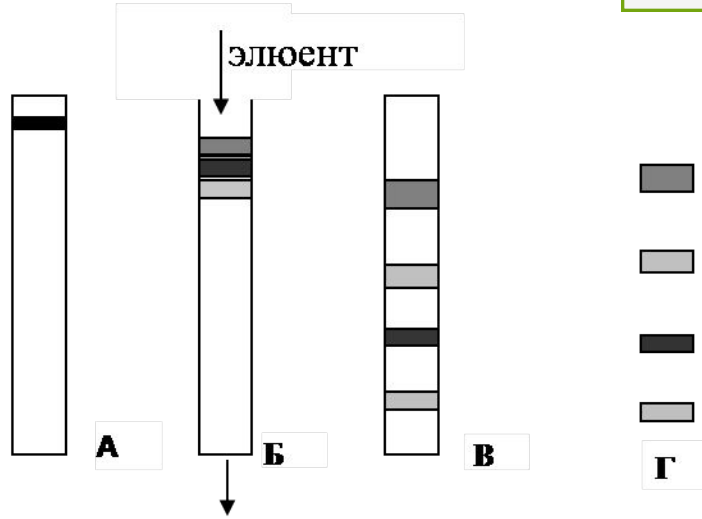
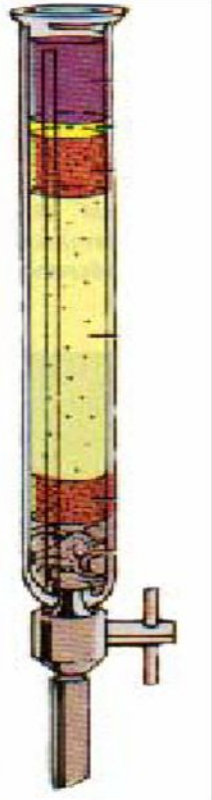


Методы
хроматографии.
Ионообменная
хроматография.

Михаил Семенович Цвет (1872 - 1919)

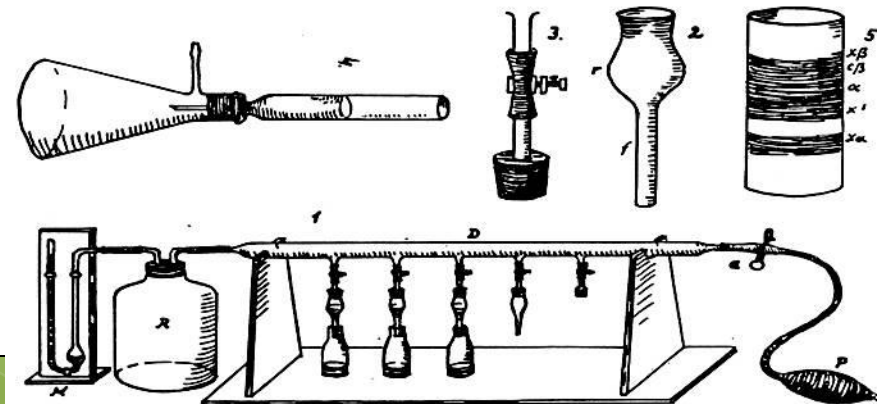


Михаил Семенович Цвет
M. S. Tsvet



Разделение хлорофилла (1903)

Аппаратура Цвета



Здесь была открыта хроматография

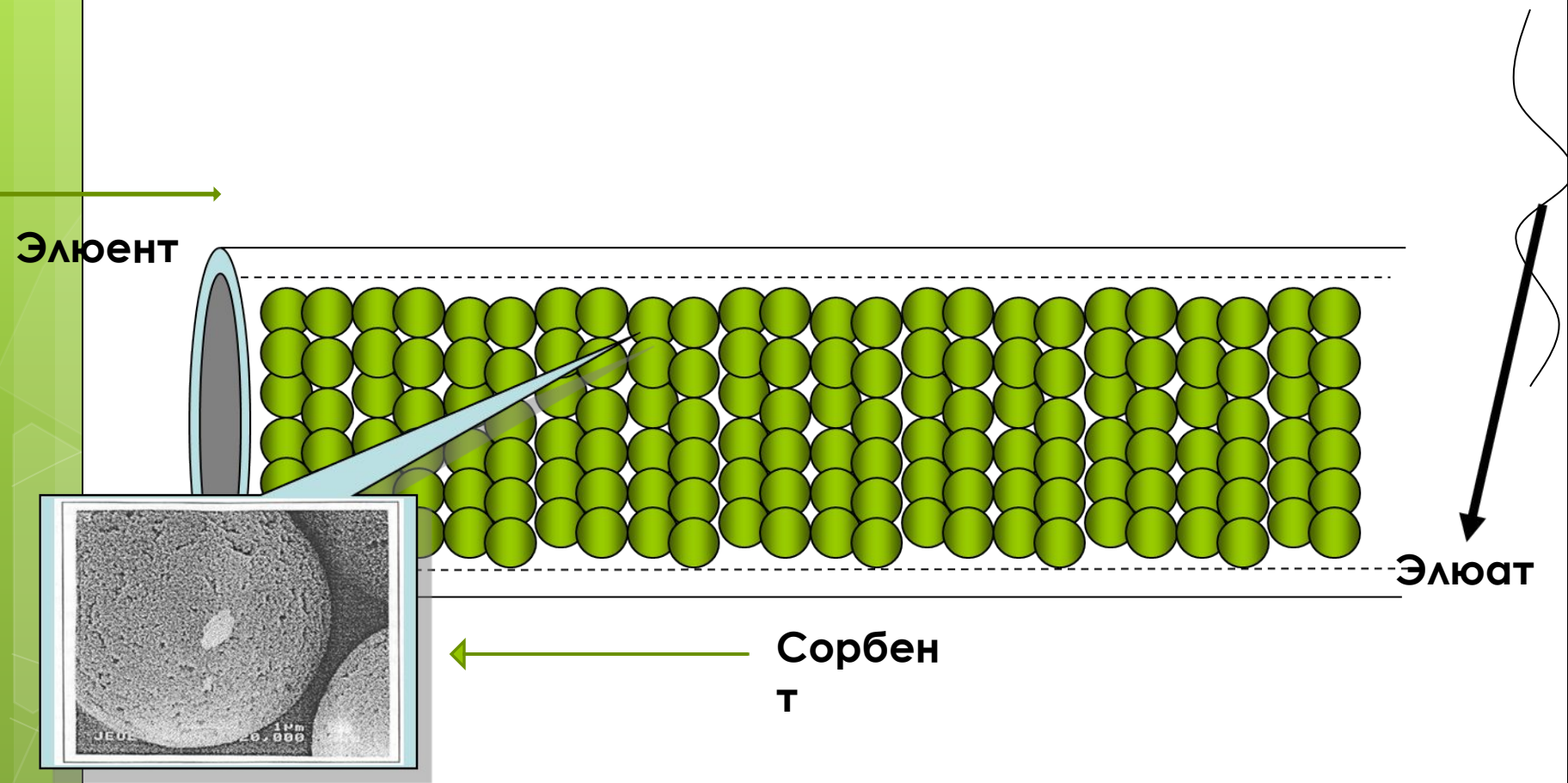
История хроматографического анализа

- **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**

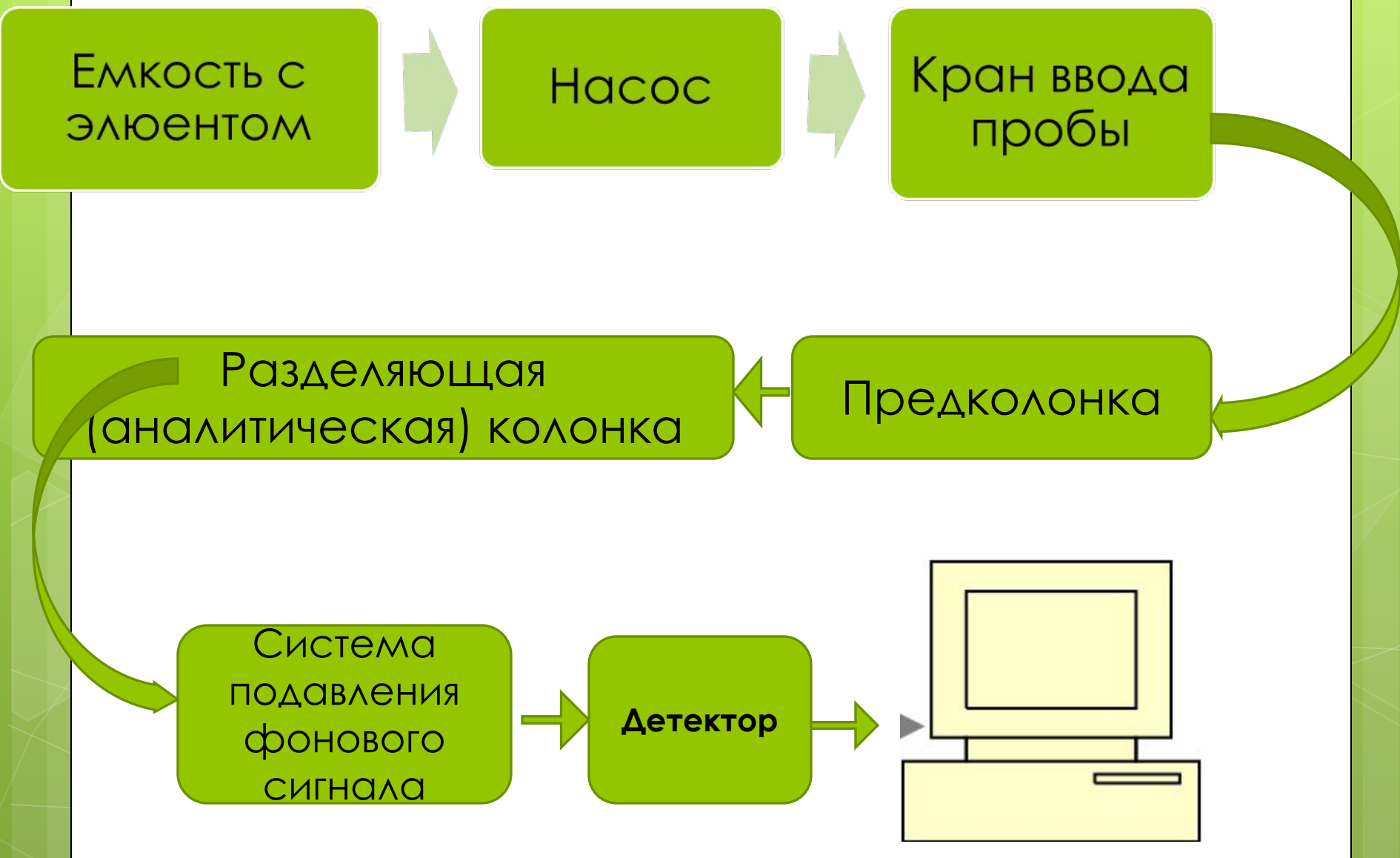
Классификация хроматографических методов

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

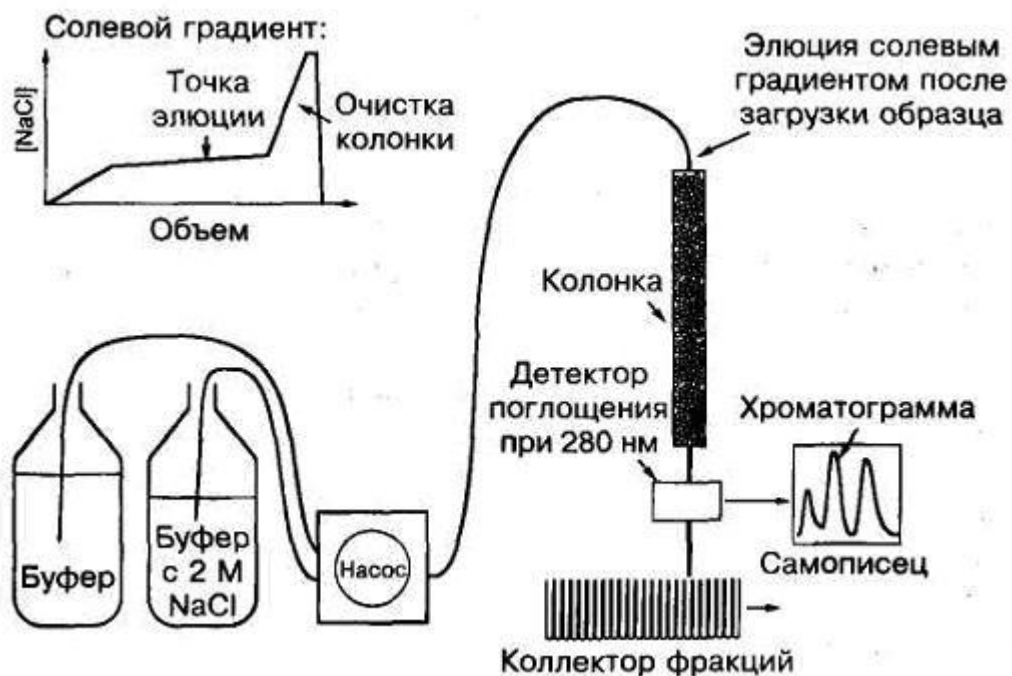
Ионообменная хроматография

- **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), сернистый углерод 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.



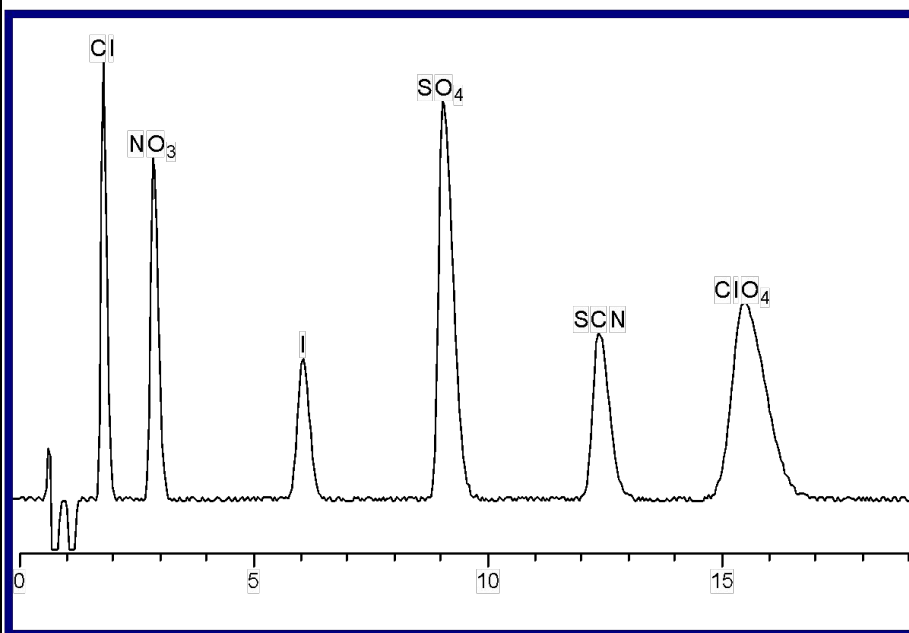
Иониты делят на:

- * катиониты, способные к катионному обмену;
- * аниониты способные 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: 50x3 мм.**

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

УФ-детектор ($\lambda=254$ 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 перегруппировки или изомеризации, что может привести к неправильной интерпретации конечного результата. Интересно использование данного метода для контроля изменений, происходящих с биологическими жидкостями.

Аффинная хроматография

- ▣ **Аффинная хроматография** (от лат. affinis - родственный) (биоспецифич. хроматография, хроматография по сродству), **метод очистки и разделения белков**, основанный на их избират. взаимодей. с лигандом, ковалентно связанным с инертным носителем. В кач-ве лигандов используют соедин., взаимодей. которых с разделяемыми в-вами основано на биол. ф-ции последних. Так, при разделении ферментов (для чего преим. и применяется аффинная хроматография) лигандами, основанный на их избират. взаимодей. с лигандом, ковалентно связанным с инертным носителем. В кач-ве лигандов используют соедин., взаимодей. которых с разделяемыми в-вами основано на биол. ф-ции последних. Так, при разделении ферментов (для чего преим. и применяется аффинная хроматография) лигандами служат их субстраты, ингибиторы или коферменты, основанный на их избират. взаимодей. с лигандом, ковалентно связанным

Сверхкритическая флюидная хроматография

□ В сверхкритической флюидной хроматографии (СФХ) подвижной фазой служит сверхкритический флюид – вещество, находящееся в сверхкритическом состоянии и имеющее показатели, промежуточные между характеристиками газов и жидкостей, благодаря тому, что находится при так называемой критической температуре T_c и критическом давлении P_c .

□ Наиболее важными характеристиками используемых в хроматографии подвижных фаз являются плотность, вязкость и коэффициент диффузии.

Аномально высокая плотность сверхкритических флюидов обуславливает чрезвычайно высокую растворяющую способность в них большинства нелетучих веществ. Например, диоксид углерода в сверхкритическом состоянии растворяет *n*-алканы с числом *C*-атомов от 5 до 40, а также очень многие полициклические ароматические углеводороды.

Флюид	Температура $T_c, ^\circ\text{C}$	Давление $P_c, \text{Па}$	Плотность $d_c, \text{г/см}^3$
CO_2	31,3	7,39	0,468
N_2O	36,5	7,27	0,457
NH_3	132,5	11,40	0,235
Метанол	239,4	8,10	0,272
<i>n</i> -Бутан	152,0	3,80	0,228
Дифтордихлорметан	111,8	4,12	0,558
Диэтиловый эфир	195,6	3,64	0,265

Спасибо за
внимание!!!