



Kuva 23: Kromatografiaa voi tehdä itsekkin. Kuvassa kolmen vesiliukoisen huopakynän kromatografia kahvisuodatinpaperilla.

Kromatografiaa

Sana kromatografia juontuu kreikan kielestä: “chromatos” merkitsee väriä. 1900-luvun alussa venäläinen tutkija Tswett erotti kasveista uutettuja väriaineita toisistaan kromatografisesti liitujauhoa sisältävässä lasiputkessa. Eri väriaineet muodostivat liitujauhoon erivärisiä juovia. Useimmat kromatografisesti tutkittavat aineet ovat kuitenkin värittömiä, joten ne saadaan näkyviin erillisellä kemiallisella käsittelyllä.

Menetelmässä nk. liikkuva faasi, esim. liuotin tai kaasu, kulkee nk. stationäärifaasin läpi, jona voi toimia menetelmästä riippuen kiinteä aine tai neste. Tutkittavan näytteen eri aineet kulkevat liikkuvan faasin mukana niin reippaasti kuin sen ominaisuudet sen sallivat: jotkut aineet juomittuvat stationäärifaasiin heti alkuunsa, jotkut taas kulkevat vikkellästi sen läpi liikkuvan faasin mukana. Kromatografisilla menetelmillä voidaan mm. puhdistaa, erotella ja tunnistaa aineita näytteestä.

TLC:ssä eli **ohutlevykromatografiassa** ohuelle, yleensä silikageelistä valmistetulle levyille tiputetaan täplä näytettä. Sitten levyn reuna upotetaan liuottimeen, joka toimii liikkuvana faasina. Liuotin imeytyy levyyn ja kiipeää sen toiseen reunaan saakka, jolloin näytteen eri aineet kulkevat sen mukana eripituisia matkoja riippuen niiden kemiallisista ominaisuuksista. Tämän jälkeen aineet muutetaan näkyviksi sopivan reagenssin avulla (Esim. rikkihapon 30-prosenttinen metanoliliuos mustuttaa metanolin haihtuessa kaikki orgaaniset yhdisteet) tai niitä tarkastellaan suoraan, mikäli ne näkyvät tavallisessa tai UV-valossa. 2-FDG:n tapauksessa saadaan levyiltä näkyviin kaikki radioaktiiviset yhdisteet kätevästi asettamalla sopiva filmi valottumaan ohutlevyn päälle. 2-FDG tulee näkyviin filmillä tunnetun matkan (Rf-arvo, joka on ominainen kullekin aineelle) päässä liuotinrintaman lähtöreunasta. Muut valottuneet täplät, joilla on omat Rf-arvonsa, merkitsevät radioaktiivisia ¹⁸F-epäpuhtauksia tuotteessa.

Gravitaatio- ja flash-kromatografiassa näyte lisätään esim. lasiputkeen pakatun stationäärifaasin (silikageeli) päälle. Systeemiin valutetaan jatkuvasti varovaisesti liikkuvaa faasia (jotain sopivaa liuotinta) ja putken alapäästä valuu peräkkäin näytteen aineosia, koska toiset niistä kulkevat hitaammin ja toiset nopeammin stationäärifaasin läpi. Flash-kromatografia eroaa gravitaatiokromatografiasta siinä, että putkessa käytetään painetta. Tällöin tarkkuus ja nopeus paranevat.

Kaasukromatografiassa näyte injektoidaan pienessä tilavuudessa kantokaasun eli liikkuvan faasin (typpä, vetyä, heliumia tai argonia) mukana kolonniin, jonka stationäärifaasissa tutkittavat yhdisteet erotetaan. Stationäärifaasi voi muodostua esim. kiinteistä partikkeleista tai se voi olla haihtumaton liuos ohuena kalvona kolonnin sisäpinnalla. Nykyisin stationäärifaasi on tavallisesti hyvin ohuen putken nk. kapillaarikolonnin seinässä päällysteenä. Se ei saa tietenkään kiehua kovinkaan matalassa lämpötilassa. Yhdisteet tunnistetaan sen ajan perusteella, jonka ne viettävät matkalla stationäärifaasin läpi; tämä nk. retentioaika on kullekin yhdisteelle luonteenomainen. Järjestelmän toisesta päästä ulos tuleva kaasuvirta analysoidaan esim. liekki-ionisaatiodetektorilla, jossa korkea lämpötila hajottaa yhdisteiden sidokset. Muodostuneet ionit tuottavat sähköisen signaalin, jonka avulla voidaan määrittää tutkittavan aineen pitoisuus. Varsinkin pienillä ainemäärillä kaasukromatografiaa käytetään myös aineiden erotteluun näytteestä.

HPLC eli korkeapainenestekromatografia toimii periaatteessa samankaltaisesti kuin flash-kromatografia, mutta stationäärifaasi on hyvin hienojakoista ainetta, jolloin tarvitaan korkea paine työntämään liikkuvan faasin ja näytteen sen läpi. Näin saadaan nopea ja tarkka tulos. Milloin tutkittavien yhdisteiden joukossa on vaikeasti haihtuvia tai korkeassa lämpötilassa hajovia aineita, on käytettävä kaasukromatografian sijasta HPLC:tä. HPLC:tä voidaan käyttää sekä tuotteen puhdistukseen että puhtauden analysointiin HPLC-kromatografia voidaan jakaa normaali- ja käänteisfaasikromatografiaksi. Normaalifaasikromatografiassa stationäärifaasi on poolisempi kuin liikkuva faasi, käänteisfaasikromatografiassa päinvastoin. Näistä jälkimmäinen on yleisemmin käytössä, koska usein pooliset yhdisteet halutaan nopeimmin järjestelmän läpi.