

Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
"Красноярский государственный медицинский университет  
имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого"

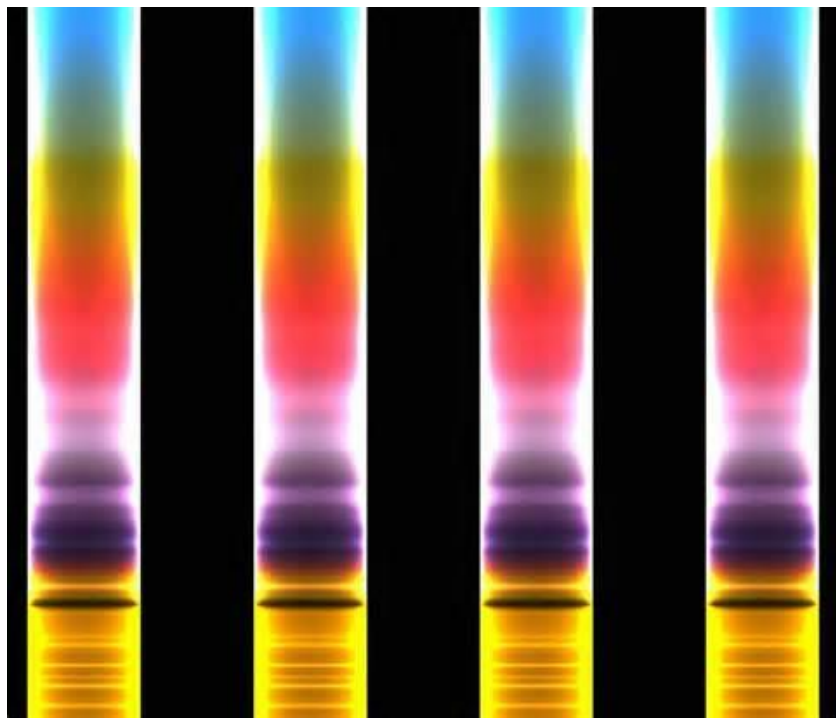


Медико-психолого-фармацевтический факультет

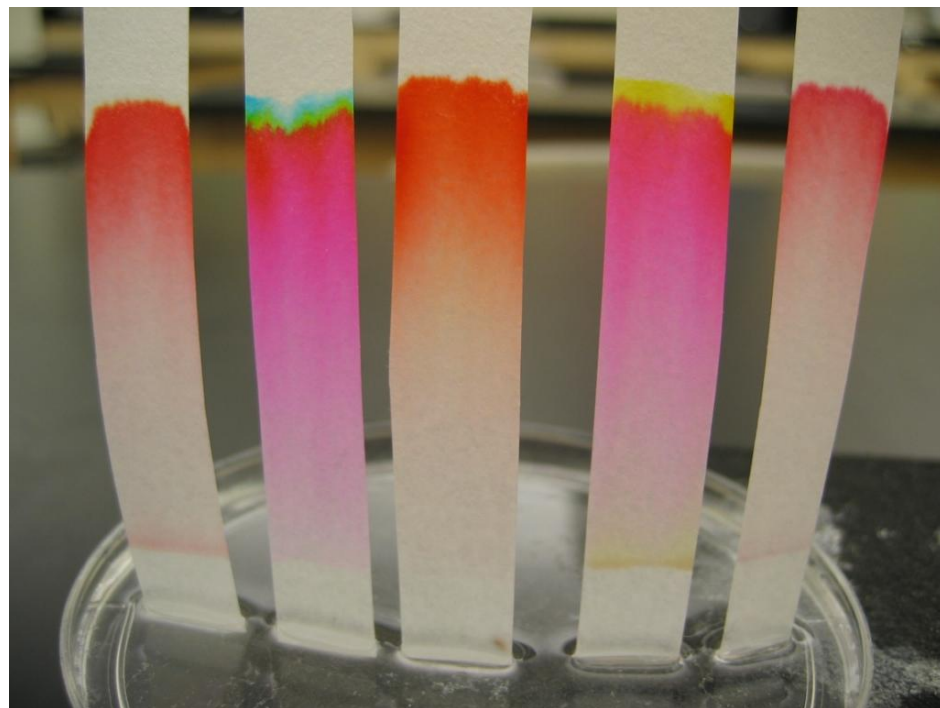
# Хроматография

# Хроматография

## Сущность и классификация хроматографии



<http://www.digopaul.com/ru/english-word/chromatography.html>



<https://pixshark.com/paper-chromatography-black-ink.htm>

# План

- ▶ М.С.Цвет. История создания хроматографического метода
- ▶ Сущность метода
- ▶ Хроматографический метод
- ▶ Классификация хроматографии по различным признакам
- ▶ Преимущества метода
- ▶ Выводы
- ▶ Литература

# Михаил Семёнович Цвет (1872—1919)



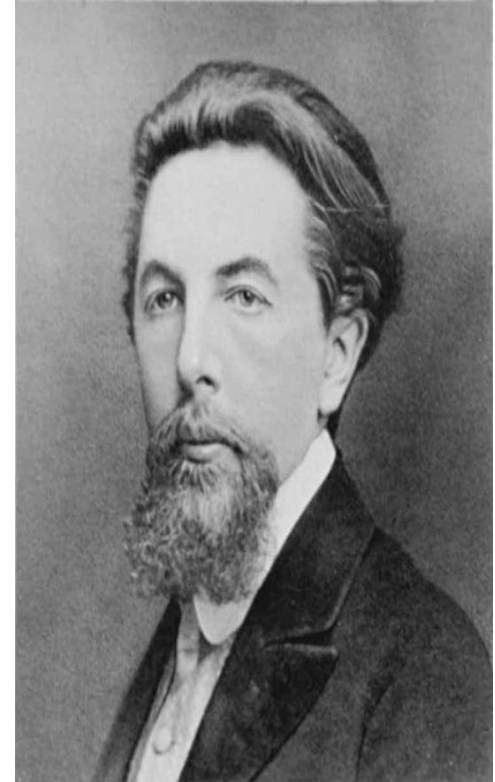
- ▶ Русский ботаник-физиолог и биохимик растений.
- ▶ Создал хроматографический метод.
- ▶ Открытие Цвета получило широкое применение и признание с начала 1930-х гг. при разделении и идентификации различных пигментов, витаминов, ферментов, гормонов и др. органических и неорганических соединений и послужило основой для создания ряда новых направлений хроматографии.

# История открытия

Первооткрывателем хроматографии был русский ученый, ботаник и физикохимик Михаил Семенович Цвет.

Исследуя пигменты растений, Цвет пропустил раствор смеси пигментов, мало различающихся по цвету, через трубку, заполненную адсорбентом – порошкообразным карбонатом кальция, и промыл затем адсорбент чистым растворителем. Отдельные компоненты смеси при этом разделились и образовали цветные полосы.

Согласно современной терминологии Цвет открыл проявительный вариант хроматографии (проявительную жидкостно-адсорбционную хроматографию).



Михаил Семенович  
Цвет

# Михаил Семёнович Цвет



30 декабря 1901 года - первое сообщение о разработке метода хроматографии.

# Основные достоинства хроматографического анализа:

- 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

# Преимущества хроматографического метода

- ▶ Широкое распространение хроматографы получили в медицинской, фармакологической, нефтегазоперерабатывающей, экологической сферах и во многих других отраслях.

К числу преимуществ использования хроматографа можно отнести:

- ▶ возможность работы с любыми веществами благодаря использованию различных видов взаимодействия неподвижной и подвижной фазы;
- ▶ высокую скорость анализа проб;
- ▶ динамическое исследование вещества, позволяющее повысить точность данных в сравнении со статическим анализом;
- ▶ решение аналитических и практических задач лаборатории, производства;
- ▶ простоту использования прибора и его калибровки;
- ▶ определение составляющих веществ даже в малых концентрациях.

Подробнее: <http://bloknot-krasnodar.ru/news/princip-deystviya-hromatografov-878879>

# Сущность метода

► Хроматографией называется физико-химический метод разделения смесей, основанный на *равновесном распределении компонентов между двумя несмешиваемыми фазами – неподвижной и подвижной*

# Сущность метода

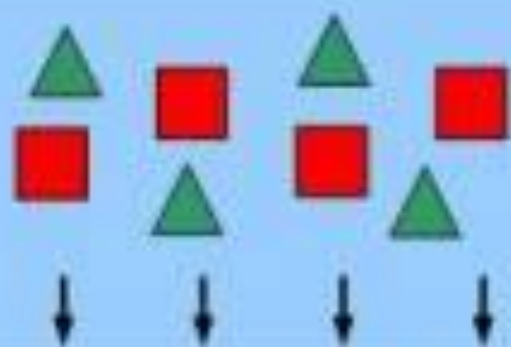
► Неподвижна фаза  
(стационарная)

Твёрдое вещество или  
пленка жидкости,  
нанесенная на  
твёрдое вещество.

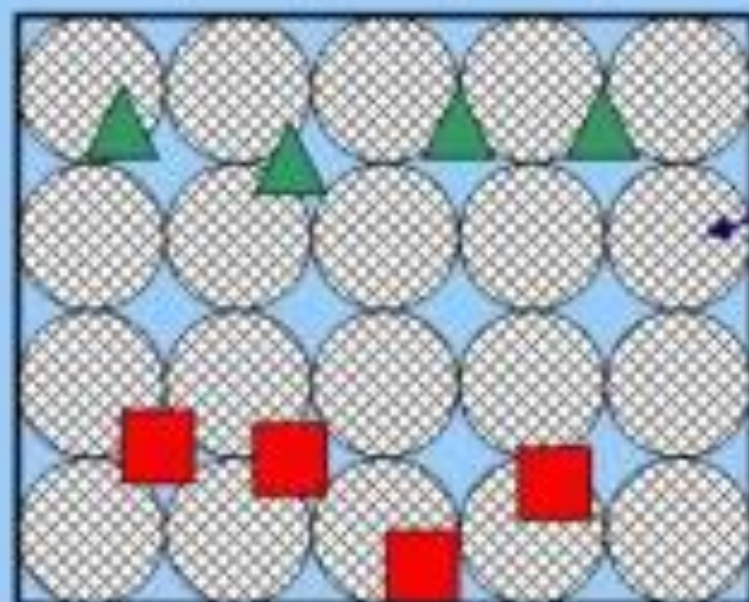
► Подвижная фаза

Жидкость или газ,  
протекающий через  
неподвижную фазу.

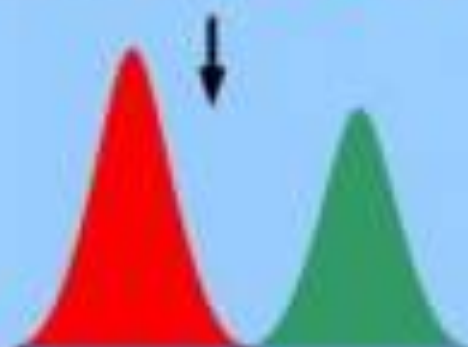




*Подвижная фаза*



*Неподвижная фаза*



# Сущность метода

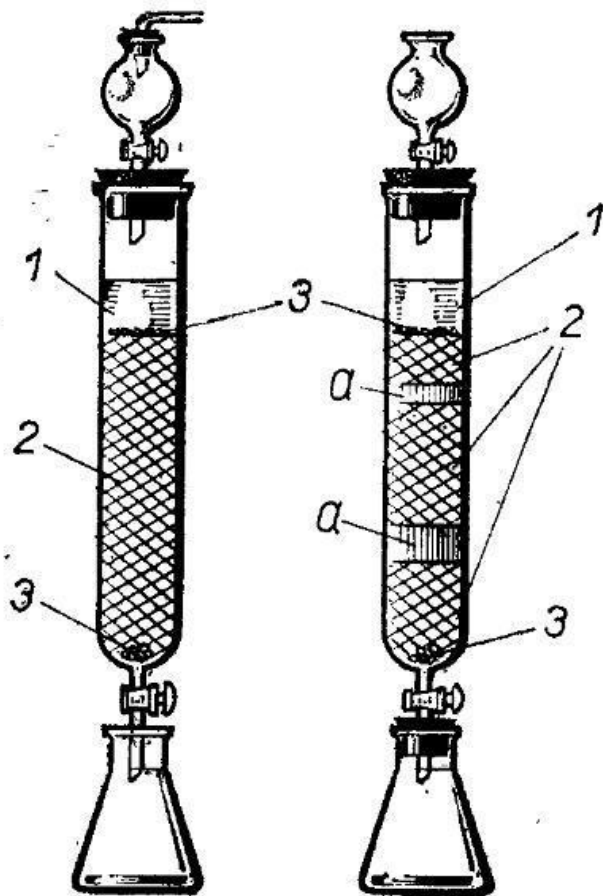


Рис. 19. Хроматографические колонки: 1 — элюент; 2 — сорбент; 3 — стеклянная вата; а) зоны веществ

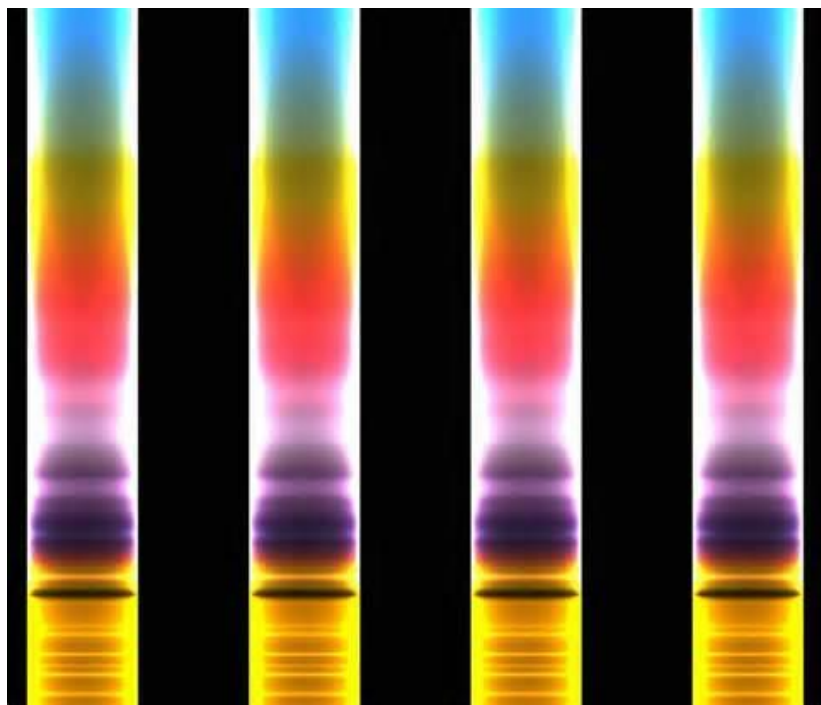
- ▶ Компоненты анализируемой фазы вместе с подвижной фазой передвигаются вдоль неподвижной фазы, помещенной (обычно) в стеклянную (металлическую) трубку — *хроматографическая колонка*.
- ▶ Она заполнена сорбентом (2)
- ▶ При введении смеси:  
Её компоненты в силу их разного сорбционного сродства двигаются с разными скоростями к центрам сорбции, вследствие чего разделяются. (а)

# Классификация хроматографии

- ▶ По *агрегатному состоянию*
- ▶ По *механизму взаимодействия фаз*
- ▶ По *технике выполнения*
- ▶ По *способу хроматографирования*
- ▶ По *цели хроматографирования*

# По цели хроматографирования

## ► Аналитическая



## ► Препаративная

для получения чистых веществ,  
концентрирования и выделения  
микропримесей

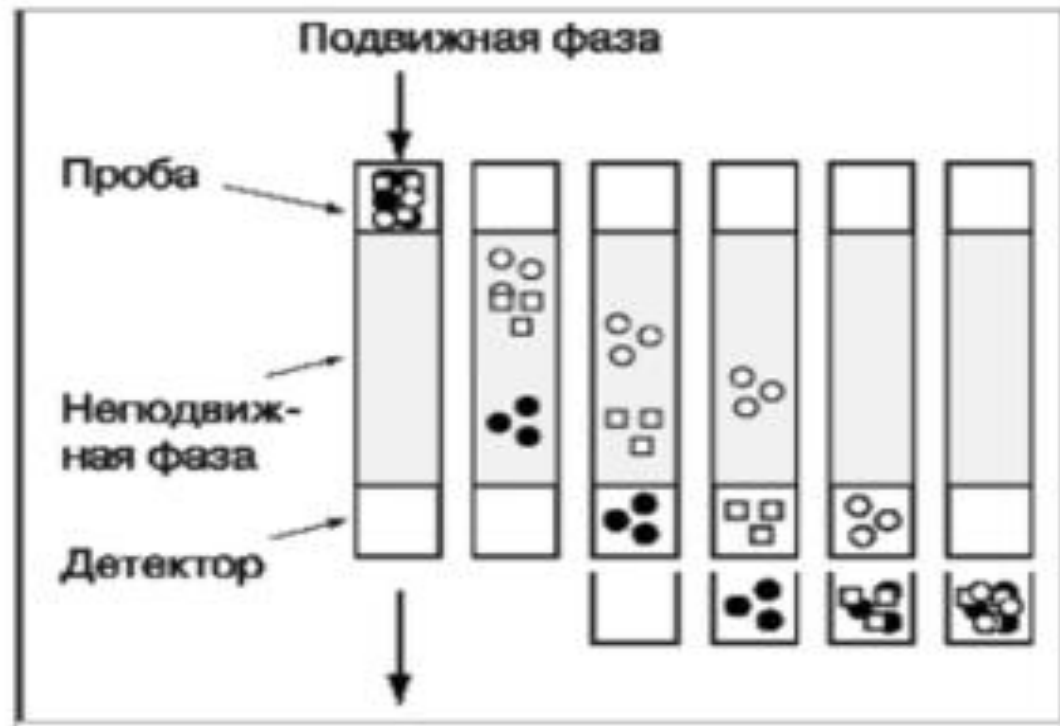


<http://donaulab-cis.com/components/sistema-dlya-preparativnoj-fle-sh-hromatografii-v-gradientnom-rezhime-s-ruchny-m-upravleniem-davlenie-do-10-bar/>

# КЛАССИФИКАЦИЯ ХРОМАТОГРАФИИ

По физической природе  
неподвижной и подвижной фаз

- *Жидкостная*
- *Газовая*



# ***По агрегатному состоянию***

## **► Газовая включает:**

- 1. Газожидкостную**
- 2. Жидкостно-твердофазную**
- 3. Газо-твердотельную**

## **► Жидкостная включает:**

- 1. Жидкостно-жидкостную**
- 2. Жидкостно-твердофазную**
- 3. Жидкостно-гелиевую**

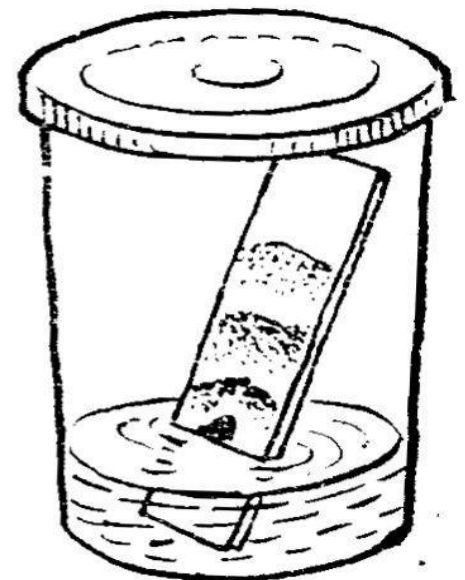
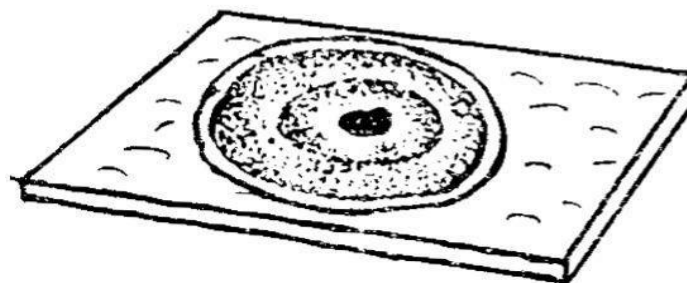
# **В зависимости от способа перемещения сорбатов вдоль слоя сорбента**

- *Проявительный (элюентный)*
- *Фронтальный*
- *Вытеснительный*
- *Электрохроматография*

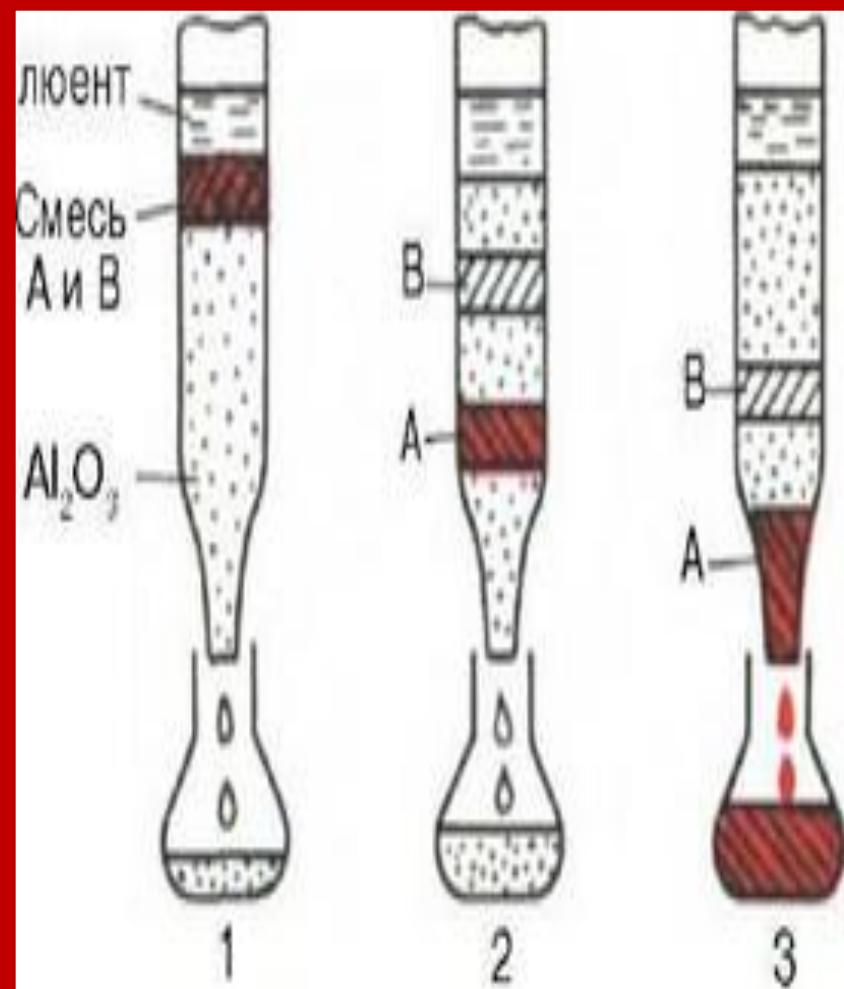
# **В зависимости от механизма сорбции**

- *молекулярная*
- *ситовая*
- *хемосорбционная*
- *ионообменная*

# ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ



# АДСОРБЦИОННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

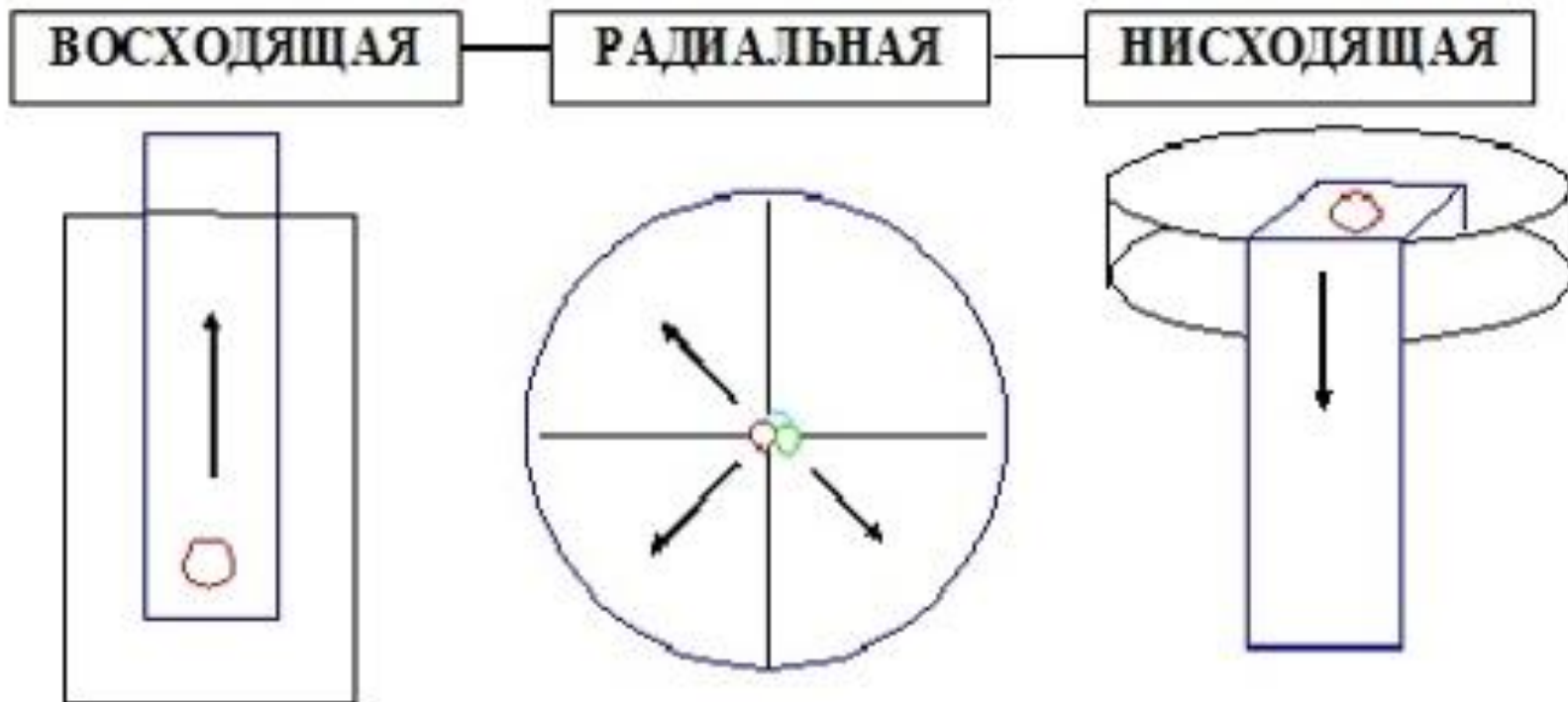


**Рис. 1.3.** Абсорбционная хроматография (схема). Разделение двух разных веществ (А и В), перемещающихся по колонке с разной скоростью.

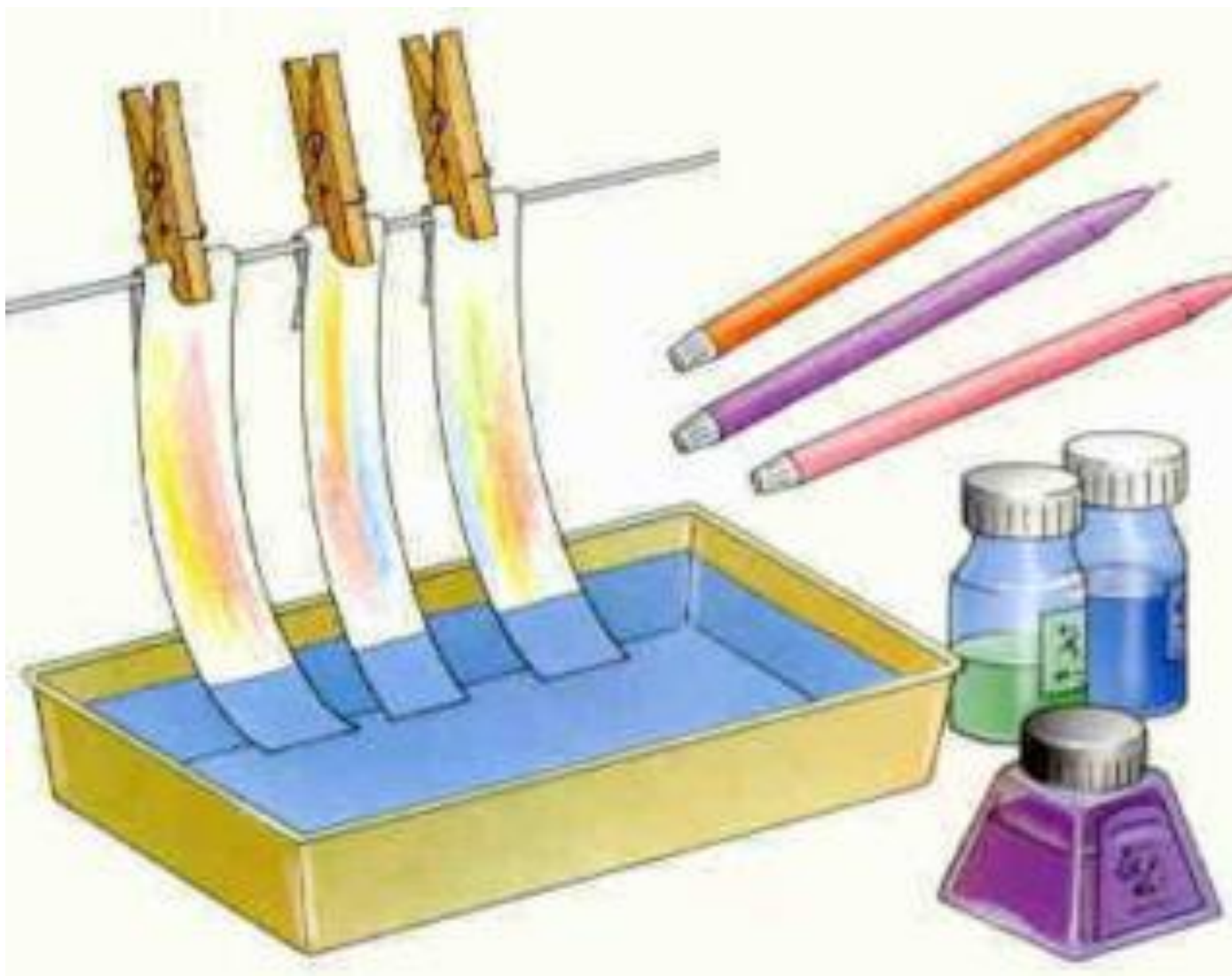
1 - нанесение образца на колонку; 2 - середина опыта; 3 - окончание опыта.

# РАСПРЕДЕЛИТЕЛЬНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Рисунок 1. Виды распределительной хроматографии



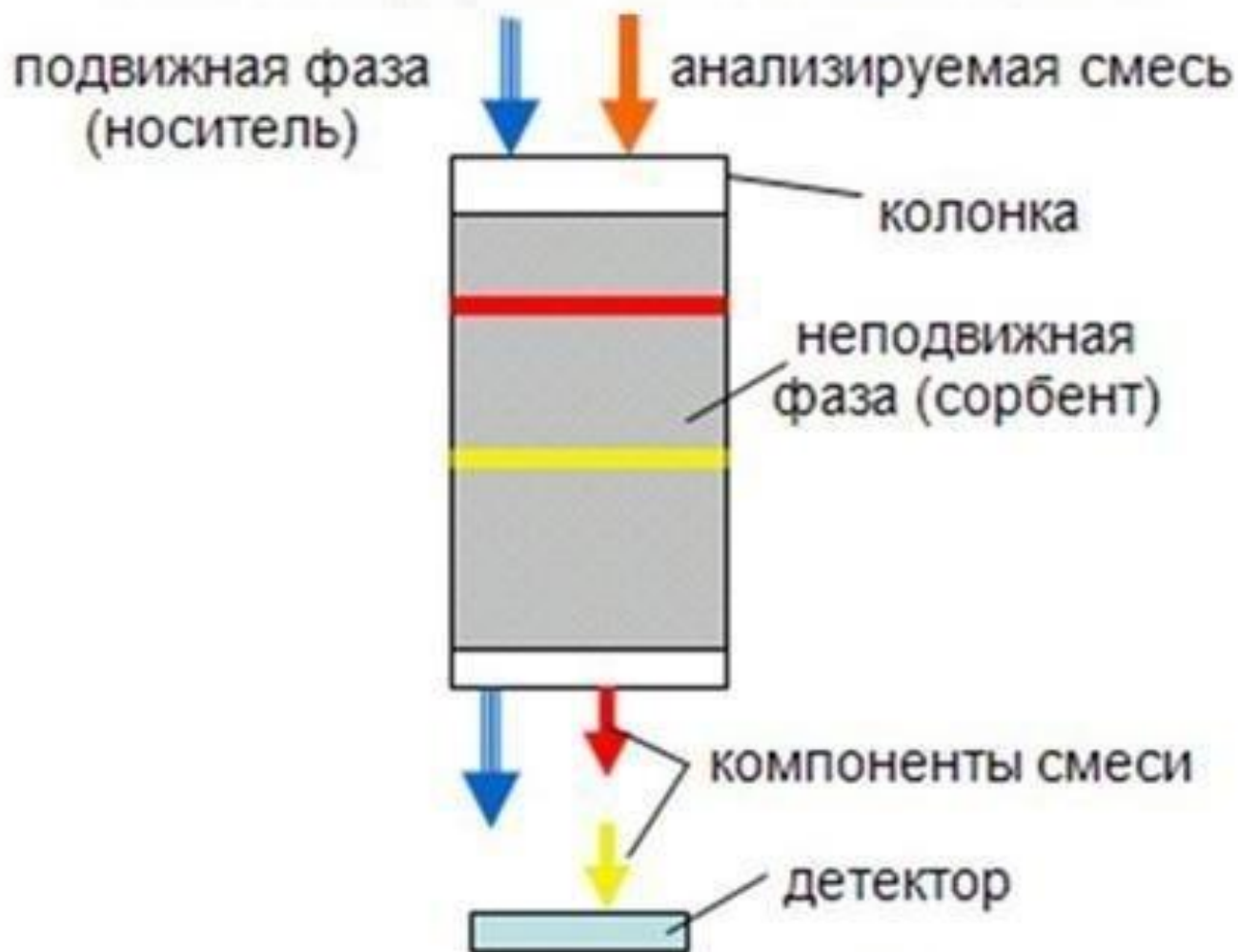
# БУМАЖНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ



# По механизму взаимодействия

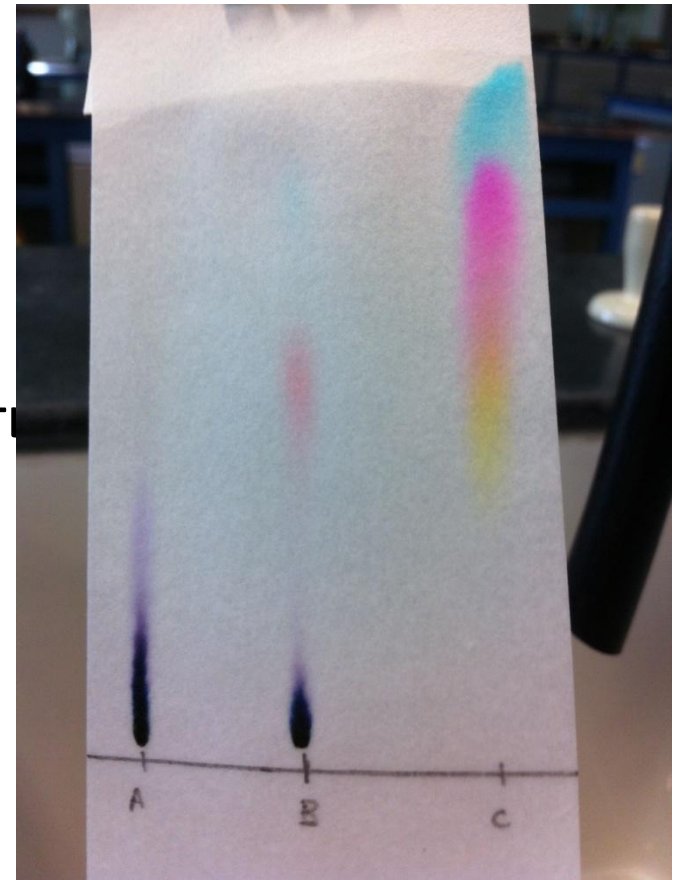
- *Адсорбционная*
- *Распределительная*  
(АБСОРБЦИОННАЯ)
- *Ионообменная*
- *Осадочная*
- *Аффинная*  
(биоспецифическая)

# Схема хроматографической колонки



# Хроматографический метод

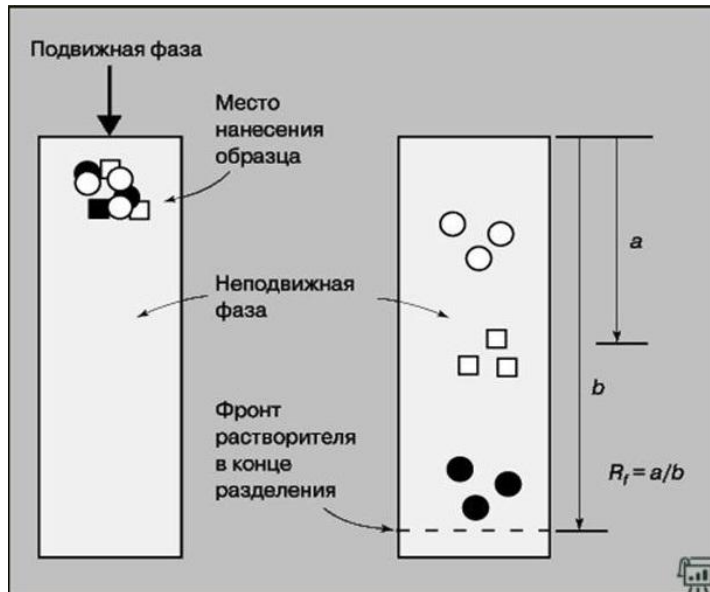
- ▶ Хроматография, основанная на распределении компонентов между двумя фазами, является *динамическим методом*.
- ▶ В нем обеспечивается многократность актов сорбции-десорбции разделяемых компонентов.
- ▶ Большая эффективность разделения!



# По механизму взаимодействия фаз

## ► Распределительная

Основана на различии в растворимости разделяемых веществ в неподвижной фазе или на различии в растворимости веществ в подвижной и неподвижной жидких фазах

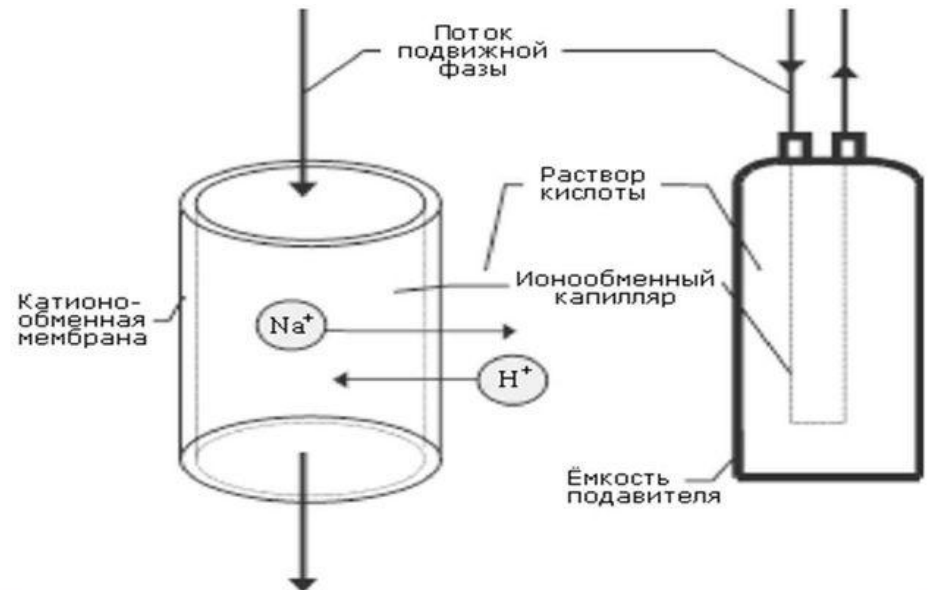


## ► Адсорбционная

Основана на различии адсорбируемости веществ твердым сорбентом

## ► Ионообменная

Основана на разной способности веществ к ионному обмену



## Ионнообменная хроматография

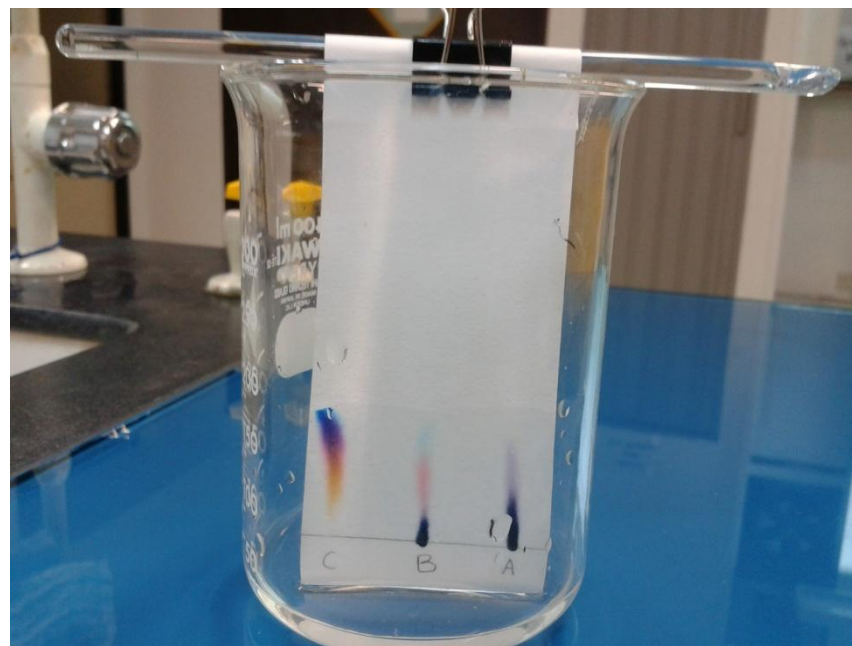
# По технике выполнения

## ► Колоночная



<https://rutube.ru/video/8ef1a429340291ddbae0abf4f137f0c5/>

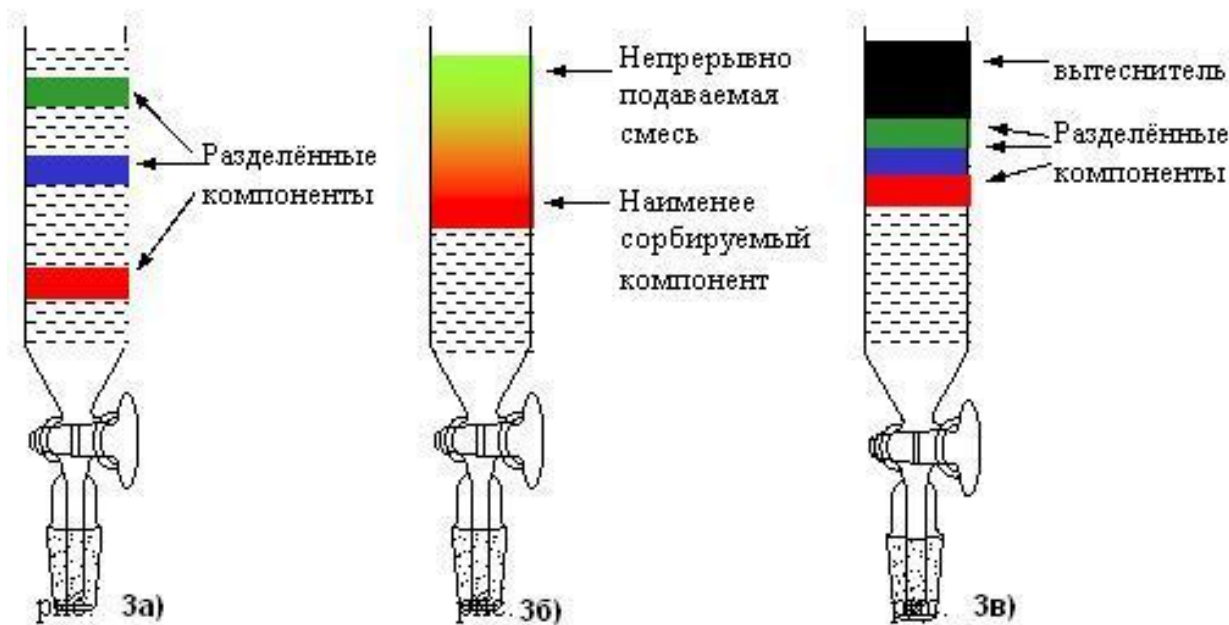
## ► Плоскостная (бумажная и тонкослойная)



<https://pixshark.com/paper-chromatography-black-ink.htm>

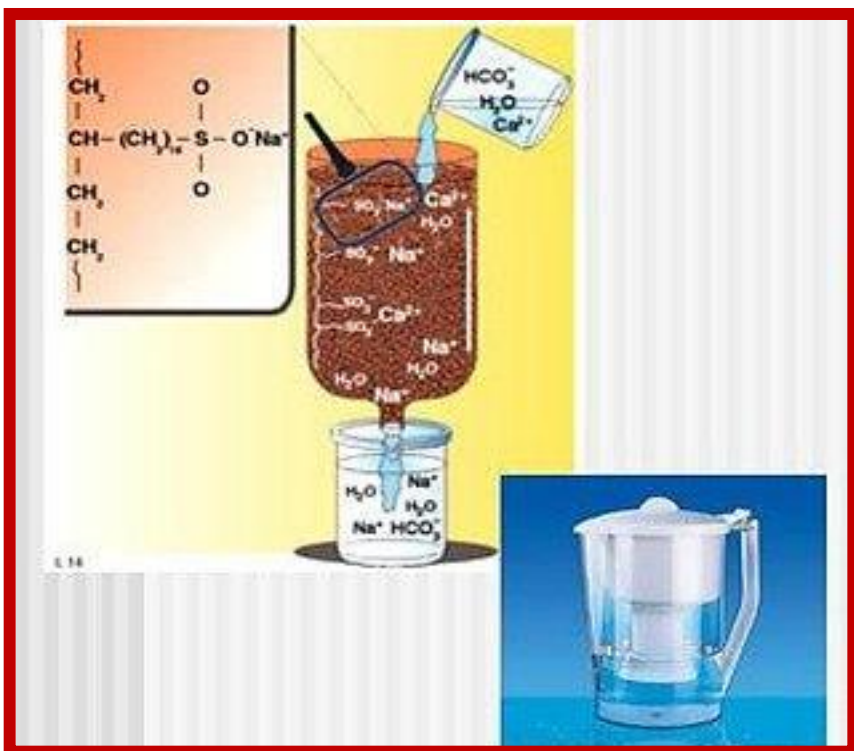
# По способу хроматографирования

- ▶ Элюентная (3а) — компоненты анализируемой смеси выходят из хроматографической колонки в потоке элюента отдельными зонами.
- ▶ Фронтальная (3б) — непрерывном пропускании исследуемой смеси через слой сорбента.
- ▶ Вытеснительная (3в) — перенос разделяемой смеси потоком вещества (вытеснителя).

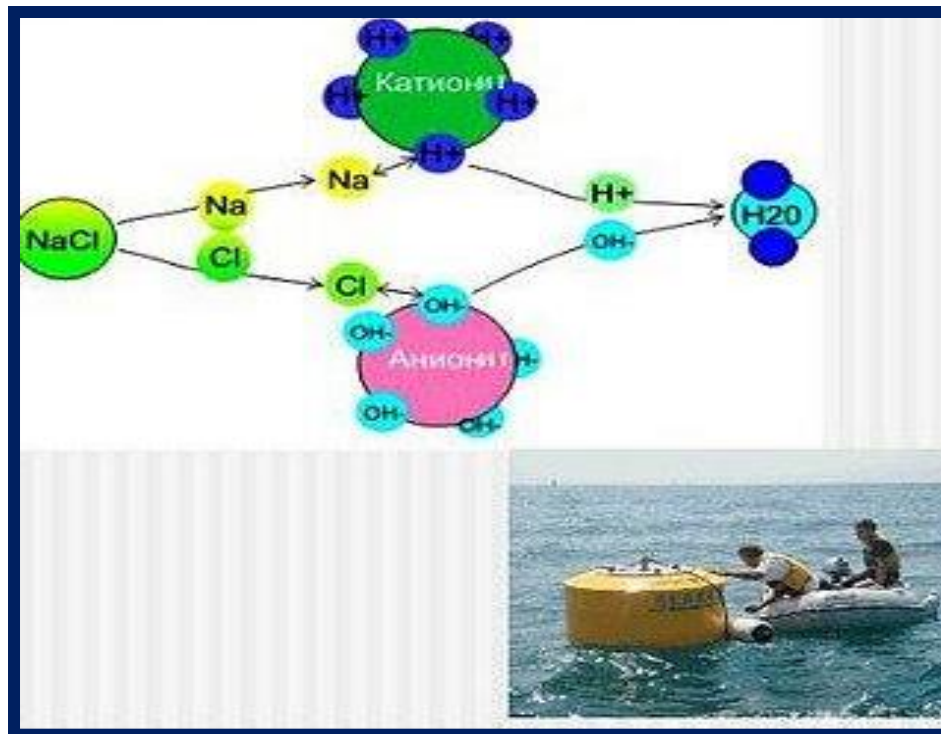


# ИОНООБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

## Некоторые области применения ионообменной хроматографии



Фильтры для устранения жесткости воды



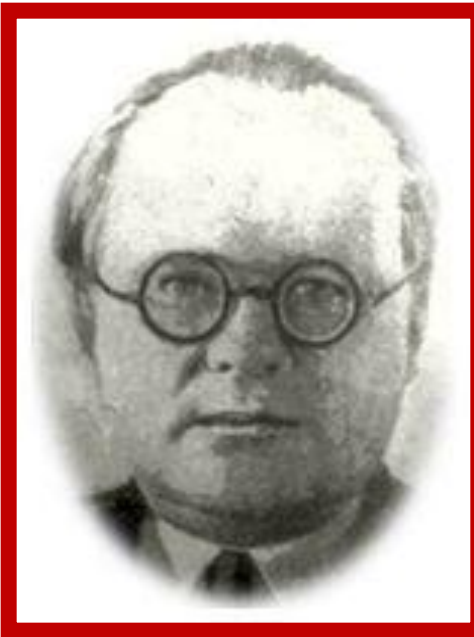
Установки для опреснения морской воды

# История открытия

Заметный вклад внес Г. Шваб, разработав теоретические основы метода ионообменной хроматографии (1937 – 1940).

Дальнейшее развитие метод получил в работах советских ученых Е.Н. Гапона и Т.Б. Гапона.

Современный этап в развитии ионообменной хроматографии начался в 1975 г. после работы Г. Смолла, Т. Стивенса и У. Баумана.



**Евгений  
Никитич  
Гапон**

# Ионообменная хроматография

1. Ионообменная хроматография – это сорбционный динамический метод разделения смесей ионов на сорбентах, называемых ионообменниками. При пропускании анализируемого раствора электролита через ионообменник в результате гетерогенной химической реакции происходит обратимый стехиометрический эквивалентный обмен ионов раствора на ионы того же знака, входящие в состав ионообменника.

# Ионообменная хроматография

**2. Ионообменная хроматография - это задержание молекул веществ в неподвижной фазе, обусловленное их связыванием с поверхностью твердого гидрофильного материала сплошных или пористых гранул, находящихся в контакте с жидким элюентом. В этом варианте хроматографии задержание происходит в результате электростатического взаимодействия разноименно заряженных ионов.**

# Ионообменная хроматография

3. Ионообменная хроматография основана на использовании ионообменных процессов, протекающих между подвижными ионами адсорбента и ионами электролита при пропускании раствора анализируемого вещества через колонку, заполненную ионообменным веществом (ионитом).

# Иониты

Применяемые в ионообменной хроматографии иониты (ионообменники) могут быть органическими или неорганическими веществами. Наиболее часто используемыми неорганическими ионитами являются «окись алюминия для хроматографии», пермутит, фосфат циркония и др. В качестве органических ионитов применяют целлюлозу, сульфо-уголь и синтетические высокомолекулярные вещества — ионообменные смолы.

Способность к ионному обмену определяется строением ионита, представляющего собой «каркас», на котором закреплены активные группы. Таким образом, ионит можно рассматривать как поливалентный ион с отрицательным или положительным зарядом, связанный ионной связью с подвижными ионами противоположного знака.

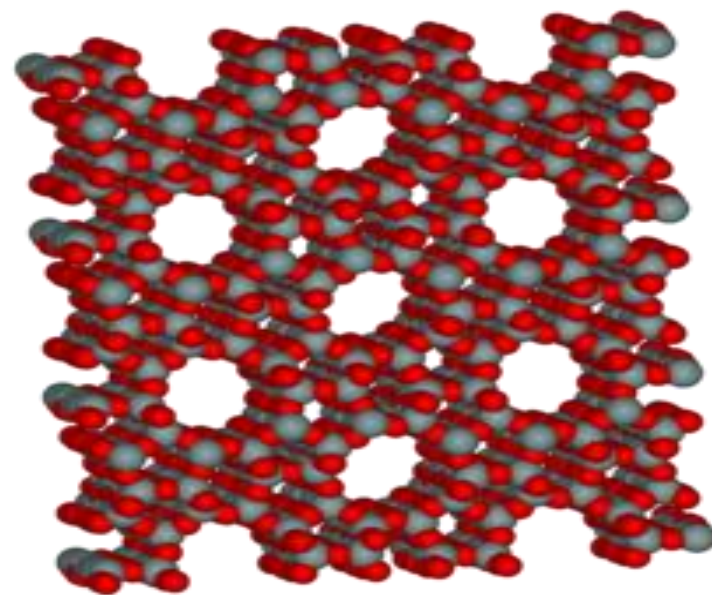
В зависимости от обмена катионов или анионов иониты делят на катиониты, аниониты и амфолиты.

Пермутиты[фр. permutite] –  
искусственные минеральные  
вещества, по химическому  
составу:  
алюмосиликаты натрия и  
калия; применяются для очистки  
воды, понижения её жёсткости,  
удаления солей железа и  
марганца и т.п.

*Большой словарь иностранных слов.-  
Издательство «ИДДК», 2007.*

Цеолиты — большая группа близких по составу и свойствам минералов, водные алюмосиликаты кальция и натрия из подкласса каркасных силикатов, со стеклянным или перламутровым блеском, известных своей способностью отдавать и вновь поглощать воду в зависимости от температуры и влажности.

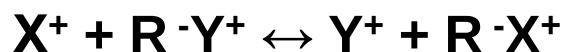
Другим важным свойством цеолитов является способность к ионному обмену — они способны избирательно выделять и вновь впитывать различные вещества, а также обменивать катионы



Микропористое молекулярное строение цеолита

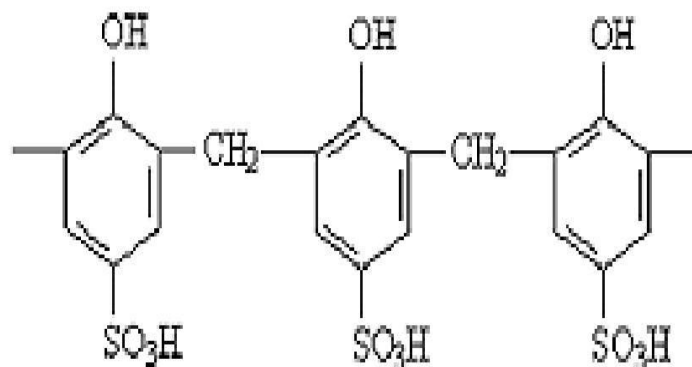
# Катиониты и катионный обмен

**У катионитов активными группами являются кислотные группы: —SO<sub>3</sub>H, —COOH, —OH и другие, которые структурно связаны со скелетом ионита. Подвижными остаются только ионы водорода этих групп или замещающие их катионы.**

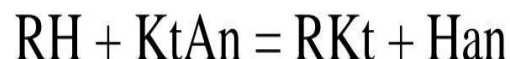


**В конкуренцию с ионами подвижной фазы  $Y^+$  за ионные центры  $R^-$  вступают катионы образца  $X^+$ .**

*Фрагмент катионита:*



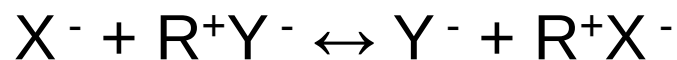
Катионный обмен:



## Катионный обмен

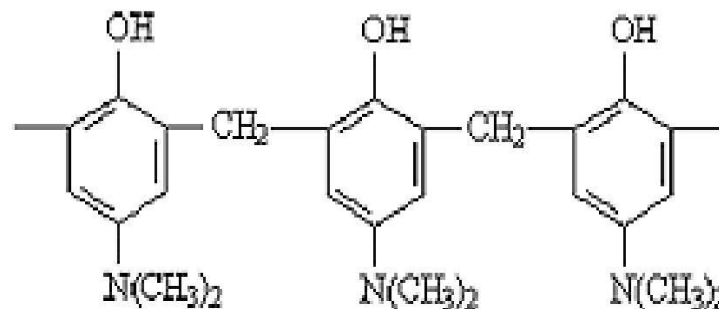
# Аниониты и анионный обмен

У анионитов активными группами являются основные группы:  $\text{-NH}_2$ ,  $\text{=NH}$ ,  $\text{\equiv N}$ , четвертичные аммонийные и пиридиновые группы.

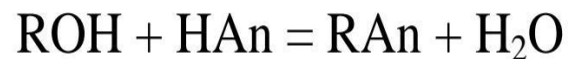


Ион образца  $\text{X}^-$  конкурирует с ионом подвижной фазы  $\text{Y}^-$  за ионные центры  $\text{R}^+$  ионообменника

*фрагмент анионита:*



Анионный обмен:



## Анионный обмен

# Амфолиты

**Амфолиты — молекулы, в структуре которых присутствуют как кислотные, так и основные группы, существующие в виде цвиттер-ионов при определённых значениях pH. Этот pH обозначается как изоэлектрическая точка молекулы.**

**Анионные кислоты, они же анионные основания  $\text{HA}^-$ :  $\text{HSO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ .**

# Применение

**Ионообменная хроматография используется для диагностики заболеваний. Белки и нуклеиновые кислоты разделяют с помощью ионообменной хроматографии на гидрофильных высокопроницаемых ионитах на основе целлюлозы, декстранов, синтетических полимеров, широкопористых силикагелей. Гидрофильность матрицы ионита уменьшает неспецифическое взаимодействие биополимера с сорбентом.**

**В препаративных масштабах ионообменная хроматография используется для выделения индивидуальных РЗЭ, алкалоидов, антибиотиков, ферментов, для переработки продуктов ядерных превращений.**

# Применение

**Ионообменная хроматография используется в медико-санитарной практике для очистки воды, консервирования крови (удаление катионов  $\text{Ca}^{+}$ ), беззондовой диагностики кислотности желудочного сока, детоксикации при различных отравлениях.**

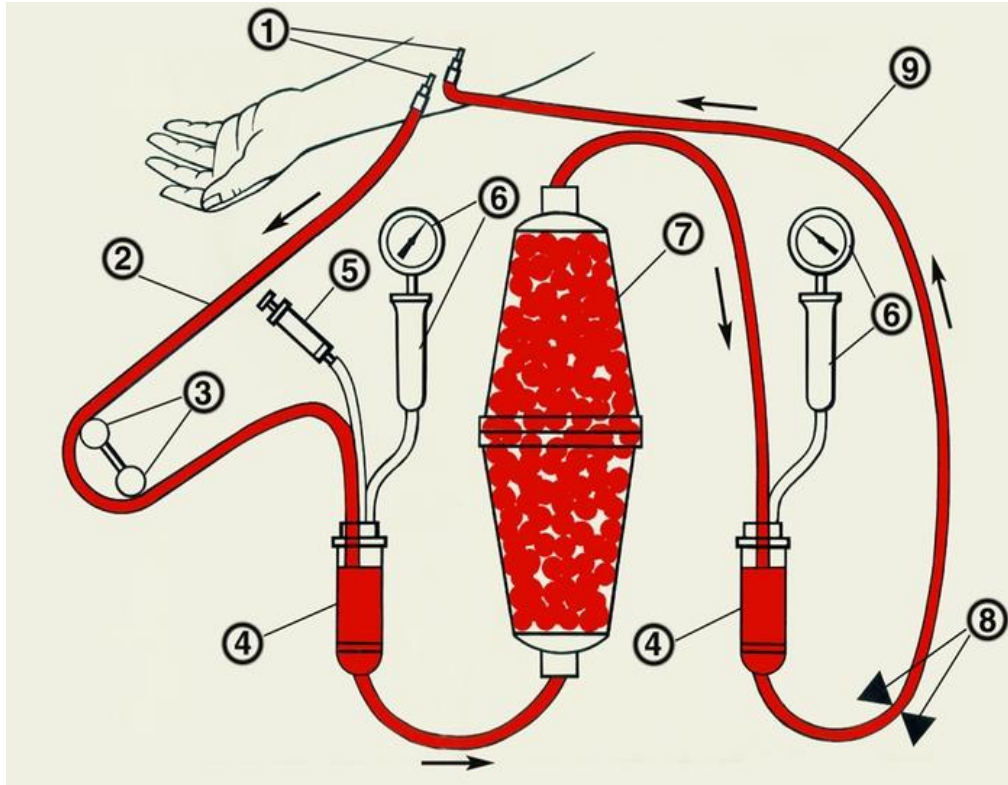
# ΧΡΟΜΑΤΟΓΡΑΦ



# Литература

- ▶ Учебник «**Физическая и коллоидная химия**» /Беляев А.П., Кучук В.И., Евстратова К.И. и др. / Под ред. А.П. Беляева/
- ▶ Учебник «Химия, Основы химии живого» / Слесарев В.И., 2007./
- ▶ <https://pixshark.com/paper-chromatography-black-ink.htm>

# ГЕМОСОРБЦИЯ

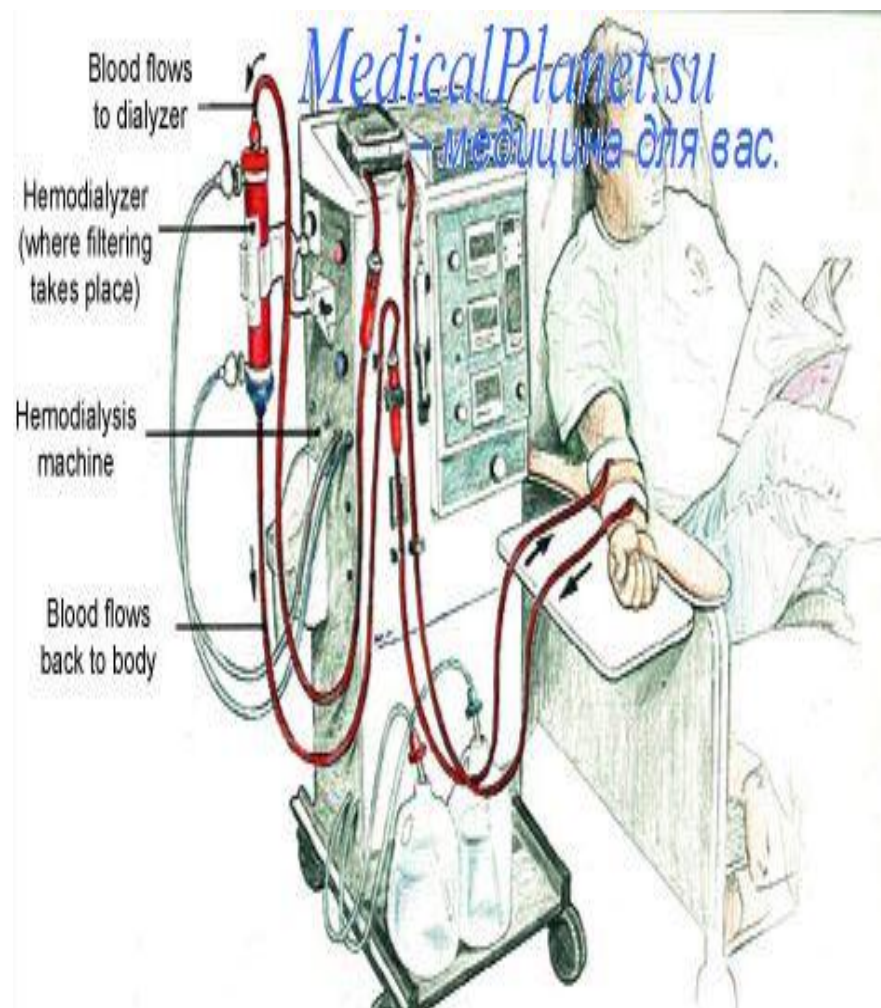


- 1 - катетеры, введенные в сосуды (в вену или в вену и артерию);  
2 — трубчатая магистраль для забора крови;  
3 —насос для прокачивания крови;  
4 — пузырьковые камеры;  
5 —  
устройство для подачи гепарина;  
6 — манометры с делительными камерами, отделяющими их от непосредственного контакта с кровью;  
7 — колонка с сорбентом;  
8 — магнитный клапан для защиты пациента от воздушной эмболии;  
9 — трубчатая магистраль для возврата крови.

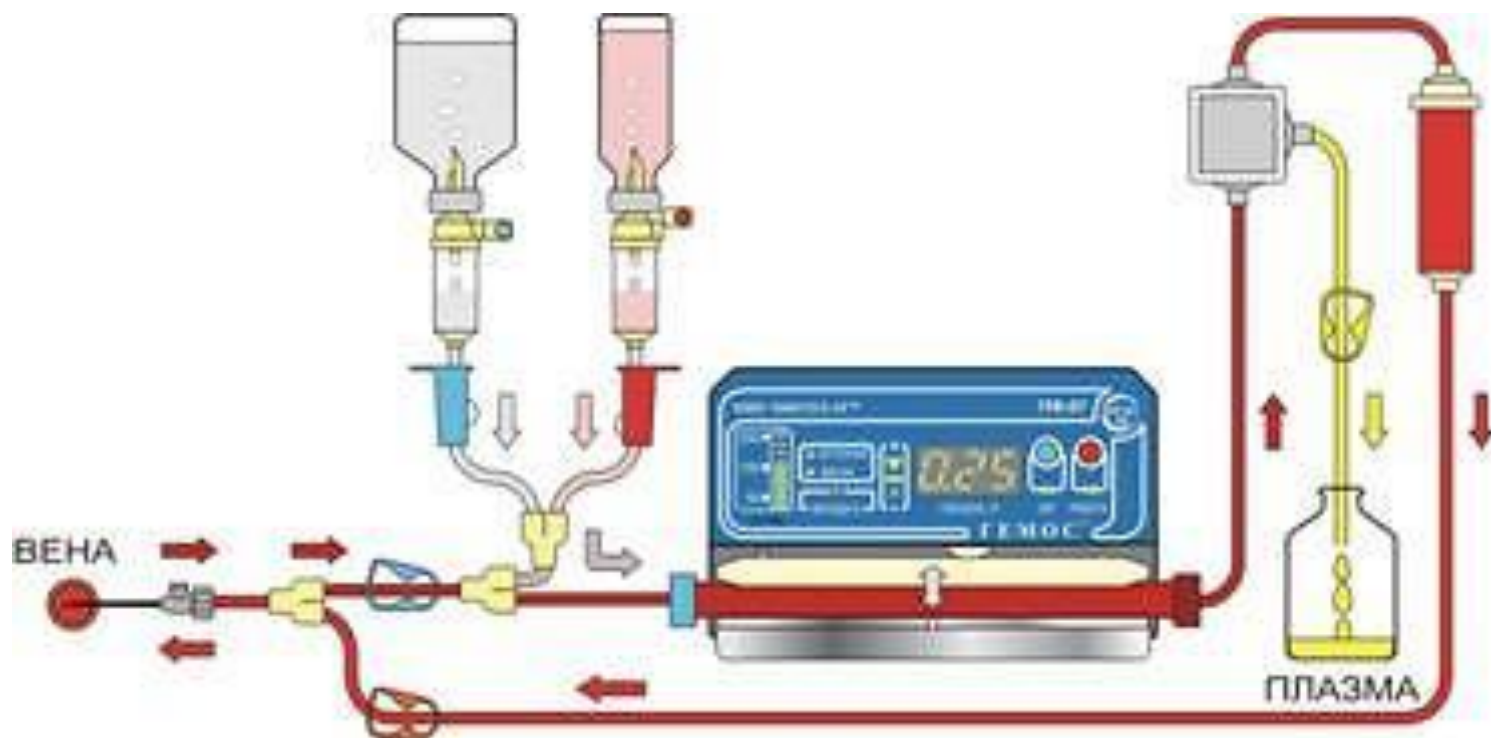
# ЛИМФОСОРБЦИЯ



**Портативный полифункциональный аппарат ГЕМОС-ПФ для эфферентной терапии и детоксикации**



# ПЛАЗМОСОРБЦИЯ



# Благодарю за внимание!

