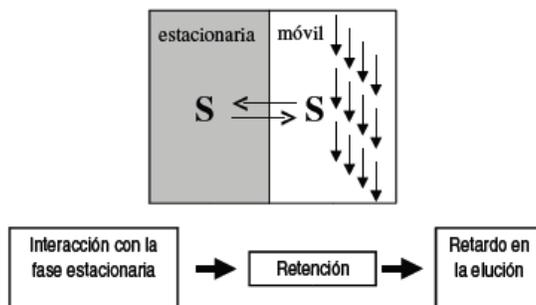


Introducción

⇒ **CROMATOGRAFÍA**: Separación de los componentes de una mezcla disuelta en una “fase móvil” y al ser desplazados por ésta a través de una “fase estacionaria”

Fase estacionaria → lecho cromatográfico
Fase móvil → eluyente



⇒ **Tipos de cromatografía**

⇒ Según el estado físico del eluyente

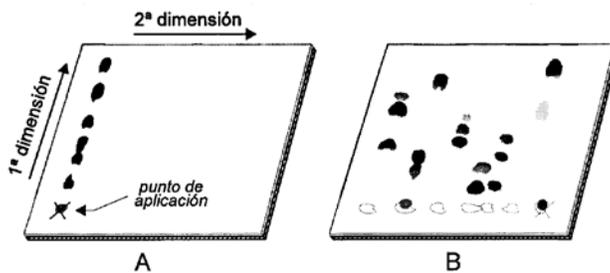
- ⇒ Cromatografía de gases
- ⇒ Cromatografía de líquidos

⇒ Según el estado físico del lecho

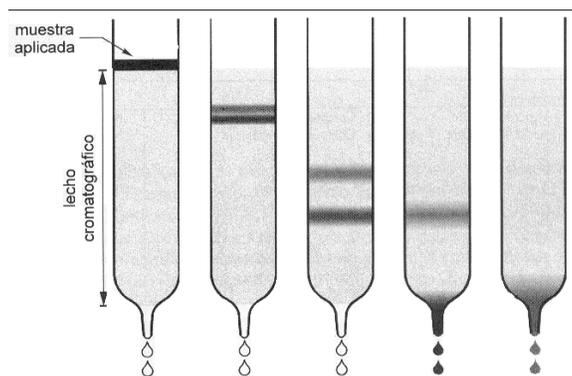
- ⇒ Líquido - Líquido
- ⇒ Sólido - Líquido

⇒ Según las características del lecho cromatográfico

- ⇒ Abierto: en papel, en capa fina



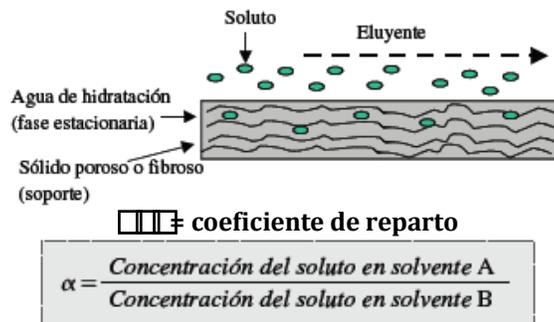
⇒ Cerrado: en columna



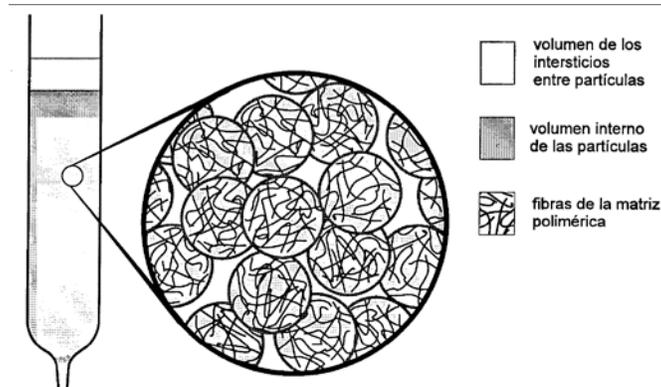
- ⇒ **Según la presión del eluyente**
 - ⇒ Baja presión
 - ⇒ Alta presión
- ⇒ **Según la composición del eluyente**
 - ⇒ Isocrática
 - ⇒ De gradiente
- ⇒ **Según la polaridad de la fase estacionaria**
 - ⇒ Fase normal
 - ⇒ Fase reversa
- ⇒ **Según el mecanismo de retención**
 - ⇒ De reparto
 - ⇒ De filtración en gel o de exclusión molecular
 - ⇒ De adsorción
 - ⇒ De intercambio iónico
 - ⇒ De afinidad

Mecanismos de Retención

- ⇒ Cromatografía de reparto
 - ⇒ Lecho líquido polar
 - ⇒ Eluyente líquido apolar (hidrofóbico)



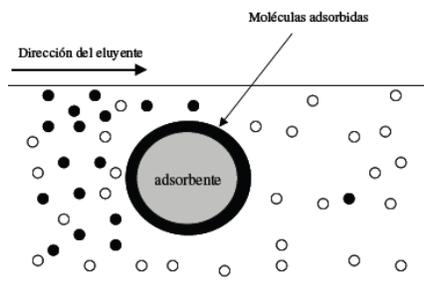
- ⇒ Cromatografía de exclusión molecular (filtración en gel)
 - ⇒ Retención dependiendo de la relación tamaño molecularporosidad del gel
 - ⇒ Parámetros importantes:
 - ⇒ Volumen de exclusión, V_0
 - ⇒ Volumen total de eluyente, V_t
 - ⇒ Volumen de elución, V_e
 - ⇒ Coeficiente de reparto $K'_d = \frac{V_e - V_0}{V_t - V_0}$



Gel	Tipo de polímero	Tamaño de poro
Sephadex G-25	Dextrano	2.500
Biogel P-60	Poliacrilamida	30.000
Sepharose 6B	Agarosa	2.000.000

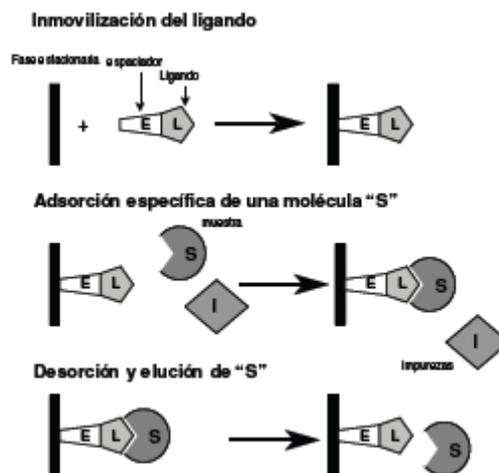
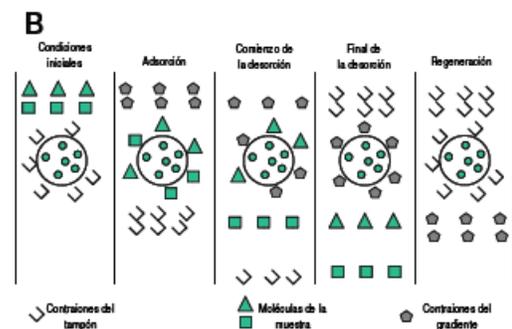
⇒ Cromatografía de adsorción

- ⇒ Interacciones reversibles específicas entre soluto y fase estacionaria
- ⇒ Materiales adsorbentes: óxidos de aluminio, silicatos, carbón activo, polisacáridos...



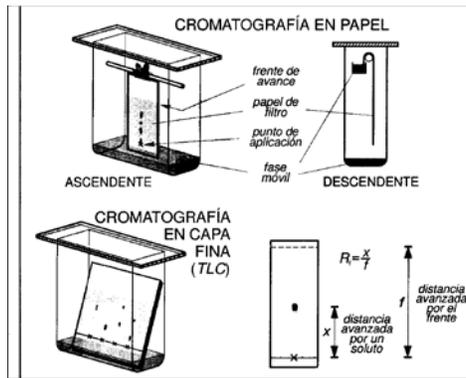
⇒ Cromatografía de intercambio iónico

- ⇒ Interacción de moléculas ionizadas con una matriz cargada
- ⇒ Gel cargado negativamente → intercambio catiónico
- ⇒ Gel cargado positivamente → intercambio aniónico

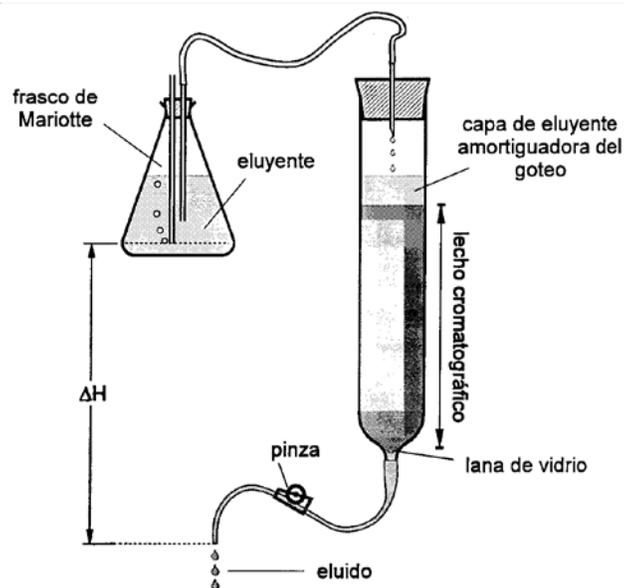


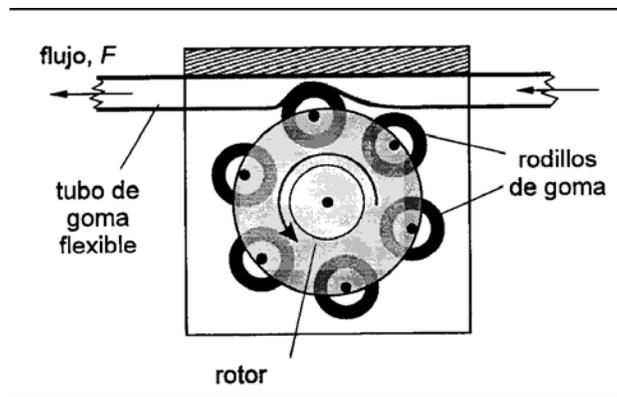
- ⇒ Cromatografía de afinidad
 - ⇒ Interacción específica y reversible con ligandos inmovilizados en la fase estacionaria
 - ⇒ Purificación de enzimas y anticuerpos

- ⇒ Cromatografía en papel y en capa fina
 - ⇒ Cromatografía de reparto
 - ⇒ Coeficientes de reparto "a" y de retención "Rf" característicos para cada soluto en unas condiciones dadas
 - ⇒ Detección: precisa reacciones específicas de tinción (ninhidrina en aminoácidos, etc)

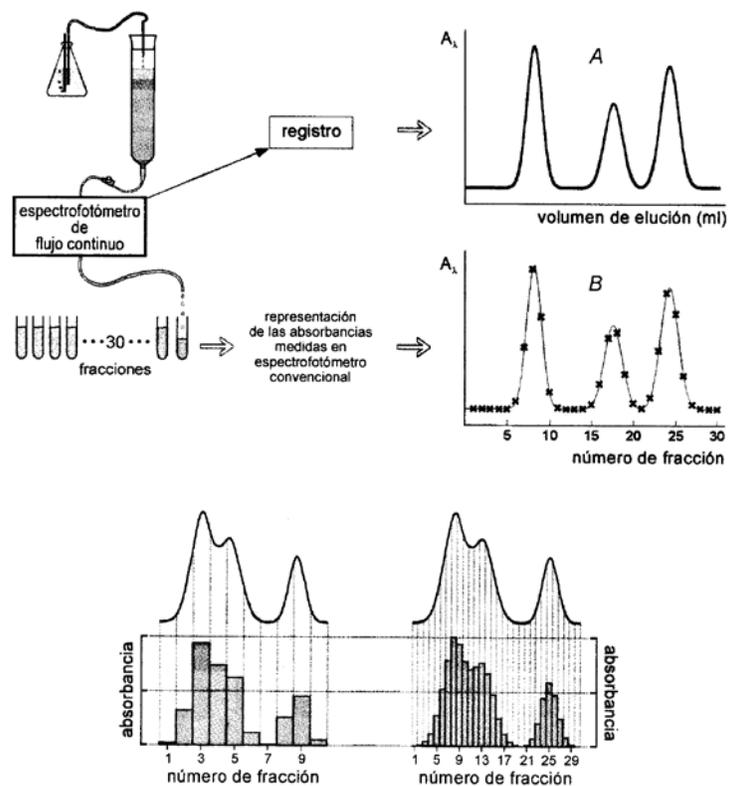


- ⇒ Cromatografía líquida de baja presión
 - ⇒ Elución por gravedad o por bomba peristáltica





Perfiles cromatográficos



Métodos cromatográficos

- ⇒ Cromatografía líquida de alta presión (HPLC)
 - ⇒ Elución por alta presión (hasta 500 atmósferas)
 - ⇒ Alta resolución, rapidez y reproducibilidad
 - ⇒ Purificación de moléculas biológicas de gran variedad de propiedades y tamaños

