

Ионообменная хроматография и ее применение

Подготовила:
Соколова Мрия
судентка группы Б-42

Ионообменная хроматография - является более частным вариантом ионной хроматографии, метод, основанный на обратимом стехиометрическом обмене ионов, находящихся в растворе, на ионы, входящие в состав ионообменника.

- * **Катионная ионообменная хроматография** задерживает положительно заряженные катионы, так как неподвижная фаза имеет отрицательно заряженные функциональные группы, например, фосфат (PO_4^{3-}).
- * **Анионная ионообменная хроматография** задерживает отрицательно заряженные анионы, так как неподвижная фаза имеет положительно заряженные функциональные группы, например, $+\text{N}(\text{R})_4$.

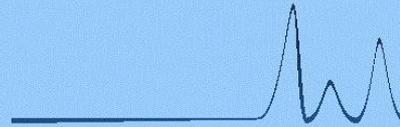
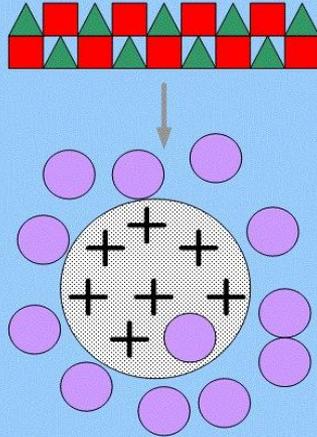
Используется преимущественно для разделения ионов.

Ионит поглощает компоненты смеси и, затем, происходит последовательное элюирование каждого компонента подходящим растворителем. Детекторы ионообменных разделений регистрируют концентрацию анализируемых ионов в элюате в присутствии ионов элюэнта.

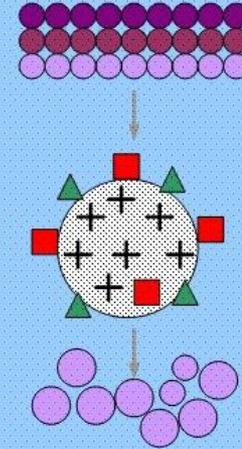
- * элюирование - подача подвижной фазы, происходит специфическое связывание лигандом требуемого компонента;
- * элюат - поток жидкости, проходящий слой неподвижной фазы (сорбента);
- * элюэнт - неподвижная фаза.

Принцип обмена ионами

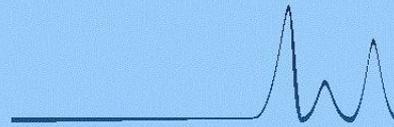
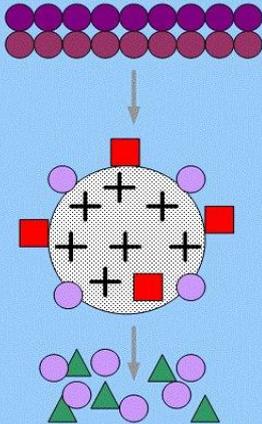
- Шаг 1. Уравновешивание колонны (рН, ионная сила)



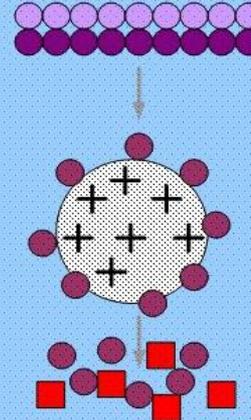
- Шаг 2. Нанесение вещества на колонну



- Шаг 3. Градиентное элюирование и вытеснение (десорбция) слабоудерживаемых компонентов



- Шаг 4. Градиентное элюирование и вытеснение (десорбция) остальных компонентов



- * синтетические полимеры (чаще всего на основе полистирола и полифенолов)
- * группировки, обуславливающие ионообменные процессы, чаще всего вводят в качестве заместителей в бензольное кольцо мономеров

Выпускаемые промышленностью ионообменные смолы имеют вид небольших полимерных шариков, которые перед использованием нужно замачивать в воде или другом элюенте.

Набухание ионообменной смолы сопровождается увеличением доступности функциональных групп полимера за счёт раздвигания макромолекул молекулами элюента. Степень набухания ионообменной смолы регулируют как длиной макромолекул, так и степенью поперечной сшивки полимерной матрицы.

Кондуктометрический детектор - универсален, реагирует на все ионы в растворе

Детектор состоит из проточной ячейки, в которую подается анализируемый раствор, и устройства регистрации аналитического сигнала. Кондуктометрическая ячейка представляет собой камеру объемом менее 10 мкл, соединенную с двумя электродами из платины, золота или нержавеющей стали. Специализированная конструкция ячейки с электродами из нержавеющей стали предотвращает газообразование, снижая тем самым шум детектора.

Детектор кондуктометрический CD510



Широкий диапазон электронной компенсации (возможность работы в одно и двухколоночном варианте ионной хроматографии). Высокоточная электронная система термостатирования ячейки. Микропроцессорный контроль. Возможность управления всеми параметрами с собственной клавиатуры, а также внешнее управление и экспорт данных через стандартный RS232 порт. Световая и звуковая индикация перегрузок.

Селективные детекторы относятся к устройствам, которые специально сконструированы и ориентированы на количественное обнаружение определённых элементов: серы, азота, галогеносодержащих частиц (хлор, фтор, йод и другие), групп - NO₂.

Хемилюминесцентный детектор на азот (NCD) Аджилент 255 является самым чувствительным детектором азотных соединений. При установке на него дополнительной приставки можно определять нитрозамины. Детектор обнаруживает аммиак, окислы азота, цианистый водород и гидразин.



Определение загрязняющих веществ в воде.

Антропогенное загрязнение питьевой, а также почвенной, грунтовой, дождевой и сточных вод достигало такого уровня, что это оказывает серьезное влияние на здоровье людей в различных регионах мира.

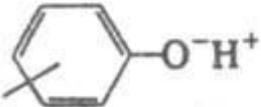
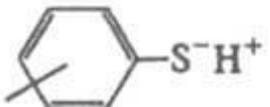
Использование селективных детекторов и их комбинаций с универсальными детекторами относится к наиболее надежному способу идентификации и определения в воде многочисленных металлоорганических соединений (МОС), которые наряду с тяжелыми металлами принято считать приоритетными загрязнителями воды.



Применение

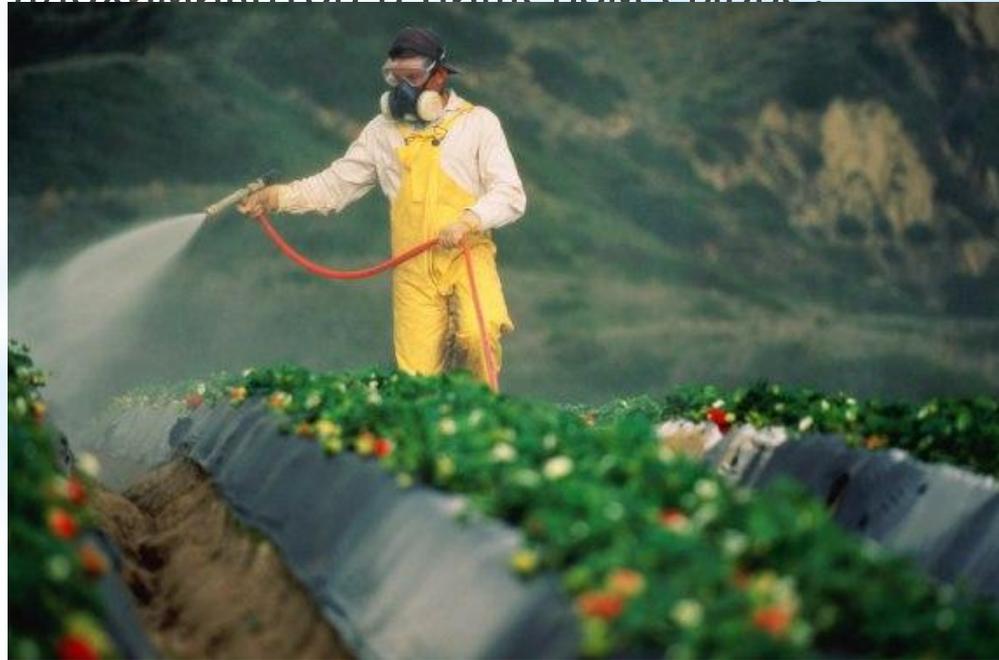
- * Данный вид хроматографии позволяет разделить практически любые заряженные молекулы, в том числе: крупные — белки, малые — молекулы нуклеотидов и аминокислот. Часто ионообменную хроматографию используют как первый этап очистки белков.
- * Ионообменная хроматография применяется для разделения катионов металлов, например, смесей лантаноидов и актиноидов и т.д.
- * 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.

КЛАССИФИКАЦИЯ ИОНООБМЕННЫХ СМОЛ ПО ИОНОГЕННЫМ ГРУППАМ

Катионообменная смола	Ионогенная группа	pK_a	Анионообменная смола	Ионогенная группа	pK_b
Сильнокислотная	SO_3H^+	1-2	Сильноосновные	NR_3OH^+ , $N(R)_2C_2H_4OH$	1-2
Среднекислотная	$-P(O)(R)O^-H^+$	3-5	Средне- и слабоосновные (в зависимости от типа заместителей)	 NH_2 , NHR , NR_2	4-10
Слабокислотная	COO^-H^+	5-7			
	 O^-H^+	10-11			
	 S^-H^+	11			

Ионообменная хроматография на синтетических смолах стала применяться главным образом для выделения и разделения гетероатомных компонентов нефти, в частности при исследовании фенолов, нефтяных кислот, азотистых оснований и т. д. Путем подбора соответствующей смолы в ее анионной или катионной формах удастся более или менее полно отделить один класс соединений от другого, например кислоты от фенолов. Возможности более широкого применения ионообменной хроматографии связаны с приготовлением более стойких смол, способных не изменяться при работе с органическими растворителями.

- * анализ загрязнений воды;
- * для микроколичественного определения пестицидных остатков, микроэлементов в почвах;
- * анализ фосфорных удобрений и микроудобрений на содержание биологически активных ионов-микрокомпонентов;
- * производится определение ядохимикатов в пищевом сырье.



- * Очистка и разделение белков (наряду с аминокислотным анализом) — основные области применения ионообменной хроматографии . 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.

изучение белков сыворотки

- * Фракции сыворотки элюируются различными способами градиентного элюирования и выходят обычно в следующем порядке: IgG (как правило, имеет несколько пиков), γ -, α -глобулины и затем альбумин. Этот метод особенно эффективен для приготовления препаратов IgG высокой иммунохимической чистоты из нативной сыворотки.

исследование гидролизатов нуклеиновых кислот

- * Позволяет выделять все присутствующие в них простые нуклеотиды.
- * Применение ионообменной хроматографии для разделения компонентов гидролизата дрожжевой РНК позволило однозначно определить положение фосфорильных остатков в этих нуклеотидах.

- * Высокоэффективная ионообменная хроматография (колонки, упакованные сорбентом с размером зерен 5-10 мкм, давление для прокачивания элюента до 107 Па) смесей нуклеотидов, нуклеозидов, пуриновых и пиримидиновых оснований и их метаболитов в биологических жидкостях (плазма крови, моча, лимфа и др.) 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 используют для выделения алкалоидов, антибиотиков, ферментов, для переработки продуктов ядерных превращений.

Спасибо за внимание