

543.5
P19

В.А. Ракс, А.М. Єсауленко

Сучасна Хроматографія на Гребені Хвилі Прогресу



Київ, 2014

В. А. Ракс, А. М. Єсауленко

**Сучасна Хроматографія
на Гребені Хвилі Прогресу**

V. A. Raks, A. N. Esaulenko

**Modern Chromatography
on the Wave Crest of the Progress**

**Київ
2014**

УДК 543.544(075.8)

ББК 24.4я73

P19

Затверджено вченою радою хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка, від 20 вересня 2012 р., протокол № 2.

P19 В. А. Ракс, А. М. Єсауленко

Сучасна Хроматографія на Гребені Хвилі Прогресу. Навчальний посібник. - К. : Аванпост, 2014. - 168 с.

Рецензенти: канд. хім. наук, доцент Лисенко Олена Миколаївна (Київський національний університет імені Тараса Шевченка);
док. хім. наук, ст. наук. спів. Мілюкін Михайло Васильович (Інститут колоїдної хімії та хімії води імені А. В. Думанського НАН України);
док. хім. наук, проф. Чмиленко Федір Олександрович (Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара).

Сучасна високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) - один з ефективних методів аналізу та розділення складних сумішей. Сьогодні ВЕРХ являє собою добре оформлений інструментальний метод, який широко застосовують у найрізноманітніших галузях науки і техніки. Особливо велике його значення в таких найважливіших областях, як біохімія, молекулярна біологія, контроль забруднень навколишнього середовища, а також у хімічній, нафтохімічній, харчовій та фармацевтичній промисловостях. Книга призначена для студентів вищих навчальних закладів хімічних, біологічних, фармацевтичних і хіміко-технологічних факультетів.

ISBN 978-617-502-070-8

© В. А. Ракс, А. М. Єсауленко, 2014

ЗМІСТ

ВСТУП	7
1. Процес розділення, утворення піків,отримання хроматограм	8
1.1. Параметри утримування.....	9
1.1.1. Час утримування.....	10
1.1.2. Фактор утримування.....	10
1.1.3. Висота піка.....	10
1.2. Параметри ефективності колонки.....	11
1.2.1. Висота, еквівалентна теоретичній тарілці, ВЕТТ або H	12
1.2.2. Рівняння Фолея-Дорсея.....	13
1.2.3. Приведена висота, що еквівалентна теоретичній тарілці, ПВЕТТ або H	13
1.3. Параметри симетрії піка.....	13
1.4. Фактор розділення.....	14
1.5. Роздільна здатність хроматографічної колонки. Критерій розділення.....	15
1.6. Умови хорошого розділення.....	15
1.7. Основні рівняння, які описують хроматографічне розділення. Ізотерма адсорбції.....	17
1.8. Фазове співвідношення.....	18
1.9. Рівняння Губера і Нокса.....	19
1.10. Контрольні запитання.....	19
1.11. Література.....	20
2. Типи утримування в рідинній хроматографії	21
2.1. Нормально-фазовий тип утримування.....	21
2.2. Нормально-фазовий тип утримування в гідрофільній хроматографії.....	24
2.3. Обернено-фазовий тип утримування.....	24
2.4. Іонообмінний тип утримування.....	27
2.5. Лігандообмінний тип утримування.....	30
2.6. Квазі-нормально-фазовий тип утримування.....	31
2.7. Ексклюзивна та іон-ексклюзивна хроматографія.....	33
2.7.1. Принцип гель-проникної/ексклюзивної хроматографії.....	33
2.7.2. Область застосування гель-проникної/ексклюзивної хроматографії.....	36
2.7.3. Застосування гель-проникної/ексклюзивної хроматографії у реальному світі.....	37
2.8. Іон-парні режими хроматографії.....	38
2.9. Міцелярна хроматографія.....	39

2.10. Контрольні запитання.....	39
2.11. Література.....	40
3. Про колонки.....	41
3.1. Причини використання і труднощі нанопотокової РХ/МС (Nanospray LC/MS).....	45
3.2. Геометрія колонок, їх виробництво і правила зберігання.....	46
3.3. Матеріали для упаковки колонок.....	47
3.4. Характеристики зерен, що використовуються в аналітичних колонках для ВЕРХ.....	48
3.5. Найважливіші характеристики фаз у ВЕРХ.....	49
3.6. Взаємозв'язок між розміром зерен фази та тиском в системі.....	52
3.7. Вплив діаметру пор і площі поверхні сорбента на загальні характеристики колонок.....	53
3.8. Характеристика пористих полімерів та інших носіїв.....	54
3.9. Сорбенти неорганічної та органічної природи (Al_2O_3 , ZrO_2 графітовий вуглець).....	55
3.10. Обернено-фазові сорбенти у ВЕРХ.....	55
3.11. Іонообмінні фази.....	60
3.12. Нормальні фази.....	63
3.13. Хіральні фази.....	64
3.14. Перенесення методики.....	64
3.15. Вплив температури елюента на проведення хроматографічного аналізу.....	67
3.16. Контрольні запитання.....	67
3.17. Література.....	68
4. Чутливість і селективність визначення при використанні різних типів детекторів.....	69
4.1. УФ-детектування.....	71
4.1.1. Вибір довжини хвилі.....	73
4.1.2. Поглинання рухомої фази.....	73
4.1.3. Сигнал, шум, точність вимірювання.....	77
4.1.4. Способи покращення точності вимірювання.....	78
4.2. Універсальні детектори.....	81
4.2.1. Рефрактометричний детектор.....	81
4.2.2. Пароутворюючий детектор світлорозсіювання ELSD.....	83
4.3. Флуоресцентне детектування.....	84
4.4. Електрохімічні детектори.....	86

4.5. Контрольні запитання.....	87
4.6. Література.....	88
5. Надкритична флюїдна хроматографія.....	89
5.1. Основні аспекти надкритичної флюїдної хроматографії.....	89
5.2. Апаратура.....	90
5.3. Нерухомі і рухомі фази.....	91
5.4. Детектори.....	91
5.5. Показники ефективності НФХ.....	92
5.6. Застосування надкритичної флюїдної хроматографії.....	93
5.7. Контрольні запитання.....	94
5.8. Література.....	94
6. Хіральна хроматографія.....	95
6.1. 60 хвилин стереохімії.....	95
6.1.1. Енантіомери. Номенклатура Кана-Інгольда-Прелога.....	95
6.1.2. Визначення хірального центру в цукрах.....	97
6.1.3. Визначення конфігурацій хіральних центрів з використанням проекцій Фішера.....	97
6.1.4. Стереосцентри в глюкозі.....	99
6.1.5. Діастереоізомери. Мезо-форми.....	100
6.2. Закономірності хіральної ВЕРХ.....	101
6.3. Основні типи хіральних нерухомих фаз.....	105
6.4. Фази на основі модифікованих полісахаридів (карбаматів та ефірів).....	106
6.5. Фази з прищепленими антибіотиками.....	107
6.6. Фази типу Піркле.....	107
6.7. Фази на основі циклодекстринів.....	108
6.8. Фази на основі афінної взаємодії.....	110
6.9. Фази на основі лігандообмінного механізму розділення.....	112
6.10. Контрольні запитання.....	114
6.11. Література.....	115
7. Вступ до мас-спектрометрії.....	117
7.1. Методи введення проби.....	117
7.2. Способи іонізації при атмосферному тиску.....	119
7.3. Порівняння методів іонізації електронним ударом (ЕУ) та хімічної іонізації при атмосферному тиску (API).....	120
7.4. Іонізація методом електростатичного розпилення (ESI).....	122

7.5. Хімічна іонізація в газовій хромато-мас-спектрометрії.....	123
7.6. Хімічна іонізація при атмосферному тиску (APCI) в РХ.....	124
7.7. Фотохімічна іонізація при атмосферному тиску (APPI).....	124
7.8. Лазерна десорбція-іонізація з матриці (MALDI).....	125
7.9. Висновки.....	126
7.10. Контрольні запитання.....	126
7.11. Література.....	127
8. Мас-спектрометричні детектори для рідинної хроматографії.....	128
8.1. Одноквадрупольні мас-детектори (SQ - Single Quad).....	129
8.2. Триквадрупольні («тандемні») мас-детектори (QQQ).....	133
8.3. Часопролітні мас-детектори (TOF - Time Of Flight).....	135
8.4. Комбіновані (тандемні) квадрупольно-часопролітні мас-детектори (Q-TOF).....	139
8.5. Мас-детектори на основі іонних пасток (Ion Trap - IT).....	143
8.6. Контрольні запитання.....	147
8.7. Література.....	147
9. Рідинні хроматографи фірми Agilent.....	148
9.1. Облаштування і принцип роботи рідинних хроматографів.....	148
9.2. Будова і принцип роботи рідинного хроматографа на прикладі рідинного хроматографа фірми Agilent серії 1200.....	148
9.2.1. Відсік для розчинників.....	149
9.2.2. Дегазатор.....	150
9.2.3. Насос.....	150
9.2.4. Пристрій введення проб.....	153
9.2.5. Термостат колонок.....	155
9.2.6. Детектор.....	157
9.3. Критичні зони хроматографа.....	158
9.4. Контрольні запитання.....	162
9.5. Література.....	162