

ĐẠI CƯƠNG VỀ SẮC KÝ LỎNG

TS. NGUYỄN BÁ HOÀI ANH

SẮC KÝ (CHROMATOGRAPHY)

☞ LÀ PHƯƠNG PHÁP TÁCH

☞ DỰA TRÊN 2 QUÁ TRÌNH

* HẤP PHỤ

* GIẢI HẤP PHỤ

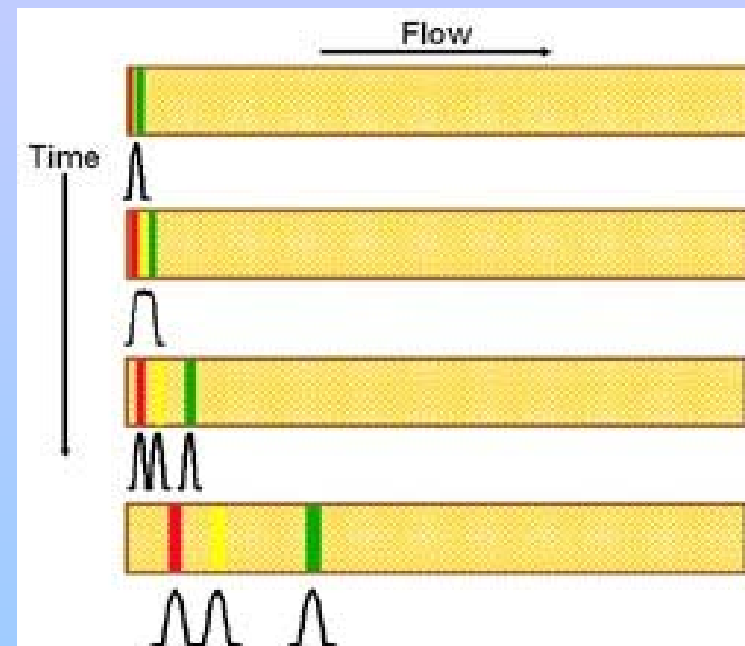
☞ XẢY RA LIÊN TỤC GIỮA 2 PHA:

* PHA TĨNH : THƯỜNG LÀ RẮN HOẶC LỎNG

* PHA ĐỘNG : CHẤT LỎNG (MỘT CHẤT HOẶC HỖN HỢP NHIỀU CHẤT)

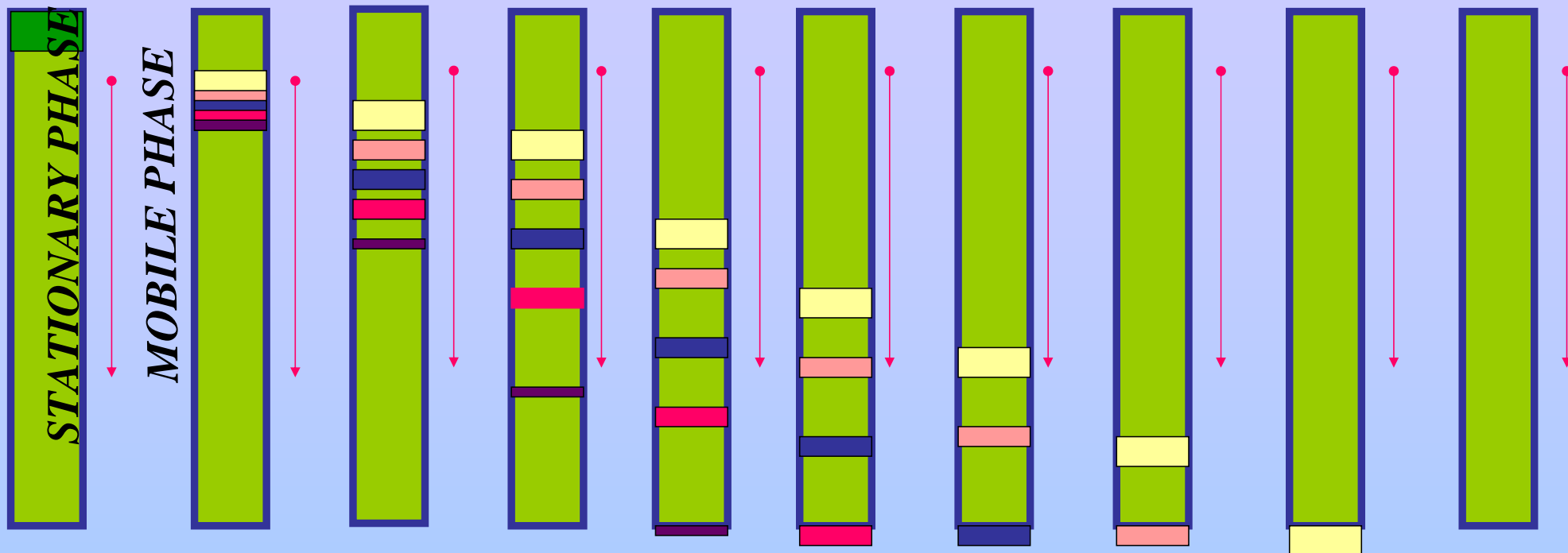
KHI NỐI VỚI CÁC ĐẦU DÒ (DETECTOR) PHƯƠNG PHÁP CHO PHÉP

- ➔ ĐỊNH TÍNH : DỰA VÀO THỜI GIAN LƯU
- ➔ ĐỊNH LƯỢNG : DỰA VÀO CHIỀU CAO HOẶC DIỆN TÍCH PEAK

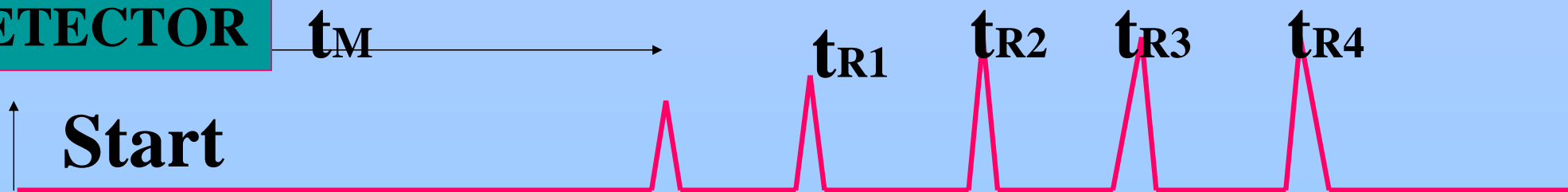


CHROMATOGRAPHY

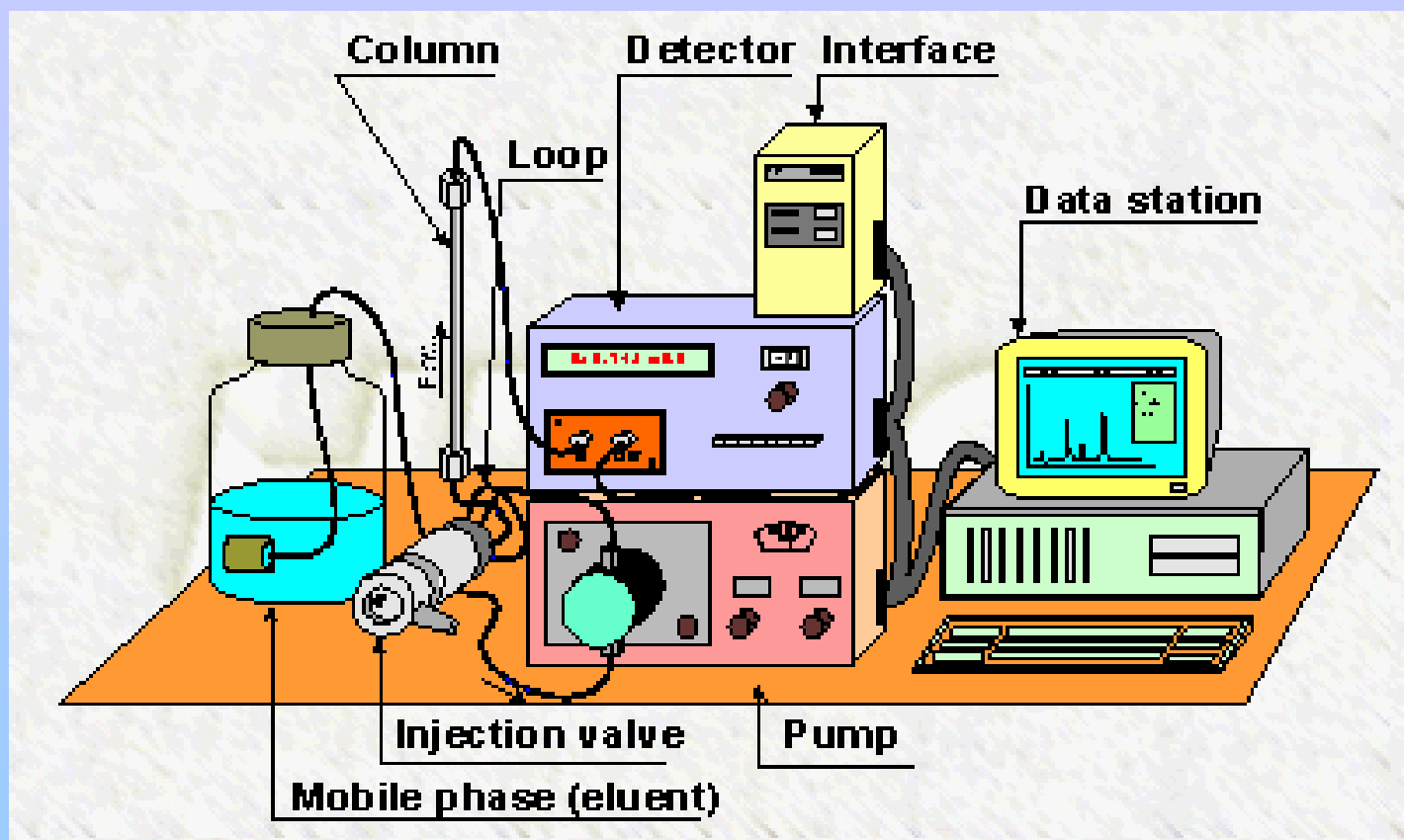
INJECTOR



DETECTOR



SƠ ĐỒ KHỐI CỦA MỘT MÁY SẮC KÝ LỎNG ĐƠN GIẢN



HỆ ISOCRATIC : THÀNH PHẦN DUNG MÔI KHÔNG ĐỔI

SƠ ĐỒ KHỐI CỦA MỘT MÁY SẮC KÝ LỎNG (tt)

CÁC BỘ PHẬN CƠ BẢN BAO GỒM :

NGUỒN CUNG CẤP PHA ĐỘNG
(MOBILE PHASE) : LÀ BÌNH DỰNG
PHA ĐỘNG HOẶC DUNG MÔI
CHẠY MÁY.



SƠ ĐỒ KHỐI CỦA MỘT MÁY SẮC KÝ LỎNG (tt)

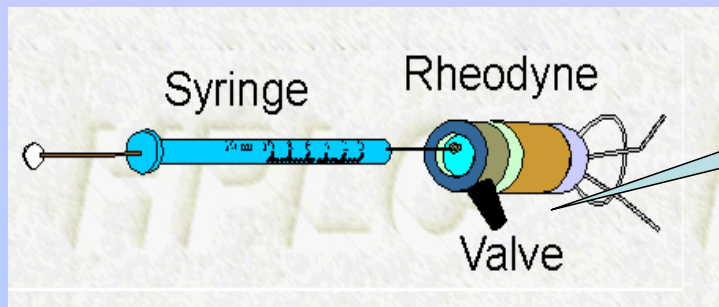
HỆ THỐNG ĐIỀU KHIỂN ÁP SUẤT HOẶC TỐC ĐỘ DÒNG PHA ĐỘNG, CÒN GỌI LÀ HỆ THỐNG CUNG CẤP DUNG MÔI : LC PUMP.

BAO GỒM HỆ ISOCRATIC (ĐẲNG THÀNH PHẦN)
VÀ HỆ GRADIENT (THÀNH PHẦN PHA ĐỘNG THAY ĐỔI TRONG QUÁ TRÌNH CHẠY)



SƠ ĐỒ KHỐI CỦA MỘT MÁY SẮC KÝ LỎNG (tt)

VAN BƠM MẪU (INJECTION VALVE): GỒM LOẠI BƠM TAY



VÀ HỆ THỐNG BƠM MẪU TỰ ĐỘNG



SƠ ĐỒ KHỐI CỦA MỘT MÁY SẮC KÝ LỎNG (tt)

LÒ CỘT (COLUMN OVEN) : DÙNG ĐỂ ĐIỀU KHIỂN NHIỆT ĐỘ CỘT TÁCH

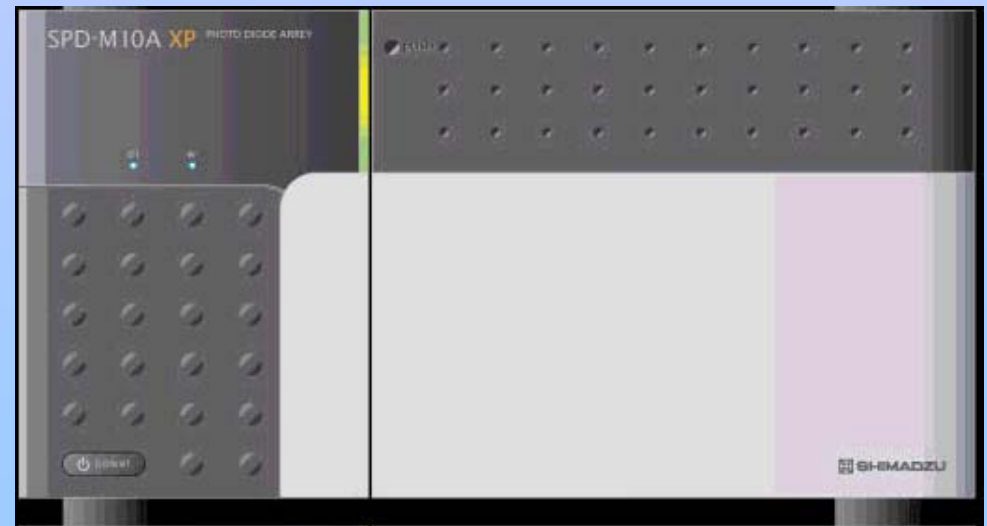
CỘT TÁCH : LÀ NƠI XẢY RA CÁC QUÁ TRÌNH TÁCH CHẤT. GỒM CỘT PHÂN TÍCH VÀ CỘT BẢO VỆ



SƠ ĐỒ KHỐI CỦA MỘT MÁY SẮC KÝ LỎNG (tt)

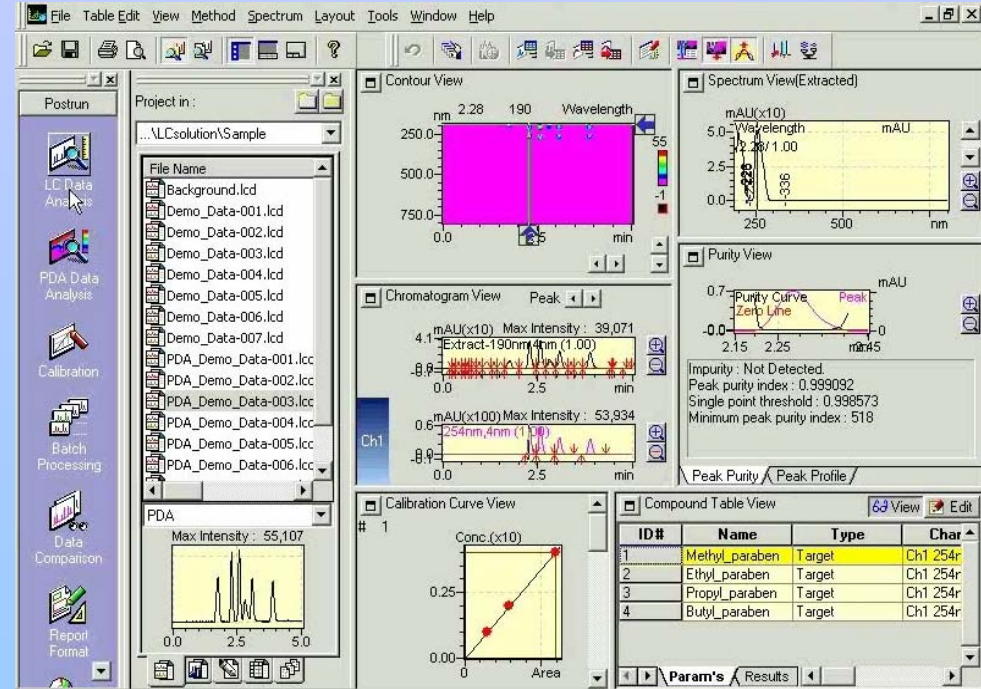
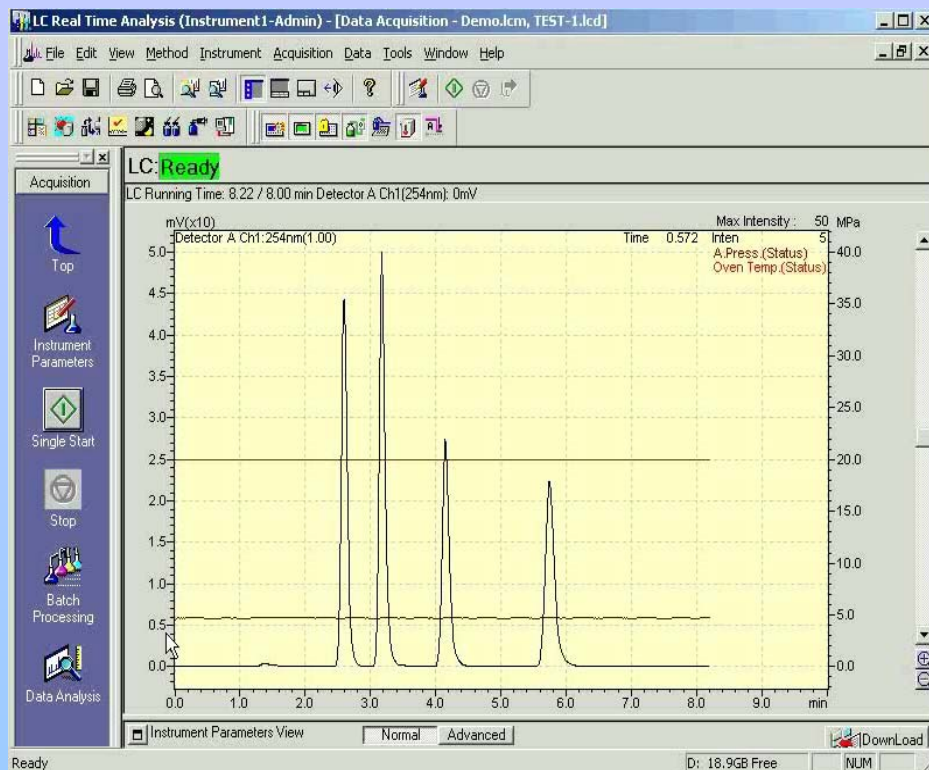
ĐẦU DÒ (DETECTOR): CÓ NHIỀU LOẠI KHÁC NHAU TÙY THEO MỤC ĐÍCH PHÂN TÍCH.

DÙNG ĐỂ PHÁT HIỆN CHẤT VÀ ĐỊNH LƯỢNG : UV-VIS, HUỖNH QUANG, ĐỘ DẪN, ĐIỆN HÓA, KHỐI PHỔ ...



SƠ ĐỒ KHỐI CỦA MỘT MÁY SẮC KÝ LỎNG (tt)

HỆ THỐNG GHI NHẬN VÀ XỬ LÝ TÍN HIỆU (INTERFACE, SOFTWARE, PC) : DÙNG ĐỂ THU THẬP VÀ TÍNH TOÁN CÁC KẾT QUẢ.



Injector



Column

Mobile phase

Detector

Start

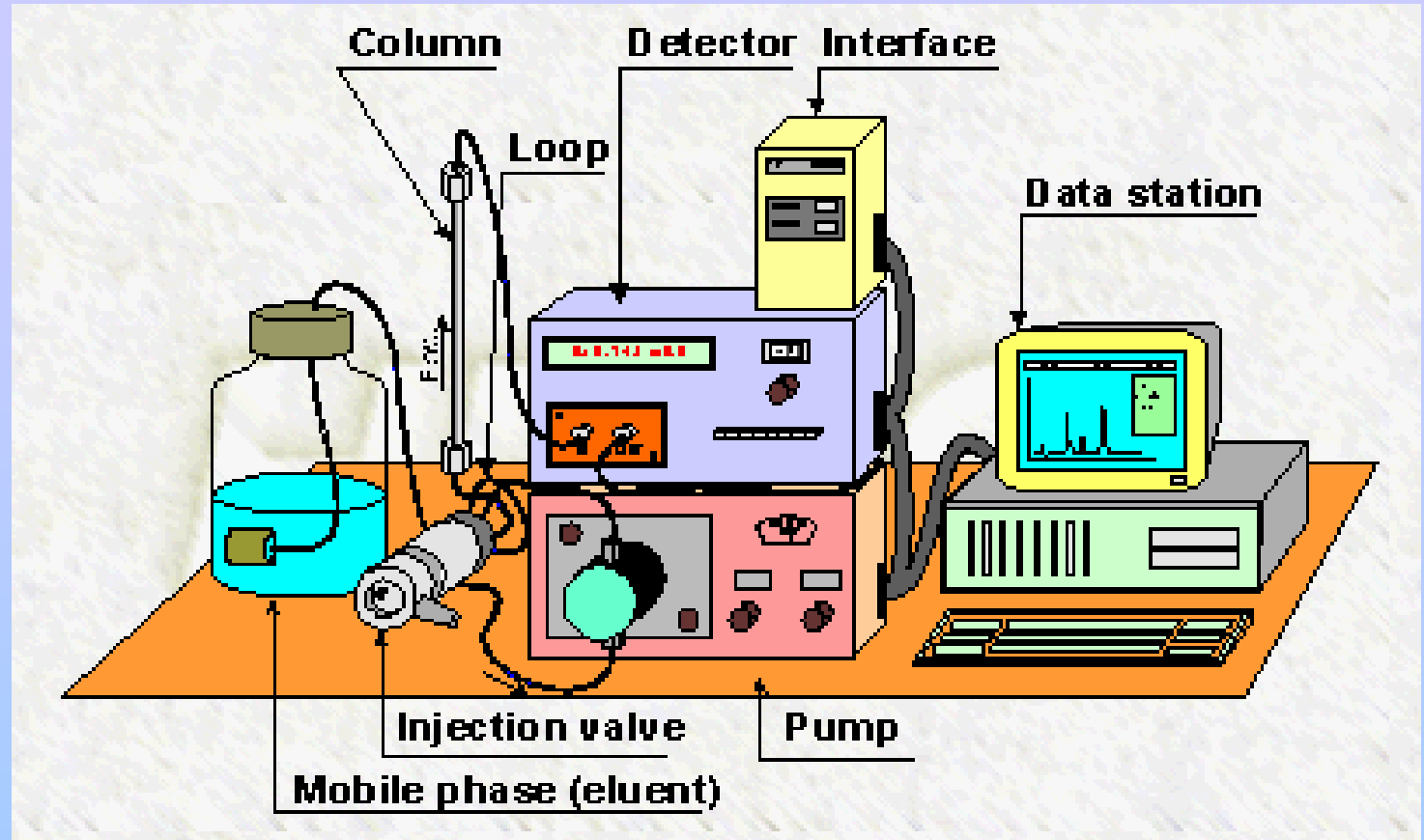
t_M

t_{R1}

t_{R2}

t_{R3}

t_{R4}



Start

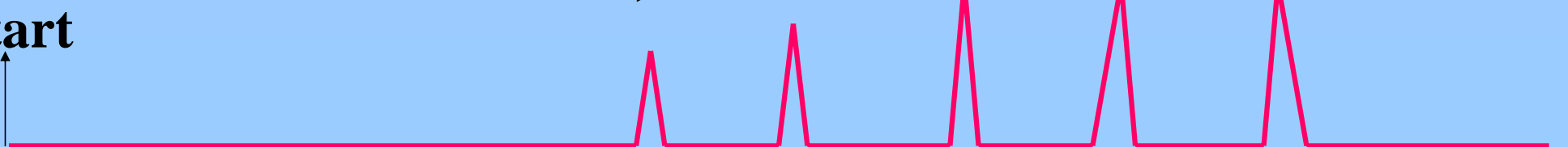
t_M

t_{R1}

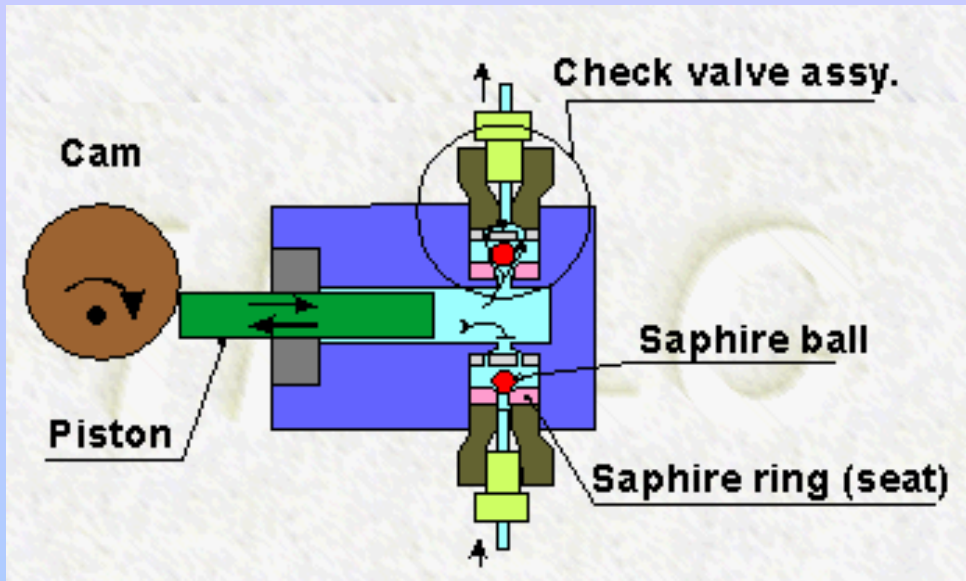
t_{R2}

t_{R3}

t_{R4}



NGUYÊN TẮC CỦA BƠM SẮC KÝ LỎNG



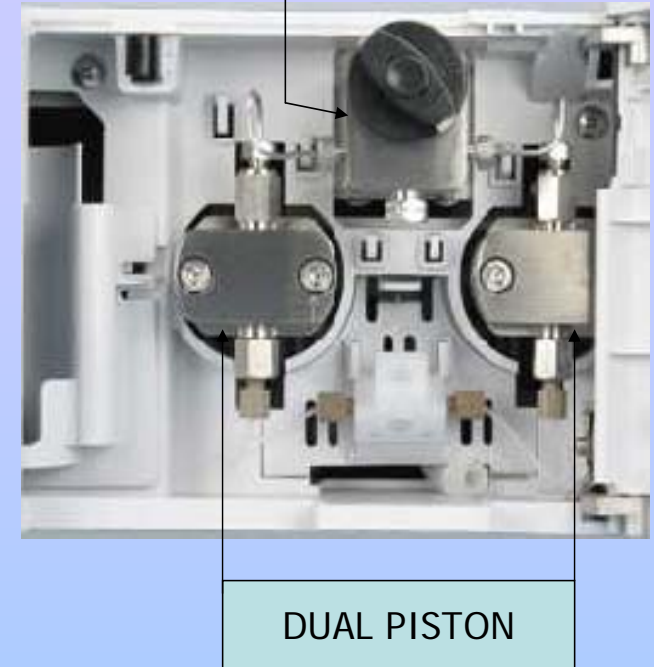
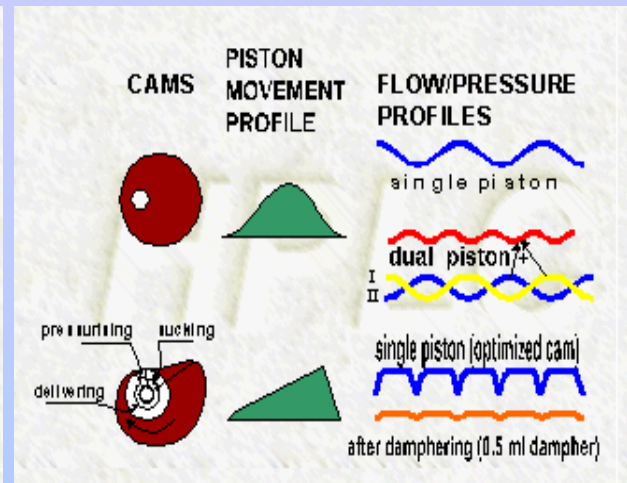
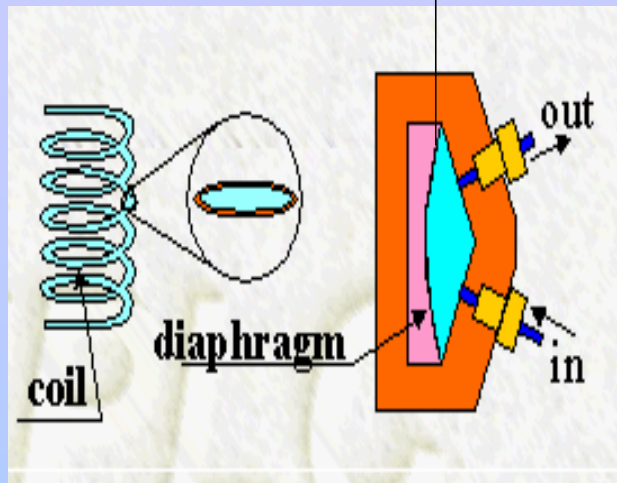
- Gồm 2 valve một chiều :

+ Một valve một chiều vào, chỉ cho phép dung môi vào đầu bơm. Không cho dung môi ra.

+ Một valve một chiều ra, chỉ cho phép dung môi ra khỏi bơm, không cho dung môi vào.

+ Hệ thống bơm piston chính xác điều khiển bằng mô tơ bước (step mô tơ)

HỆ THỐNG LOẠI NHIỀU CỦA BƠM



- Nhiều bơm sẽ làm tăng nhiễu nền do piston di chuyển sẽ tạo xung dòng.
- Giảm nhiễu bằng hai cách :
 - + Dung dịch bơm qua một ống đường kính nhỏ để giảm xung.
 - + Thay đổi kết cấu bánh răng, sử dụng bơm kép để piston di chuyển nhẹ và ít nhiễu.

HỆ THỐNG GRADIENT

GRADIENT TRONG SẮC KÝ LỎNG LÀ GÌ ?

-LÀ SỰ THAY ĐỔI THÀNH PHẦN PHA ĐỘNG TRONG QUÁ TRÌNH CHẠY THEO NHỮNG ĐỊNH HƯỚNG CỤ THỂ

MỤC ĐÍCH :

NHẪM TĂNG CƯỜNG KHẢ NĂNG TÁCH CỦA CÁC CHẤT TRÊN CỘT.

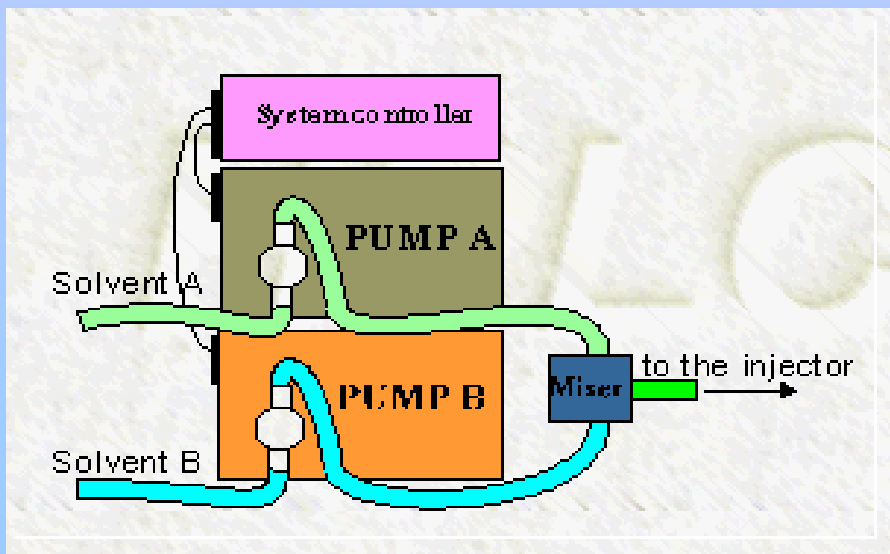
NGUYÊN NHÂN :

+ NHIỀU CHẤT KHÔNG THỂ TÁCH ĐƯỢC TRÊN CỘT TÁCH VỚI MỘT THÀNH PHẦN PHA ĐỘNG (DO TƯƠNG TÁC CỦA CÁC CHẤT CẦN TÁCH VỚI PHA ĐỘNG VÀ PHA TĨNH GIỐNG NHAU)

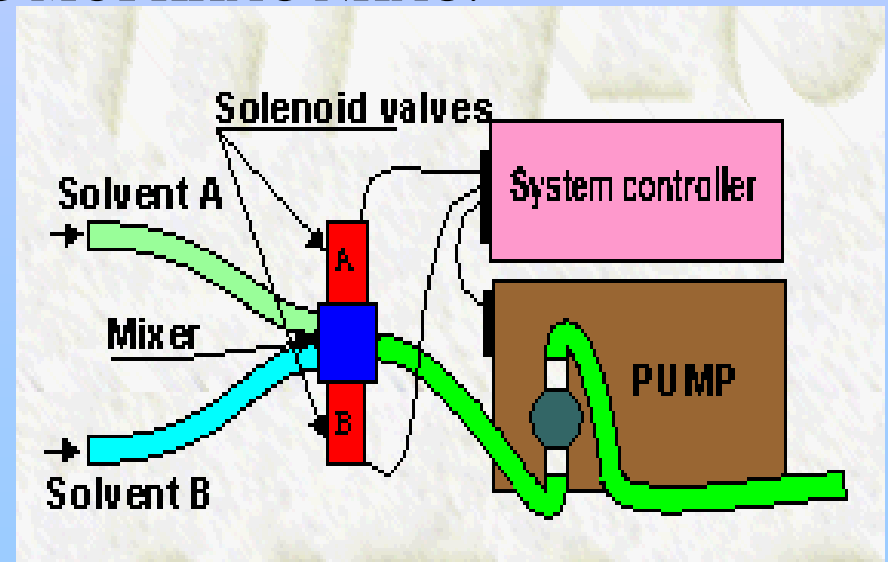
+ NẾU THAY ĐỔI THÀNH PHẦN PHA ĐỘNG : TƯƠNG TÁC GIỮA CHẤT PHÂN TÍCH VÀ PHA TĨNH, PHA ĐỘNG SẼ THAY ĐỔI. VÌ VẬY SẼ TÁCH ĐƯỢC CÁC CHẤT.

HỆ THỐNG GRADIENT

- BAO GỒM HỆ GRADIENT ÁP SUẤT THẤP VÀ HỆ GRADIENT ÁP SUẤT CAO
- HỆ GRADIENT ÁP SUẤT CAO (HIGH PRESSURE GRADIENT: HPGE) CÓ ĐỘ CHÍNH XÁC THÀNH PHẦN PHA ĐỘNG CAO HƠN NHƯNG THIẾT BỊ ĐẮT HƠN VÌ TỐI THIỂU CẦN 02 BƠM SẮC KÝ LỎNG
- HỆ GRADIENT ÁP SUẤT THẤP (LOW PRESSURE GRADIENT : LPGE) CÓ ĐỘ CHÍNH XÁC THÀNH PHẦN PHA ĐỘNG THẤP HƠN NHƯNG CHỈ CẦN MỘT BƠM LC CÓ THỂ TRỘN VÀ THAY ĐỔI 04 DUNG MÔI KHÁC NHAU.



HỆ GRADIENT ÁP SUẤT CAO



HỆ GRADIENT ÁP SUẤT THẤP

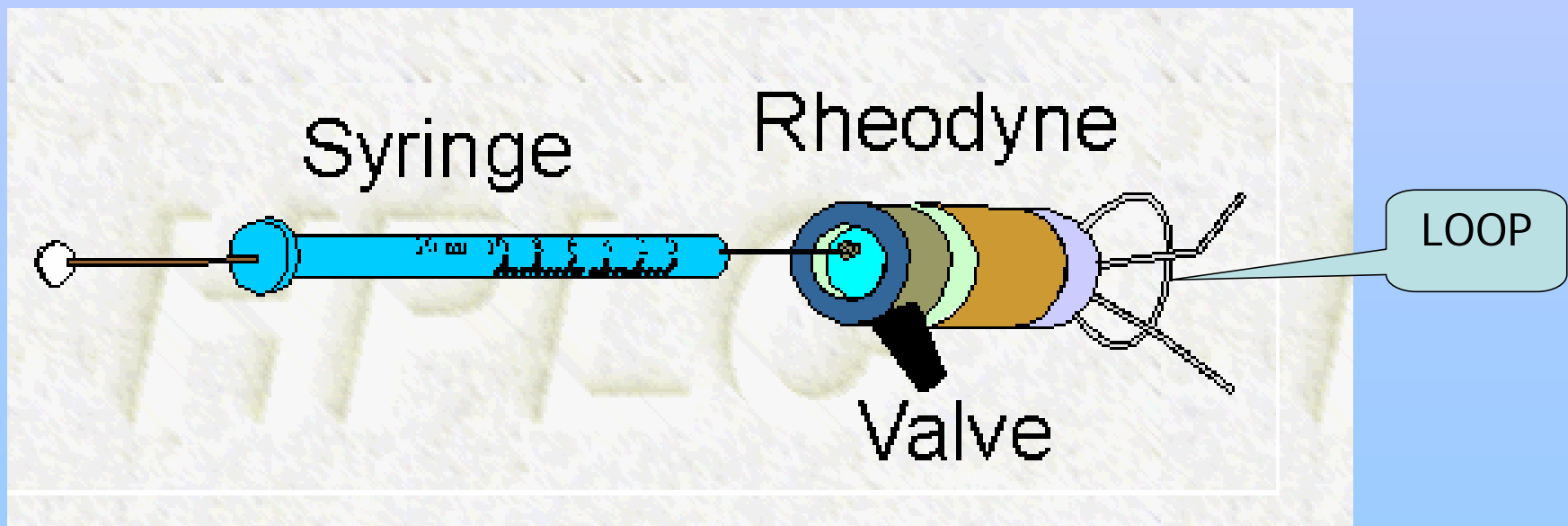
BỘ TIÊM MẪU

-DÙNG ĐỂ ĐƯA MẪU VÀO HỆ THỐNG

-GỒM VALVE 6 CỔNG

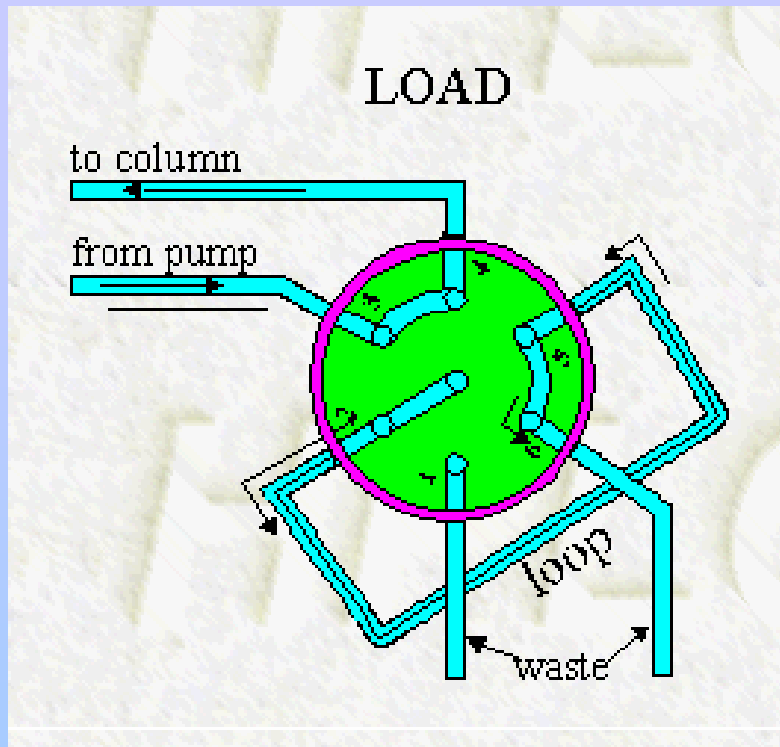
-CƠ CHẾ HOẠT ĐỘNG NHƯ SAU :

+ VALVE TIÊM MẪU CÓ VÒNG MẪU (LOOP) CÓ THỂ TÍCH CỐ ĐỊNH (THƯỜNG 20 μ L)



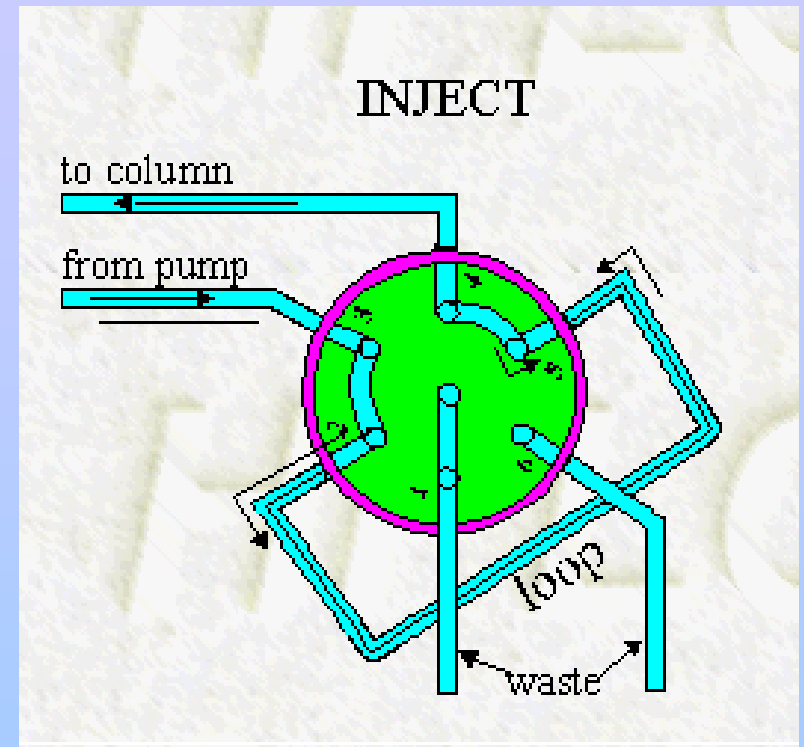
DÙNG SYRING BƠM MẪU VÀO VÒNG CHỨA MẪU Ở VỊ TRÍ LOAD

BỘ TIÊM MẪU (tt)



Ở VỊ TRÍ LOAD, THỂ TÍCH MẪU CẦN THIẾT SẼ GIỮ TRONG LOOP, PHẦN DƯ SẼ THẢI RA NGOÀI.

ĐIỀU NÀY GIÚP THỂ TÍCH MẪU TIÊM VÀO MÁY LUÔN GIỐNG NHAU



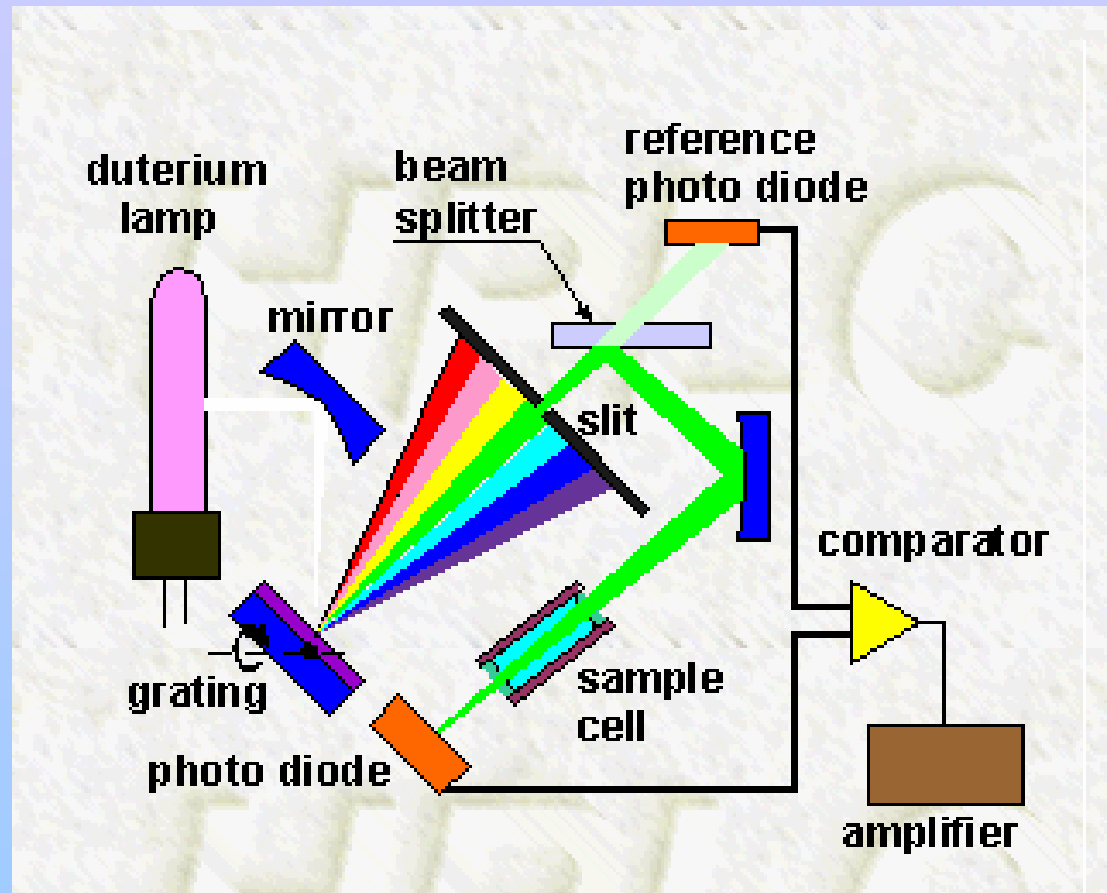
KHI CHUYỂN VỀ VỊ TRÍ INJECT, MẪU TỪ LOOP SẼ ĐƯỢC BƠM VÀO HỆ THỐNG ĐỂ VÀO CỘT TÁCH

ĐẦU DÒ (DETECTOR)

-QUAN TRỌNG NHẤT LÀ ĐẦU DÒ UV – VIS

-NGUYÊN TẮC GIỐNG NHƯ MÁY ĐO UV-VIS THÔNG THƯỜNG

-TUY NHIÊN CELL ĐO PHẢI CÓ THỂ TÍCH NHỎ (DƯỚI 20 μ L) ĐỂ PEAK KHÔNG BỊ DOÃN CHÂN VÀ PHẢI CHỊU ĐƯỢC ÁP SUẤT CAO ĐỂ KHÔNG BỊ BỂ



ĐẦU DÒ (DETECTOR)

-TÙY MỤC ĐÍCH MÀ NHIỀU ĐẦU DÒ KHÁC NHAU ĐƯỢC SỬ DỤNG :

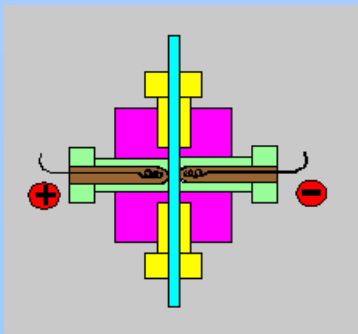
+ ĐẦU DÒ HUỖNH QUANG ĐỂ PHÂN TÍCH ALFLATOXIN, MYCOTOXIN, AMINO ACID, THUỐC TRỪ SÂU HỌ CARBAMATE ...

+ ĐẦU DÒ CHỈ SỐ KHỨC XẠ (RI) DÙNG ĐỂ ĐO CÁC LOẠI ĐƯỜNG ĐƠN, ĐƯỜNG KÉP ...

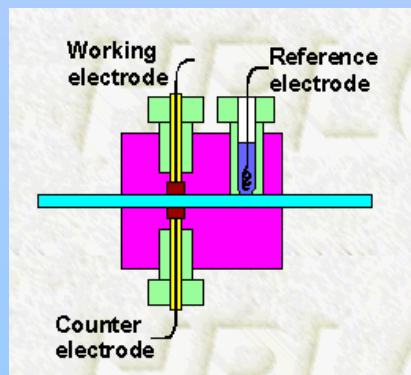
+ ĐẦU DÒ ĐỘ DẪN ĐỂ XÁC ĐỊNH CÁC ION VÔ CƠ, HỮU CƠ ...

+ ĐẦU DÒ KHỐI PHỔ (MS) ĐỂ XÁC ĐỊNH PHẦN LỚN CÁC HỢP CHẤT HỮU CƠ ...

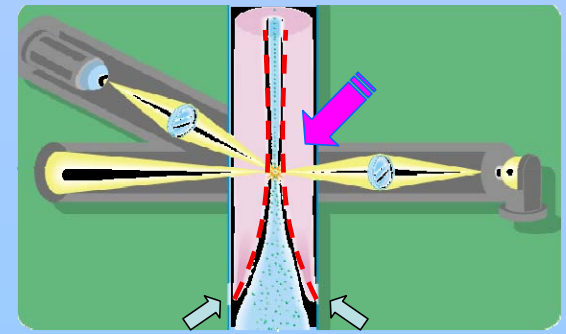
+ CÁC LOẠI ĐẦU DÒ KHÁC



ĐẦU DÒ ĐỘ DẪN



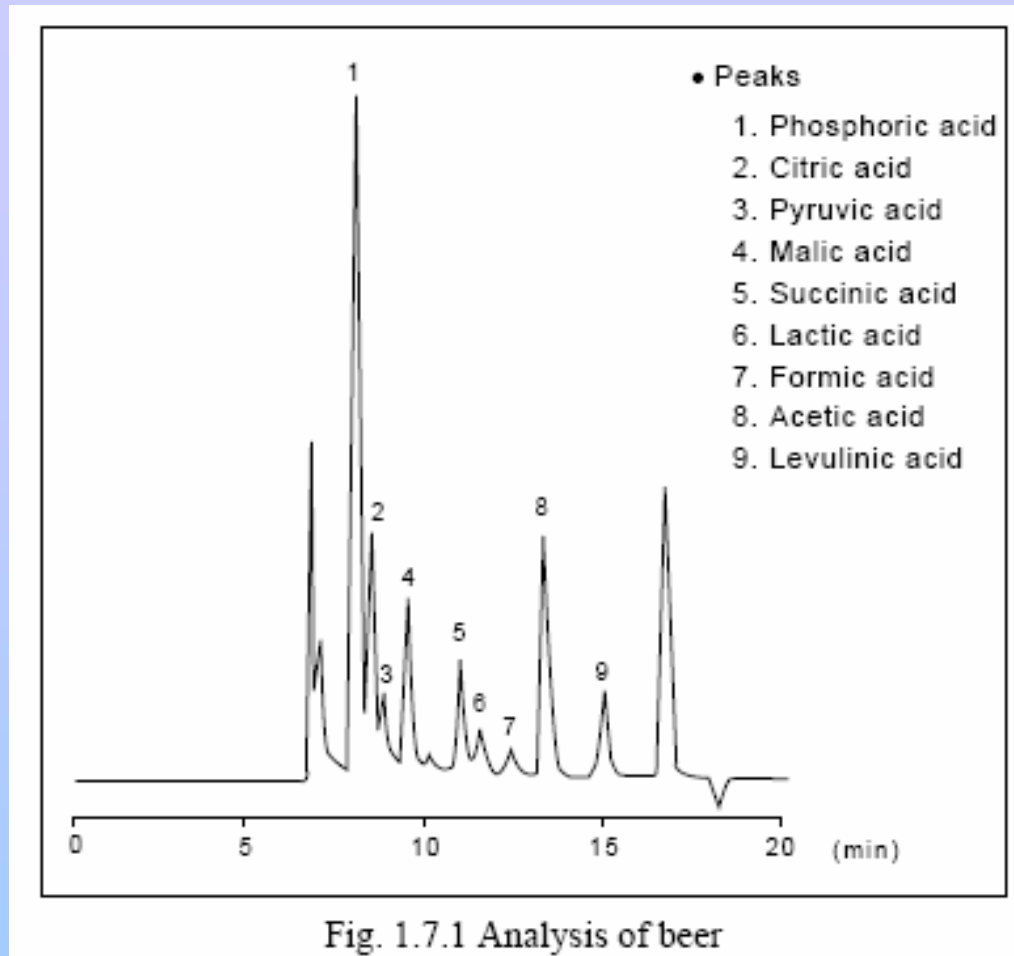
ĐẦU DÒ ĐIỆN HÓA



ĐẦU DÒ ELSD

CÁC LOẠI CỘT DỪNG TRONG SẮC KÝ LỎNG

- ☯ RẤT NHIỀU NHÃN HIỆU CỘT KHÁC NHAU HIỆN BÀN TRÊN THỊ TRƯỜNG:
- ☞ ĐƯỢC CHIA LÀM NHIỀU LOẠI THEO MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG, TRONG ĐÓ CHỦ YẾU LÀ :
 - ✓ CỘT PHA ĐẢO RP C18 (ODS)
 - ✓ CỘT PHA THƯỜNG C8
 - ✓ CÁC LOẠI CỘT CHUYÊN DỤNG CHO TỪNG NHÓM CHẤT.
 - ✓ CỘT C18 VÀ C8 ĐƯỢC SỬ DỤNG CHO PHẦN LỚN CÁC HỢP CHẤT THÔNG THƯỜNG



PHÂN TÍCH CÁC AXIT TRONG BIA VỚI HỆ THỐNG HPLC CHUYÊN DỤNG

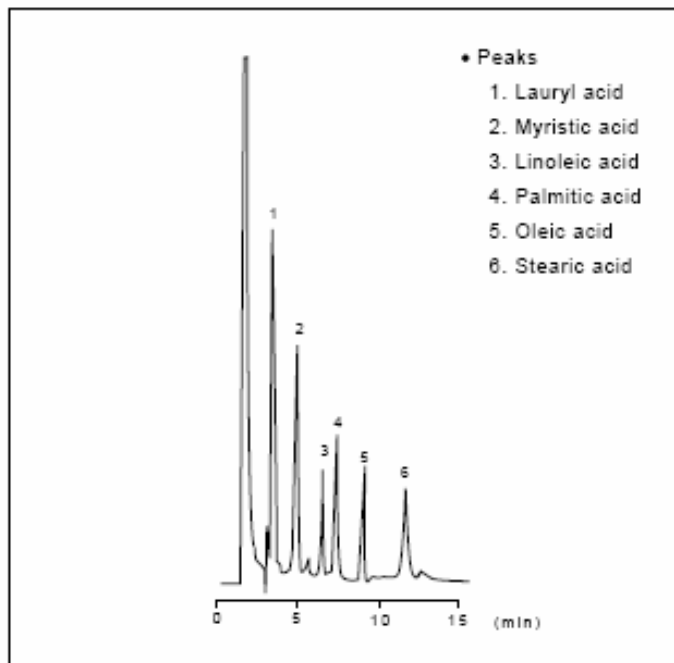


Fig. 1.6.1 Analysis of fatty acid using UV absorption detection

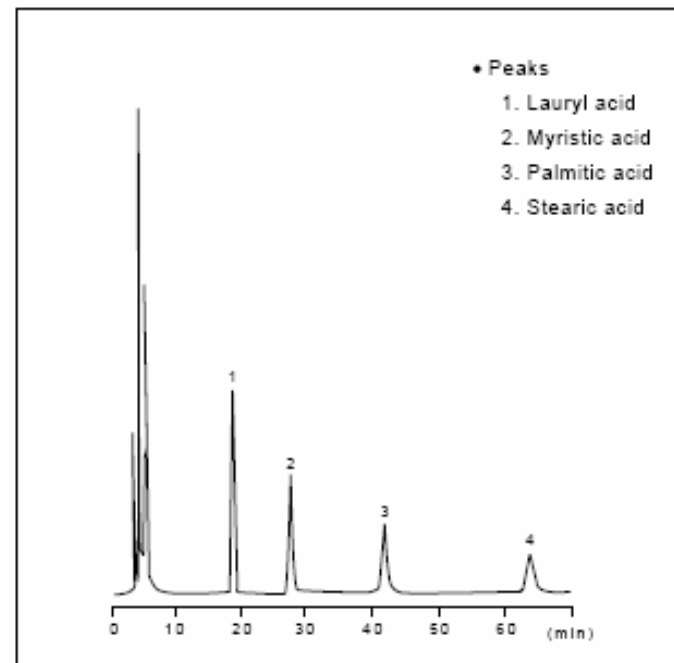


Fig. 1.6.2 Analysis of high-class fatty acid using precolumn derivatization method with ADAM

References

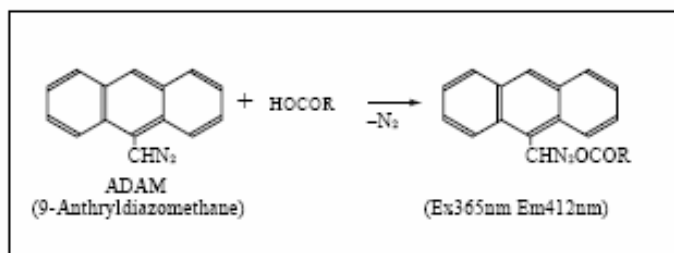


Fig. 1.6.3 Reaction equation for ADAM and fatty acid

PHÂN TÍCH AXIT BÉO TRONG THỰC PHẨM VỚI ĐẦU DÒ
UV-VIS VÀ HUỖNG QUANG (RF)