

Ioovahetus)kromatograafia

2008 kevad

1

Terminoloogiast

- Kasutusel on mõisted ioovahetus)kromatograafia (IEC – ion exchange chromatography) ja ioovkromatograafia (IC – ion chromatography)
 - Mõnel pool vaadeldakse neid sünonüümidena.
- IEC käsitleb iooniliste proovide lahutamise protsessi ioovahetel.
- IC on ioonide lahutamise ja detekteerimise kromatograafia.
 - Detektoriks on enamasti juhtivusdetektor.
 - Lahutamine enamasti IE kolonniga (kuid võib olla RP).

2008 kevad

2

Milleks IC?

- Miks mitte kasutada pöördfaas-kromatograafiat (ioovpaar-kromatograafiat)?
- Detekteeritavus
 - Tavalised detektorid ei sobi paljude anorgaaniliste (ja mõnede orgaaniliste) ioonide jaoks - juhtivusdetektor
 - MS-detekteerimiseks peaks eluent olema lenduv, ioovpaar-reagendid (nt laurüülsulfaat) enamasti ei ole
- Preparatiivne kromatograafia
 - ioovpaar-reagendi mittelenduvus on probleemiks
- Sobiv mitmeetapilise kromatograafia esmaseks lahutuseks

2008 kevad

3

IEC retentsioon

- Statsionaarse faasi pinnal on laetud rühmad:
 - amiin, kvaternaarne ammoonium – positiivse laenguga
 - sulfonaat, karboksülaat – negatiivse laenguga
- Retentsiooni aluseks on tasakaalud:
 - $R^+K^+ + X^- \rightleftharpoons R^+X^- + K^+$ (katioovvahetus)
 - $R^+Cl^- + X^- \rightleftharpoons R^+X^- + Cl^-$ (anioovvahetus)
- Vastandiooni (nt K^+ ja Cl^-) kontsentratsiooni suurendamine vähendab analüüdi retentsiooni

2008 kevad

4

pH mõju

- Analüütideks on sageli alused või happed
- Ioovvahetus on efektiivne, kui analüüdi ja ioovvaheti pind on (vastasmärgilise) laenguga
- Kasutades teadmisi nõrkade ja tugevate hapete ja aluste käitumisest erineva pH juures, tuletada seosed pH ja retentsiooni vahel nõrga ja tugeva ioovvaheti ning nõrga ja tugeva aluse/happe vahel.

2008 kevad

5

pH puhul tähele panna

- Silikageeli baasil kolonnid ei kannata enamasti $pH > 8$ ja $pH < 1$.
- Tugevad katioovvahetid happe vormis ja tugevad anioovvahetid OH^- vormis võivad katalüüsida proovides mitmeid reaktsioone
 - nt estrite hüdroolüüs

2008 kevad

6

Soola mõju retentsioonile

- Erinevate anioonide (kationide) retentsioon on erinev
 - Vastasioonidel on erinev võime analüüdi ioone asendada
- Tugev vastasioon vähendab analüüdi retentsiooni rohkem, kui sama kontsentratsiooniga nõrk vastasioon
 - F^- (nõrk) $< OH^- < CH_3COO^- < Cl^- < SCN^- < Br^- < CrO_4^{2-} < NO_3^- < I^- < SO_4^{2-}$ (tugev)
 - Li^+ (nõrk) $< H^+ < Na^+ < NH_4^+ < K^+ < Rb^+ < Cs^+ < Mg^{2+} < Ca^{2+} < Ba^{2+}$ (tugev)

2008 kevad

7

Orgaanilise solventi lisand

- Orgaanilise solventi lisand vähendab retentsiooni
- MeOH ja MeCN lisandit kasutatakse ka selektiivsuse muutmiseks

2008 kevad

8

Nõrgad ja tugevad ionvahetid

- Kationvahetid
 - WCX ja SCX – weak/strong cation exchange
- Anioonvahetid
 - WAX ja SAX – weak/strong anion exchange
- Tugevad on kasutatavad $2 < pH < 12$
- Nõrgad kaotavad mingil pH väärtusel laengu
- Nõrku kasutatakse harva
 - selektiivsuse muutmiseks
 - retentsiooni vähendamiseks

2008 kevad

9

Meetodi väljatöötamine

- Sobiv kolonn
 - Happelistele ja anioonsetele proovidele tugev anioonvaheti; aluseliste ja kationsetele tugev kationvaheti
- Eluent
 - Alustada vee baasil puhvril. Tüüpiline on $pH > 6$ anioonvahetusel ja $pH < 6$ kationvahetusel
 - Kui proovi pK_a on teada, siis $pH > pK_a$ anioonvahetusel ja $pH < pK_a$ kationvahetusel
 - Kontsentratsioon 20...50 mM

2008 kevad

10

Meetodi väljatöötamine

- Eluendi komponent B
 - Puhver + mingi sool (nt K_2SO_4)
 - Proovida gradienti 0...100% B
- Kui nendel tingimustel ei elueeru, siis
 - tõsta temperatuuri
 - lisada metanooli
 - kasutada nõrka ionvahetit
- Kui retentsioon on paigas ($0.5 < k < 20$)
 - siis muuta selektiivsust soola, pH või orgaanika muutmisega

2008 kevad

11

Ionvahetid

- Sünteetilised orgaanilised polümeerid

Kõige sagedasemad tahked kandjad ionkromatograafias. Levinuimateks stüreeni ja divinüülbenseeni kopolümeerimisel saadavad polümeerid. Seejärel viiakse polümeeri sisse sobivad funktsionaalsed rühmad.

Polümeersete materjalide eelis on nende kasutatavus laias pH vahemikus (põhimõtteliselt 0-13 ühikut), saab määrata ka nõrgalt ioniseeruvaid ühendeid. Põhiliseks puuduseks on asjaolu, et ei kolonnis ei saa kasutada suurt rõhku, sest need materjalid on suhteliselt pehmed. Ka limiteerib see kolonni pikkust ning eluendi voolukiirust.

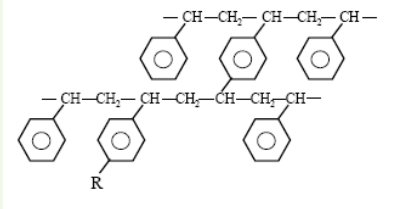
2008 kevad

12

Ioonvahetid

• Sünteetilised orgaanilised polümeerid

Polüstrüreenil põhinev ristsidemetega polümeer:



2008 kevad

13

Ioonvahetid

• Oksiidid

Alumosilikaatidel, alumiiniumoksiidil, ränidioksiidil ja tsirkooniumoksiidil on ioonvaheti omadused, sest neil maatriksitel on kompenseerimata pinnalaeng, mida neutraliseerivad liikuvad vastasioonid. Näiteks metallioksiidid võivad sõltuvalt pH-st olla nii katioon- kui ka anioonvahetid.

2008 kevad

14

Ioonvahetid

Ioonvaheteid iseloomustavad:

• Selektiivsus

Statsionaarse faasiga seostuvate ionide afinsus on erinevate ioonvahete korral erinev ning sõltuv kasutatavatest tingimustest.

Mõned üldisemad omadused, mis kirjeldavad analüüsitavaiooni, vastatsiooni ja eluendi ioonseid vastasmõjusid :

- Analüüsitavaiooni laeng
- Solvateeritudiooni suurus
- Polümeersesioonvahetis olevate põksidemete arv
- Analüüsitavaiooni polariseeritavus
- Ioonvahetiioonmahtuvus
- Ioonvahetil olevate funktsionaalrühmade iseloom
- Kõigi ionide vastasmõjuioonvaheti tahke kandjaga

2008 kevad

15

Ioonkromatograafia aparatuur

Aparatuur on samane tüüpilisele vedelikkromatograafias kasutatavale:

- Kõrgrõhupump
- Proovisestussüsteem
- Kolonn
- Detektor
- Andmetöötlussüsteem

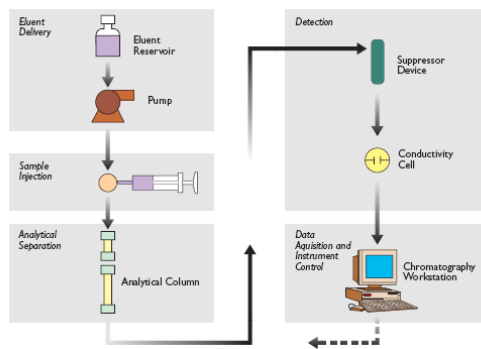
Kõige problemaatilisemaks osutus sobiva detektori leidmine, põhimõtteliselt võiks kasutada:

- Elektrokeemilised detektoreid (amperomeetriline, kulonomeetriline)
- Potentsiomeetrilised detektorid
- **Juhtivusdetektorid**
- Spektroskoopilised detektorid (UV-Vis detektor)

2008 kevad

16

Ioonkromatograafia aparatuur

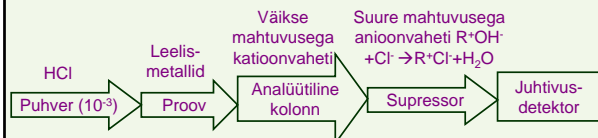


2008 kevad

17

Supressorkolonn

- Põhiliseks takistuseks juhtivusdetektori kasutamisel on eluendi enda liigne juhtivus
- Supressorkolonn võimaldab eluendis olevad ioonid eraldada, nt katioonide korral:

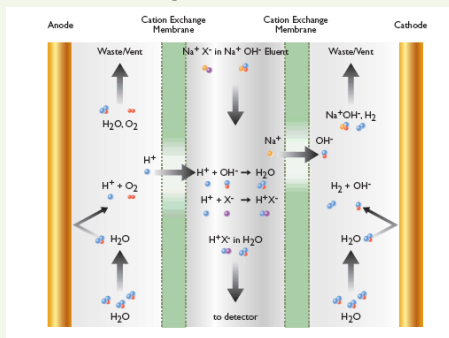


2008 kevad

18

- Puuduseks on vajadus tihti regenereerida

Membraansupressor



2008 kevad

19

Tavalised rakendused

- Anorgaaniliste ionide määramine
 - Põhiliselt anioonide
- Aminohapete, peptiidide ja valkude määramine
- Nukleiinhapete analüüs

2008 kevad

20