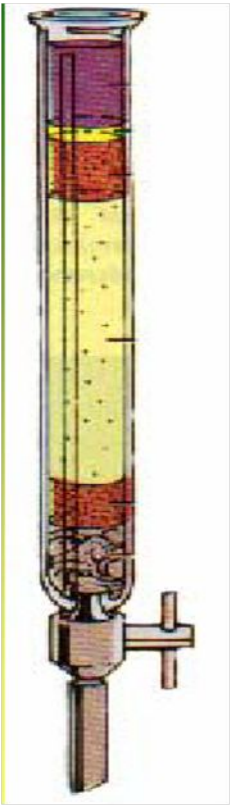
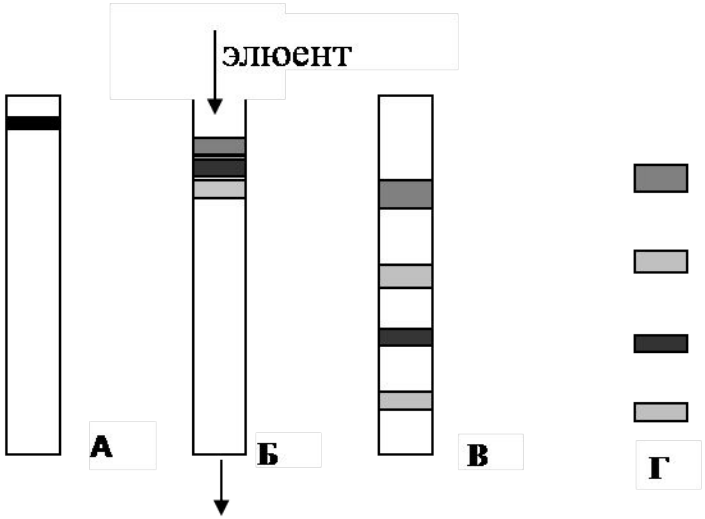
МЕТОДЫ ХРОМАТОГРАФИИ. ИОНООБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ.

Подготовила: Кудаш Екатерина

МИХАИЛ СЕМЕНОВИЧ ЦВЕТ (1872 -1919)

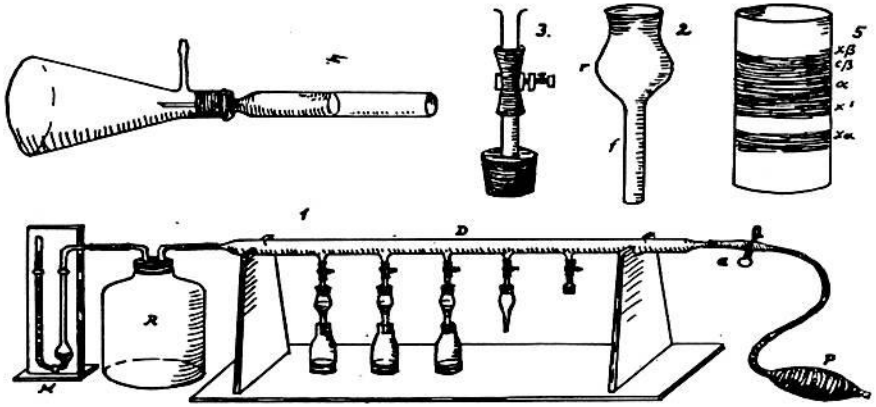




Разделение хлорофилла (1903)

Здесь была открыта хроматография

Аппаратура Цвета



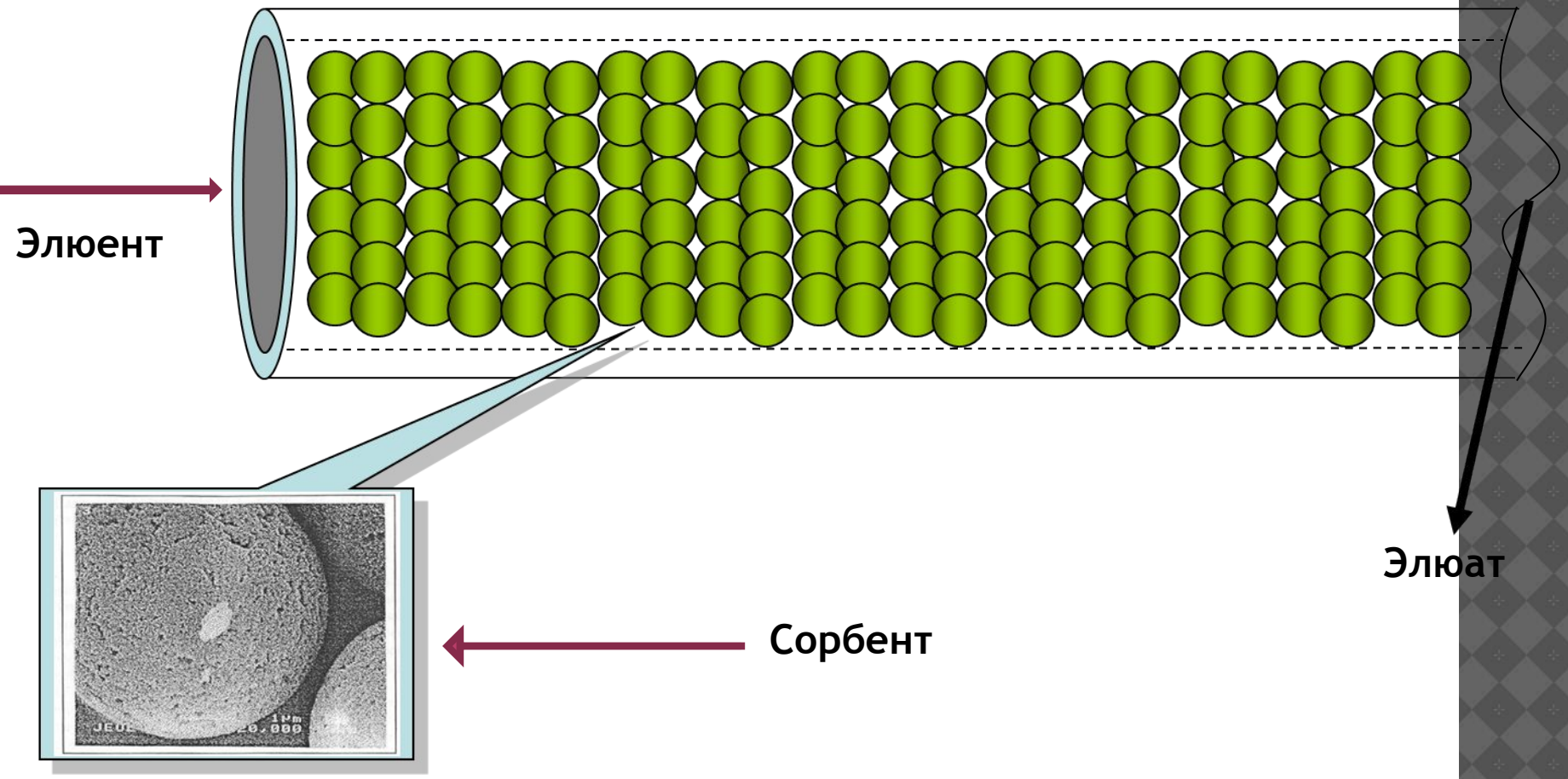
ИСТОРИЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

- 1903 – первый доклад М.С.Цвета о разделении хлорофилла;
- 1931 – признание приоритета Цвета как создателя хроматографии в целом и адсорбционно-хроматографического анализа в частности;
- 1937 - ионообменная хроматография (Г.Шваб, США);
- 1938 - тонкослойная хроматография (Н.А.Измайлов, М.С. Шрайбер, СССР);
- 1941 - жидкостная распределительная хроматография как метод анализа смесей аминокислот (А.Мартин, Р. Синдж, Англия);
- 1944 - бумажная хроматография (А.Мартин, Р.Синдж, Англия);
- 1945 - первые публикации по газоадсорбционной хроматографии;
- 1952 - А.Джеймс и А.Мартин создали газожидкостную хроматографию и предложили первую теорию разделения («теорию тарелок»);
- 1953 - построен и применен в анализе первый газовый хроматограф.

ИСТОРИЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

- **1956 - теория размывания хроматографических пиков (Я. Ван Деемтер, А.Клинкенберг, Голландия);**
- **1956 - капиллярная газовая хроматография (М.Голэй, Франция);**
- **1960-е годы - массовый выпуск газовых хроматографов, препаративная хроматография, хромато-масс-спектрометрия;**
- **1966-1971 - первые жидкостные хроматографы высокого давления (Ш.Хорват, США, Г.Киркланд, Англия). Развитие метода ВЭЖХ;**
- **1975 - ионная хроматография (Х.Смолл, Т.Стивенс и В.Бауман, США);**
- **1980-е годы - флюидная (сверхкритическая) хроматография;**
- **1990-е годы – базы данных и системы компьютерной идентификации для хроматографического анализа.**

ПРОЦЕСС РАЗДЕЛЕНИЯ



- Хроматографическое разделение основано на различии скоростей перемещения разных компонентов пробы через слой сорбента.

- Скорости движения компонентов в хроматографии теоретически не должны зависеть ни от концентрации сорбата, ни от состава пробы (природы и концентрации других компонентов).

- На практике эти положения иногда не выполняются, особенно при высокой концентрации компонентов
- и при вводе в колонку большой массы пробы.
- Это ведет к ошибочным результатам анализа.

- Хроматография - это метод разделения и анализа смесей, основанный на многократном перераспределении компонентов смеси между двумя фазами при прохождении подвижной фазы (ПФ) через неподвижную (НФ).
- Хроматография является не только методом анализа, но и лежит в основе многих природных явлений и промышленных технологий, она позволяет вести глубокую очистку веществ (препаративные методы) и исследовать их свойства (например, измерять характеристики поверхности).

ОСНОВНЫЕ ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

* нефтехимия и химическая промышленность;
* контроль состояния окружающей среды;
* анализ пищевых продуктов и лекарственных препаратов;
* клинический анализ;
* научные исследования.

ОСНОВНЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА ХРОМАТОГРАФИИ КАК АНАЛИТИЧЕСКОГО МЕТОДА

- Высочайшая селективность
- Воспроизводимость результатов
- Многокомпонентность анализа
- Низкие пределы обнаружения *(0.1 мкг/л)*
- Широкий диапазон линейности *(1-1000 мкг/л)*
- Малый расход пробы *(< 1 мл)*
- Экспрессность анализа
- Простота эксплуатации и возможность полной автоматизации

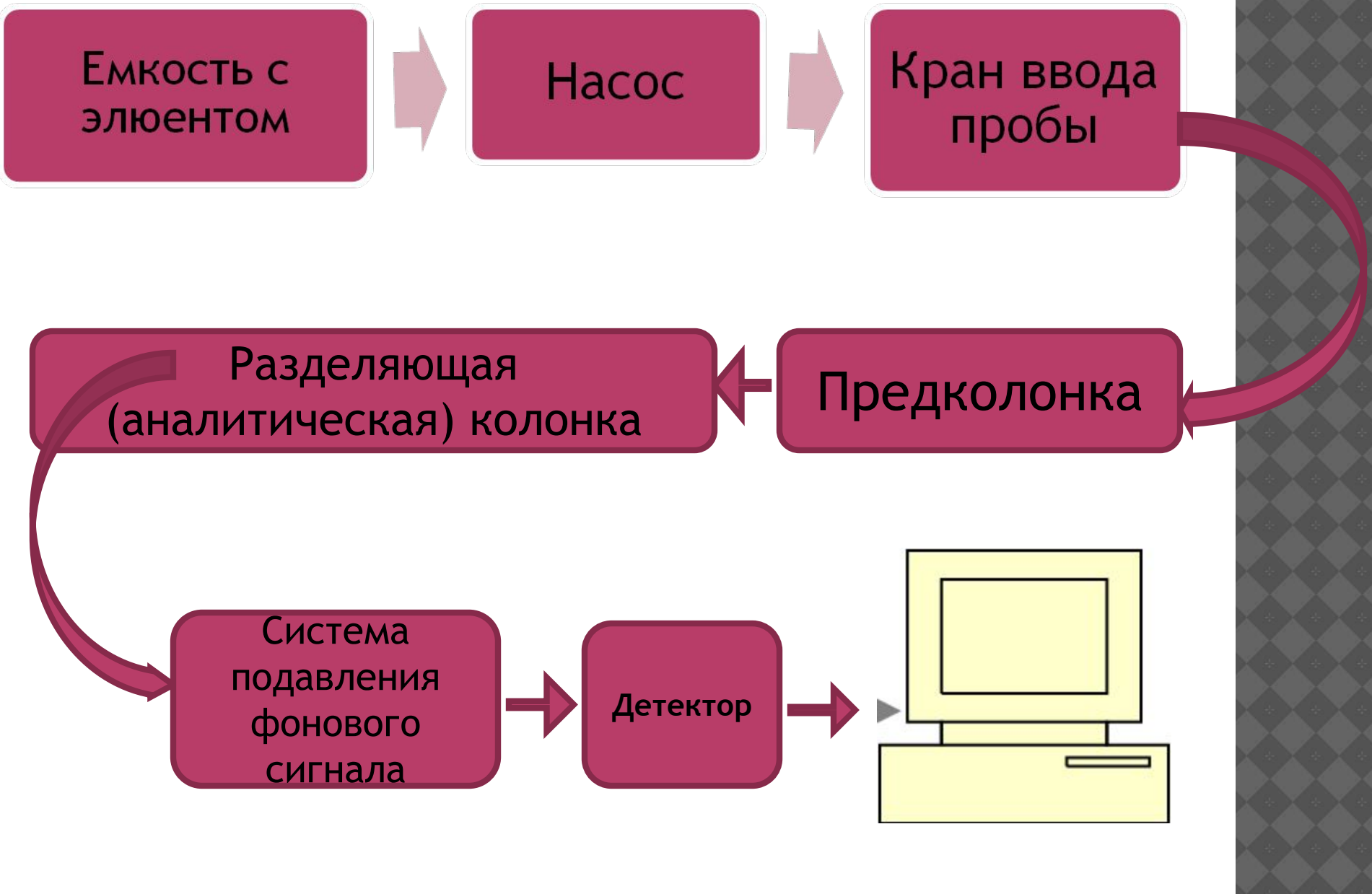
КЛАССИФИКАЦИЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Признак	Виды
По агрегатному состоянию фаз	Газовая хроматография, жидкостная, флюидная и др.
По механизму межфазного распределения	распределительная, адсорбционная, ионообменная и др.
По способу проведения	колоночная, планарная (ТСХ, БХ)
По способу перемещения сорбата	элюентная, вытеснительная, фронтальная
По целям и задачам	аналитическая, препаративная

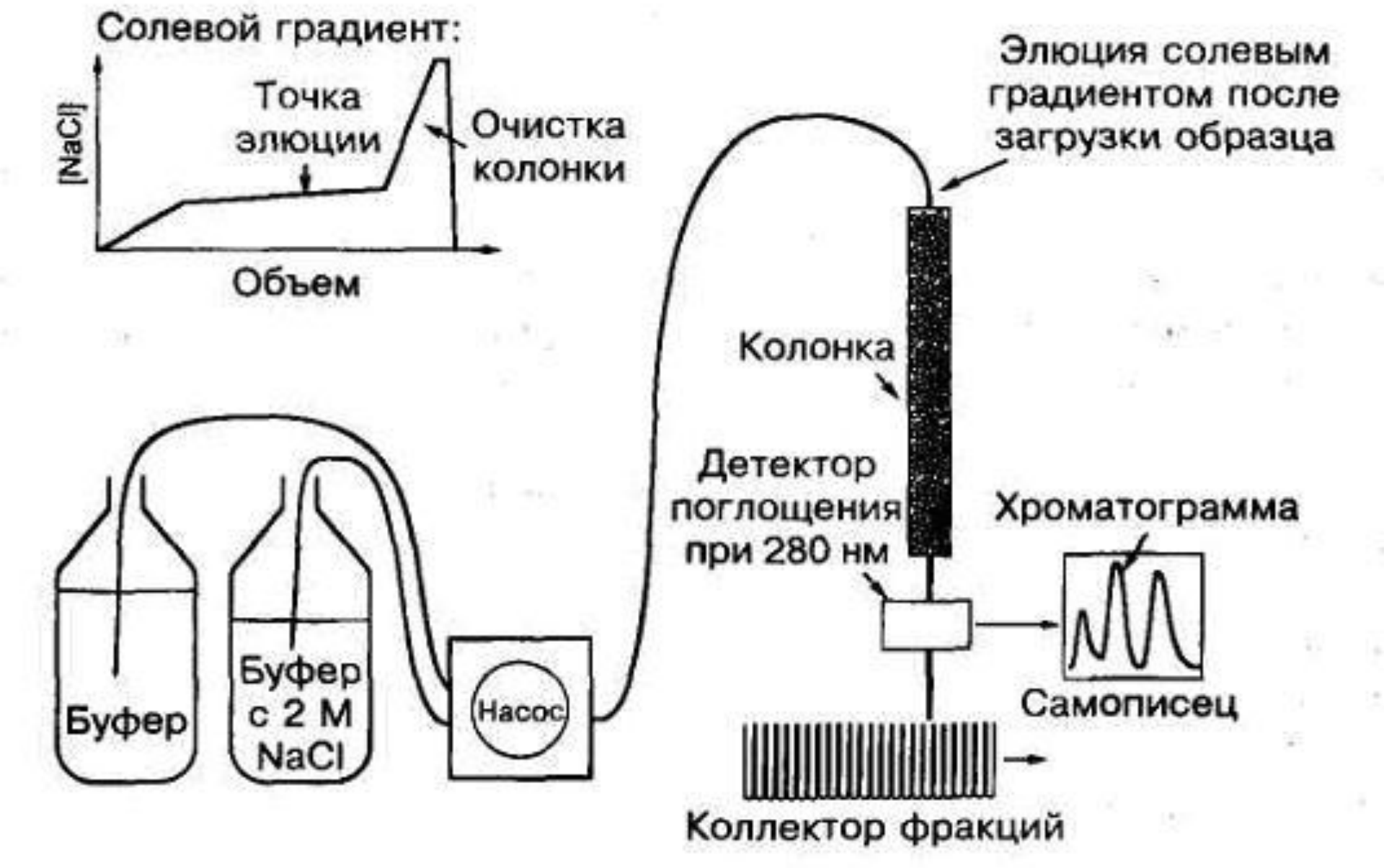
ИОНООБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

- Ионообменная хроматография основана на способности компонентов анализируемой смеси вступать в обменные реакции с подвижными ионами адсорбента. В этом случае анализируемый раствор пропускают через хроматографическую колонку, заполненную мелкими зернами ионообменного вещества (ионитом) - катионитом или анионитом. Иониты представляют собой нерастворимые неорганические и органические высокомолекулярные соединения, содержащие активные группы. Подвижные ионы этих групп способны при контакте с растворами электролитов обмениваться на катионы или анионы растворенного вещества. В качестве ионитов применяют оксид алюминия (для хроматографии), сульфоуголь и разнообразные синтетические органические, ионообменные смолы.

СХЕМА ИОННОГО ХРОМАТОГРАФА

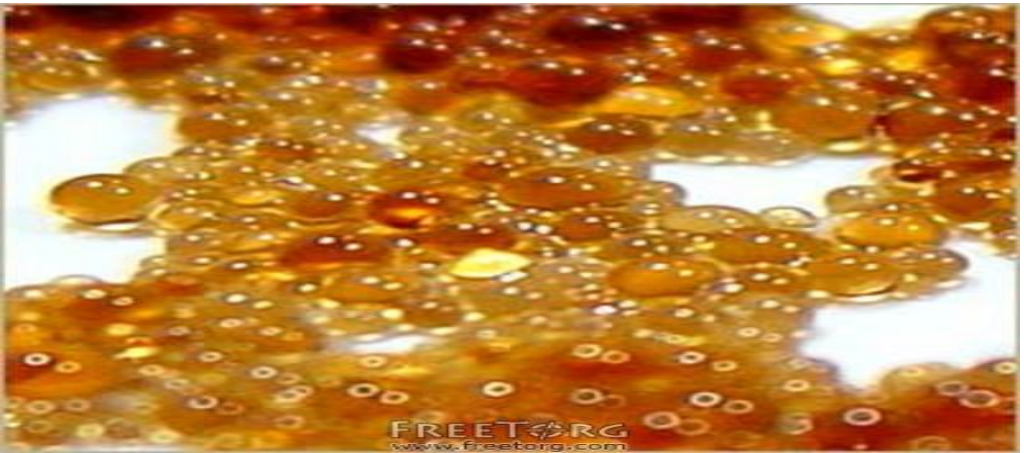


ТИПИЧНАЯ УСТАНОВКА ИОНООБМЕННОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ОЧИСТКИ БЕЛКОВ. ПОСЛЕ ЗАГРУЗКИ ОБРАЗЦА НАСОС СОЗДАЕТ СОЛЕВОЙ ГРАДИЕНТ ДЛЯ ЭЛЮЦИИ ОБРАЗЦА.



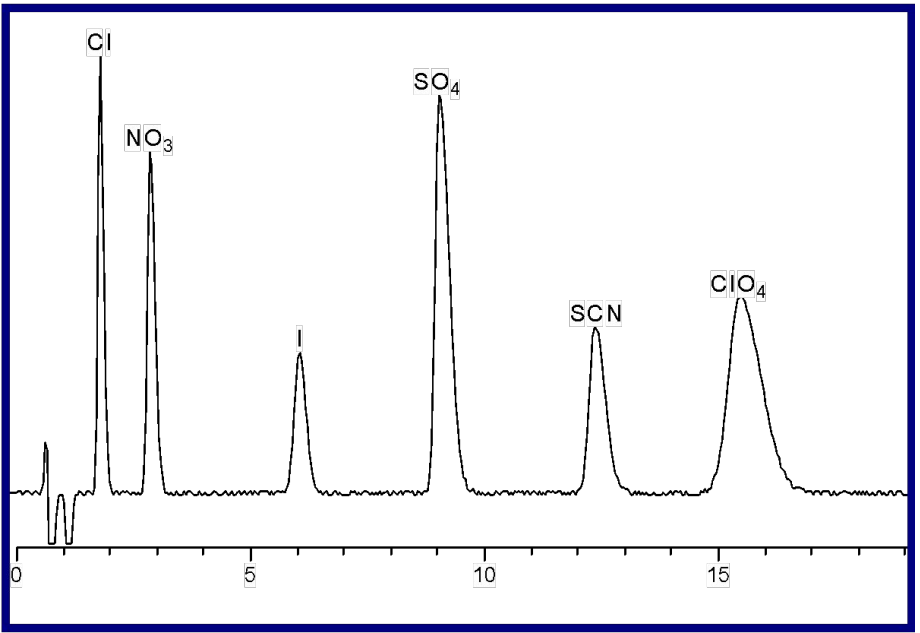
ИОНИТЫ ДЕЛЯТ НА:

* катиониты, способные к катионному обмену;
* анионитыспособные к анионному обмену;
*ионообменные вещества, обладающие амфотерными свойствами, т. е. способные и к анионному, и к катионному обмену.



ИОНООБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

- Весьма эффективный метод определения любых ионов.
- Лучший метод определения неорганических анионов.
- Чувствительность - 1-10 нг/мл (без дополнительного концентрирования.



Анионообменник Силасорб-S с нанесенным 6,10-ионеном. Колонка: 50х3 мм.

Элюент: 0.3 мМ гидрофталат калия. Расход 1.0 мл/мин.

УФ-детектор (λ=254 нм).

ПРИМЕНЕНИЕ ИОНООБМЕННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

- Ионообменную хроматографию широко применяют в медицине, биологии, биохимии, для контроля окружающей среды, при анализе содержания лекарств и их метаболитов в крови и моче, ядохимикатов в пищевом сырье, а также для разделения неорганических соединений, в том числе радиоизотопов, лантаноидов, актиноидов и др. Анализ биополимеров (белков, нуклеиновых кислот и др.), на который обычно затрачивали часы или дни, с помощью ионообменной хроматографии проводят за 20-40 мин с лучшим разделением. Применение ионообменной хроматографии в биологии позволило наблюдать за образцами непосредственно в биосредах, уменьшая возможность пêрегруппировки или изомеризации, что может привести к неправильной интерпретации конечного результата. Интересно использование данного метода для контроля изменений, происходящих с биологическими жидкостями.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!!!