одну молекулу.

3 На поверхні адсорбенту утворюється мономолекулярний шар.

4 Адсорбовані молекули локалізовані, тобто не можуть переміщуватись на поверхні адсорбенту. Взаємодія між молекулами адсорбтиву не враховується.

5 Адсорбційний процес перебуває в динамічній рівновазі зі зворотним процесом – десорбцією.

На основі цих положень було виведено рівняння ізотерми адсорбції Ленгмюра

$$\Gamma = \Gamma_{\infty} \frac{KP}{1 + KP}, \text{ або } \Gamma = \Gamma_{\infty} \frac{КС}{1 + КС},$$

де Γ – адсорбція, моль/м², Γ_{∞} - гранична адсорбція (ємність моношару), моль/м²; K – константа, що характеризує поверхневу активність адсорбтиву; P – рівноважний тиск газу (пари) адсорбтиву в об'ємі фази, що межує з адсорбентом; C – рівноважна концентрація розчину, що межує з адсорбентом.

Це рівняння добре виражає адсорбцію на твердих поверхнях, при невеликих тисках газу в оточуючому просторі, а також адсорбцію ПАР із розчинів при невеликих концентраціях. Для середніх концентрацій широко використовується емпіричне рівняння Фрейндліха

$$A = K \cdot P^{\alpha} \text{ або } A = K \cdot C^{\alpha},$$

де A – адсорбція на твердому адсорбенті, моль/кг; C – рівноважна концентрація адсорбтиву; P – рівноважний тиск парів адсорбтиву; K і α - константи рівняння.

За значенням Γ_{∞} може бути знайдена важлива характеристика твердого адсорбенту – питома активність поверхні S , м²/г, якщо відома площа S_0 , яку займає одна молекула газу або ПАР у насиченому моношарі,

$$S = S_0 \cdot \Gamma_{\infty} \cdot N_0,$$

де N_0 - число Авогадро.

Адсорбція газів (парів) на твердих адсорбентах - процес складний. Залежність від зовнішніх умов, природи адсорбенту та адсорбтиву адсорбція може відбуватись з утворенням на поверхні полімолекулярного адсорбційного шару: ізотерма буде мати більш складний вигляд (ступінчастий, S-подібний і т.п.) і не узгоджується з ізотермою Ленгмюра. Сили притягання твердого адсорбенту часто настільки великі, що вони не екрануються одним шаром молекул, а вся адсорбована

пара перебуває на поверхні практично у вигляді рідини. Так, при адсорбції парів твердими пористими адсорбентами, якщо пори дуже вузькі ($r = 1,0^{-7}$ см, наприклад для активованого вугілля), відбувається утворення полімолекулярних адсорбційних шарів на стінках капілярів, потім ці шари зливаються, і капіляри виявляються заповненими (полімолекулярна адсорбція). Якщо пори більш широкі ($r \sim 10^{-6}$ см, наприклад, ферогель, алюмогель, силікагель), в результаті полімолекулярної адсорбції в капілярах адсорбенту накопичується рідина, яка змочує стінки, і в капілярі утворюється вгнутий меніск рідини. Внаслідок цього відбуваються конденсація пари в капілярах і заповнення їх рідиною – спочатку заповнюються найвужчі капіляри, а потім ширші. Це явище капілярної конденсації. Треба мати на увазі, що капілярна адсорбція може відбуватись і на гладкому непористому адсорбенті (графіт, слюда), а капілярна конденсація – тільки на пористих адсорбентах.

Найкращими адсорбентами є тверді речовини з дуже розвинутою поверхнею і пористістю. До них належать: активоване деревне вугілля, тваринне (кісткове) вугілля, силікагель, алюмогель, ферогель, графіт та інші. Останнім часом широкого використання як адсорбенти набули молекулярні сита (наприклад, цеоліти, кристали яких містять пори).

Тверді адсорбенти широко використовуються для очищення газів у технологіях очищення харчових продуктів, очищення і зм'якшення води, для приготування і очищення біологічно активних речовин, лікарських форм. У медичній практиці активоване вугілля (карболен) є основним адсорбентом у гемосорбції. Карболен використовується для поглинання отруйних речовин, які потрапили в організм, при шлункових захворюваннях,

певних типах алергії, для поглинання надлишку газів, що накопичуються в кишечнику.

Розглядаючи адсорбцію з розчинів на твердому тілі розрізняють:

а) адсорбцію молекулярну - неелектролітів або слабких електролітів, коли адсорбуються молекули адсорбтиву;

б) адсорбцію іонну – сильних електролітів, коли вибірково адсорбується один з іонів електроліту.

Молекулярна адсорбція залежить від природи адсорбенту і того середовища, в якому розчинені молекули адсорбтиву. Розрізняють гідрофільні та гідрофобні адсорбенти. Гідрофільні (полярні) – адсорбенти, поверхня яких добре змочується водою. До них належать глини, бентоніт, силікагель, алюмогель (Al_2O_3), цеоліти. Такі адсорбенти краще адсорбують ПАР з вуглеводневих (неполярних) середовищ, бо взаємодія між гідрофільним адсорбентом та вуглеводневим середовищем незначна. Такі гідрофільні адсорбенти використовуються для очищення масел, нафтових фракцій, але їх не можна використовувати для очищення водних розчинів, оскільки на таких адсорбентах буде переважно адсорбуватись вода, а не розчинені ПАР.

Гідрофобні неполярні адсорбенти змочувані маслами, вуглеводнями, але не водою. До них належать активоване вугілля, тальк, графіт, парафін та інші, які краще адсорбують з водних розчинів. Так, активоване вугілля використовують для адсорбції з водних розчинів – очищення цукрових сиропів, видалення сивушних масел із спиртоводних розчинів (див. рис. 6).

Механізм молекулярної адсорбції лежить в основі сучасного методу лікування – гемосорбції, тобто очищення крові від токсичних речовин за допомогою різних адсор-



бентів, частіше активованого вугілля, рідше – іонітів. Цей метод використовується при нирковій та печінковій

Силі- кагель	Бензол Масло	Вугілля	Вода
	ПАР		ПАР

а)

б)

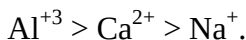
Рисунок 6 – Адсорбція з розчинів: а - із неполярного розчинника на полярному адсорбенті; б - із полярного розчинника на неполярному адсорбенті недостатності, при отруєнні снодійними (барбітуратами), фосфорорганічними сполуками (карбофос та ін.).

Іонна адсорбція – адсорбція електролітів - явище більш складне, ніж молекулярна адсорбція, бо адсорбент може по-різному адсорбувати іони, на які розпадається у розчині молекула електроліту. При адсорбції електролітів необхідно враховувати як адсорбційні, так і електростатичні сили взаємодії дисоційованих іонів. Адсорбція іонів характеризується високою вибірковістю і має обмінний характер. На іонну адсорбцію впливають природа адсорбенту (його заряд), природа іонів, які адсорбуються (заряд, ступінь гідратації і тощо), і рН середовища. Враховуючи, що електростатичні сили в іонній адсорбції є головними, на негативно заряджених

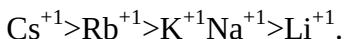
поверхнях твердих адсорбентів адсорбуються переважно катіони, а на позитивно заряджених – аніони.

Правило вибіркової адсорбції – правило Панета – Фаянса: на твердому адсорбенті переважно адсорбуються іони, що входять до складу кристалічної решітки адсорбенту або ізоморфні їй, тобто іони, які можуть з'єднуватись з поверхнею твердого тіла, добудовувати кристалічну решітку. Так, на частинках осаду BaSO_4 , отриманого в результаті реакції $\text{BaCl}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{BaSO}_4\downarrow + 2\text{HCl}$, адсорбуються або іони Ba^{2+} , або SO_4^{2-} , але не іони Ca^{2+} або H^+ .

Краще адсорбуються іони з високим зарядом, тому що вони сильніші, ніж одновалентні, притягуються до протилежно заряджених мікрочастинок поверхні, наприклад,



Серед іонів однакової валентності іони, що мають більший радіус, адсорбуються краще, тому що вони сильніше поляризуються і менш гідратовані, наприклад,



Іонна адсорбція має велике значення для процесів стабілізації (стійкості) і коагуляції (осадження) колоїдних розчинів, а також для біопроцесів.

Обмінна або іонообмінна адсорбція – заміщення на адсорбенти одного іона іншим, що містяться в зовнішньому середовищі. В основу обмінної адсорбції іонів з розчинів електролітів покладено здатність твердого адсорбенту поглинати з розчину катіони (аніони), віддаючи в розчин еквівалентну кількість катіонів (аніонів), але іншого роду. Іонообмінна адсорбція має

специфічний характер, тому що вона залежить в основному від природи адсорбенту та іонів, що адсорбуються.

На цей час широко використовуються іонообмінні смоли або іоніти-адсорбенти, що містять іоногенні групи. Вони являють собою або природні, наприклад, пермутит $\text{Na}_2 \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, або синтетичні ВМС. Розділяються на:

- а) катіоніти, які замінюють катіони;
- б) аніоніти, які замінюють аніони.

Функціональними групами катіонів є карбоксильна-
 COOH , сульфогрупа – SO_3H ,

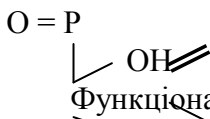
O
 фосфонова - P і т.д.
 (OH)₂

Наприклад:

$[-\text{CH}-\text{CH}_2-]_n$ – поліакрилова кислота,

COOH

$[-\text{CH}_2-\text{CH}_2-]_n$ – полівінілфосфофинова кислота,
 OH



Функціональними групами аніонітів є
 аміногрупи

$-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}$, $-\text{NR}_2$, $-\text{NR}_3$, гидроксильна група $-\text{OH}$ і т.д., які замінюють аніони. Наприклад,

$[-\text{CH}-\text{CH}-]_n$,

|

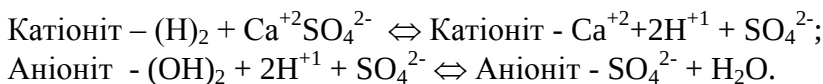
|



[-CH-CH-]_n – полівініловий спирт.

ОН

У практиці для іонообмінного очищення, зм'якшення та демінералізації води – опріснення, знесолювання води – широко використовуються іонообмінні смоли. Для цієї мети воду послідовно пропускають крізь катіоніт у водневій формі (Н-форма), а потім – аніоніт у гідроксильній формі (ОН-форма):



При іонному обміні іони Ca^{2+} - і SO_4^{2-} як високозарядні витіснюють однозарядні іони, в результаті чого утворюється смола у кальцієвій або сульфатній формі. Іоніти після використання їх обмінних ємностей регенеруються обробленням кислотою або лугом з подальшим промиванням водою. Іоніти механічно міцні і витримують сотні регенераційних циклів.

Різні тканини рослинних і тваринних організмів беруть участь в іонному обміні в певних інтервалах рН регенераційних циклів.

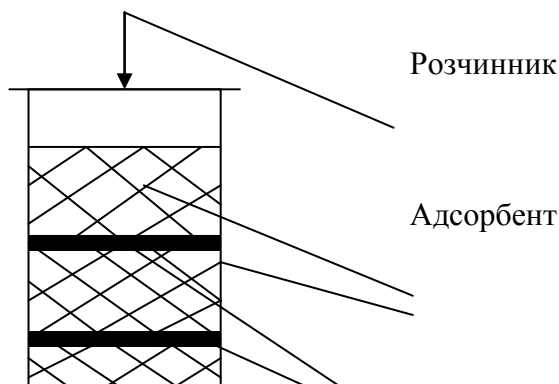
Катіонообмінні властивості мають структури, що містять карбоксильні $-\text{COOH}$ та фосфатні $-\text{H}_2\text{PO}_4^-$ групи, аніонообмінні – аміногрупи білків.

Рідкі іонообмінні смоли, наприклад, полівініловий спирт, є пролонгаторами лікарських препаратів, а полівінілпіролідон (гемодез) – ефективний замітник плазми крові. Декальцинування крові з метою її консервації здійснюють катіонообмінними смолами.

Хроматографічні методи. Явище адсорбції покладено в основу хроматографічного методу розділення, очищення, аналізу та дослідження речовин і широко використовується в біології, біохімії, фармакології і тощо.

Хроматографічний метод заснований на різному розподілі речовин між рухомою (потік рідини або газу) та нерухомою (твердою або рідкою) фазою. Залежно від характеру фаз, за допомогою яких здійснюється розподіл, розрізняють газорідинну та рідинну хроматографію. За типом взаємодії речовин та фаз, що розділяються, хроматографія поділяється на адсорбційну, розподільчу, іонообмінну, гель – фільтрацію та електрофорез. Хроматографічний процес здійснюється в колонках, тонкому шарі та на папері.

1. Адсорбційна хроматографія заснована на різниці в адсорбції речовин суміші, яку розділяють до твердих адсорбентів (нерухома фаза), у ролі яких використовують порошкоподібні речовини: оксид алюмінію, силікагель, крохмаль, активоване вугілля, цеоліти і т.д. Найбільш розповсюджені колонковий та тонкошаровий варіанти. В колонку – скляну трубку, заповнену адсорбентом, вносять розчин суміші, яку розділяють. За допомогою рухомої фази – розчинника (елюенту), що подається в колонку, адсорбційні речовини у вигляді зон переміщуються (вимиваються) з різними швидкостями, в результаті чого відбувається розподіл компонентів суміші (див. рис.7).



Хроматографічна
колонка
Зони розподілу
речовин

Елюент

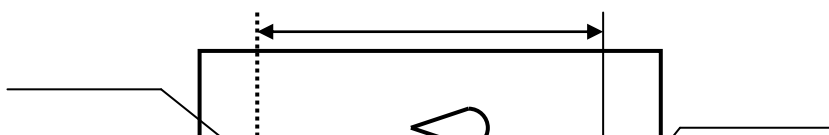
Рисунок 7 – Хроматографія у колонці

Хроматографія в тонкому шарі ТШХ – один з найбільш швидких засобів розподілу суміші. На тонкий шар сорбенту на основі скляної чи алюмінієвої пластини у вигляді точок наносять розчин суміші, яку розділяють. В хроматографічній камері при піднятті рідкої фази на пластинці відбувається розподіл речовин. Розміщення речовини у вигляді плями на хроматограмі характеризується величиною R_f , яка є відношенням відстані l , яку пройшла речовина, до відстані L , яку пройшов розчинник (див. рис. 8).

L

Стартова
смужка

Фронт



I

Рисунок 8 – Хроматографія в тонкому шарі (ТШХ)

Методи ТШХ використовуються для швидкого якісного та кількісного аналізу і використовуються в клінічній практиці для аналізу крові та сечі на вміст цукру, різних білків, амінокислот, лікарських препаратів та інших продуктів метаболізму.

Розподільча характеристика заснована на законі розподілення Нернста: “В розчинених багатокомпонентних розчинах розподіл кожної розчиненої речовини між двома фазами визначається індивідуальним коефіцієнтом розподілення, величина якого не залежить від наявності інших речовин, а залежить тільки від природи компонентів суміші та температури”. Розділення речовин відбувається за рахунок різниці в коефіцієнтах розподілу між двома і більше рідкими фазами, що не змішуються або нерухомою рідкою та газовою фазами.

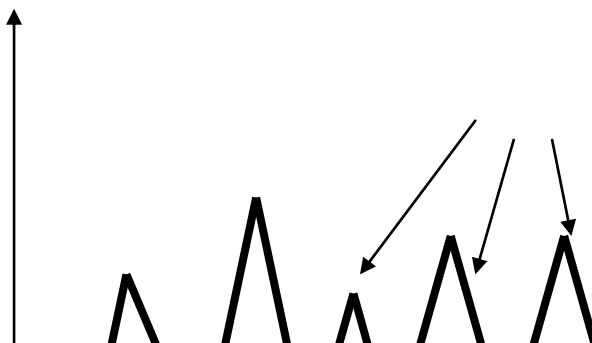
Нерухомою фазою служить твердий носій, просочений спеціальною рідиною, рухомою – розчинник (рідина - розподільча хроматографія) або газ (газорідинна хроматографія ГРХ). Звичайно розподільчу хроматографію здійснюють на папері або в колонках. У хроматографії на папері носієм нерухомої водної фази служить спеціальний хроматографічний папір. Розчин суміші речовин, що розділяють, наноситься на стартову лінію смужки паперу

та поміщається в хроматографічну камеру. Рухома фаза піднімається на папері вгору – висхідна хроматографія, або стікає вниз – низхідна хроматографія. Залежно від значення коефіцієнтів розподілу речовини рухаються з різною швидкістю, розділяючись на папері на окремі плями, що відрізняються величиною R_f .

Цей вид хроматографії використовується для якісного та кількісного визначення амінокислот та пептидів, а також вуглеводів та ін. Колонкова хроматографія з використанням рідкої фази широко використовується для розділення природних речовин – вуглеводнів, нуклеотидів, ліпідів і тощо.

Універсальним високоефективним методом розділення речовин, які випаровуються без розкладання, є газорідинна хроматографія (ГРХ), в якій використовується газова рухома фаза. Часто для збільшення легкості природні сполуки перетворюють в похідні, які легко випаровуються: амінокислоти – в етиловий чи метиловий ефір і т.д. ГРХ здійснюють на приладах – хроматографах, в яких розділені речовини фіксуються у вигляді піків на хромограмі (див. рис.9).

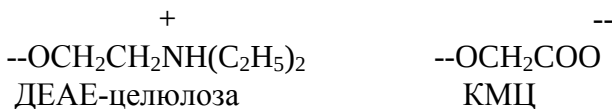
Іонообмінна хроматографія, на відміну від розглянутих раніше видів хроматографії, заснована на хімічній взаємодії активних груп нерухомої фази з іонами сполук, які розділяються. Використовується для розділення білків і амінокислот, які у водних розчинах перебувають



С и г н а л д е т е	П о в і т р я	С т а н д а р т н а	р е ч о в и н а	Розрізнені компоненти
--	---------------------------------	--	--------------------------------------	-----------------------

Рисунок 9 – Газорідинна хроматографія (ГРХ)

у вигляді іонів. Для хроматографії білків використовуються іонообмінники на основі целюлози або інших гідрофільних полімерів. Наприклад, діетиламіноетилцелюлоза (ДЕАЕ - целюлоза), яка містить катіонні групи і зв'язується з карбоксильними групами молекул білка, або карбоксиметилцелюлоза (КМЦ), яка містить аніонні групи і зв'язується з аміногрупами молекул білка:



Іонообмінна хроматографія лежить в основі дії автоматичних амінокислотних аналізаторів.

Електрофорез являє собою метод розділення суміші речовин під дією електричного струму. При цьому в електричному полі переміщуються заряджені молекули, розчинник залишається нерухомим. Найпростіший варіант – електрофорез на папері. На смужку фільтрувального паперу, просоченого буферним розчином,

наносять розчин білків і вмикають її в електричне коло з постійним током.

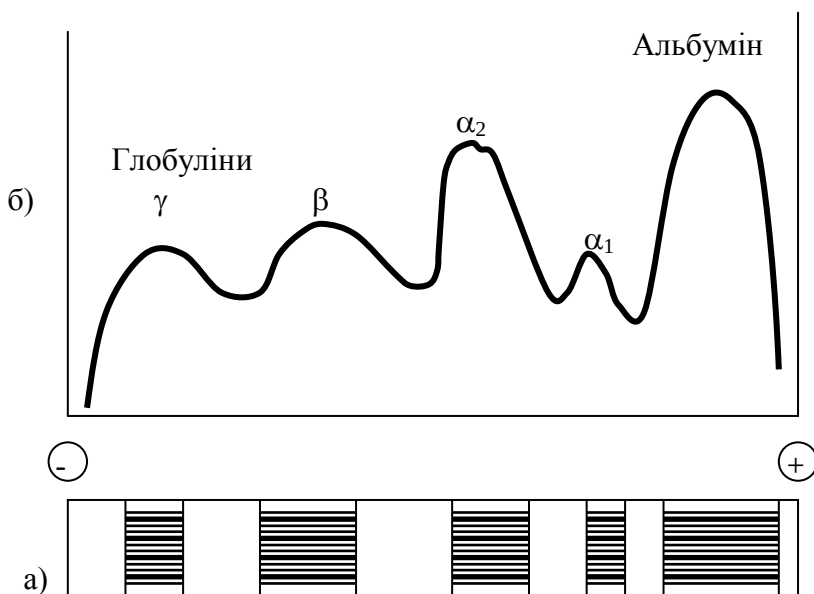


Рисунок 10 – Проявлена електрофореграма білків плазми крові (а) і крива зміни оптичної щільності електрофореграми (б), за якою можна розрахувати концентрацію білків у фракції (зазначені основні фракції білків і положення деяких індивідуальних білків)

На рис. 10 показані електрофореграми білків плазми крові людини.

Електрофорез використовується в основному в області біополімерів – білків, гліко- і лейкопротеїнів, нуклеїнових кислот і тощо.

Гель – хроматографія (ситова хроматографія, гель – фільтрація) - метод очищення, аналізу і розділення речовин, заснований на різниці в розмірах або масі молекул. Як нерухому фазу використовують різні гелі з тривимірною сітчастою структурою: декстрини (полісахариди), поліакриламід, пористі силікагелі і т.д. При розділенні суміші невеликі молекули дифундують крізь пори набухлого в розчиннику гелю, а великі молекули проходять крізь простір між частинками гелю. При промиванні гелю розчинником у першу чергу переміщуються великі молекули, а потім вже дрібні, тобто компоненти вимиваються у міру зменшення їх маси. Гель діє як молекулярне сито. Основне призначення гелю – хроматографії, завдяки апаратурній простоті і м'яким умовам розділення – видалення і очищення ферментів, гормонів, нуклеїнових кислот і тощо.

Афінна хроматографія, або хроматографія за спорідненістю заснована на здатності біологічно активних сполук взаємодіяти з певною специфічною функціональною групою нерухомого сорбенту, утворюючи нековалентно зв'язаний комплекс. Цей комплекс під дією промивального розчину дисоціює, і біологічно активна речовина вимивається з нерухомого шару. Цей метод розділення використовується для виділення ферментів, імуноглобулінів, рецепторних білків і тощо.

В афінній хроматографії як нерухомий субстрат використовуються сефароза і агроза. Але полісахаридні носії зазнають біодеградації, тому органічні полімерні гелі більш зручні як матриці і допускають більш широкий набір хімічних модифікацій. Інертним носієм може бути поліуретан або полімер іншого типу, або природний полімер, наприклад, колаген.

У наш час для проведення специфічних перетворень широко використовуються ферменти,

приєднані до твердої матриці. Такий фермент, що “пришитий” до матриці і не втратив ферментативної активності, називають **іммобілізованим ферментом**. На відміну від методу афінної хроматографії, фермент, а не субстрат ковалентно зшитий з твердим носієм. Однак принцип біоспецифічного впізнавання той самий.

Техніка іммобілізованих ферментів поєднує унікальні можливості двох видів каталізаторів: специфічність ферментів зі стабільністю, простотою поводження і зберігання, використання для синтезу звичайних каталізаторів.

Прикладом може бути синтез преднізолону, який застосовується як лікарський препарат для лікування ревматоїдних артритів (див. рис. 11). Попередник стероїду, сполуки 1, пропускають послідовно крізь дві колонки, кожна з яких містить специфічний фермент, приєднаний до поліакриламідного полімерного носія. При цьому відбувається гідроксилювання у атома вуглецю C-11, при чому зберігається оптична активність (див. рис. 11). Інший приклад – специфічний гідроліз пеніцилінамідазою природного пеніциліну G, в результаті чого утворюється чистий продукт гідролізу – 6-амінопеніциланова кислота, вільна від домішок і яка потім використовується для синтезу всіх видів напівсинтетичних похідних пеніциліну (див. рис. 12).

Техніка іммобілізованих ферментів отримала назву “інженерна ензимологія”, або “ферментативна технологія”. Її також називають “вирішенням ще не знайдених проблем”.

