ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

ლია ბეჟიტაშვილი

ფლავანონის ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში ახალი, ზედაპირულად ფოროვანი სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებული პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

ქიმიის მიმართულება

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიის ბაკალავრის ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელი: ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი, საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი, ფიზიკური და ანალიზური ქიმიის კათედრის სრული პროფესორი ბეჟან ჭანკვეტაძე

თბილისი,

2016 წელი

ანოტაცია

ზედაპირულად ფოროვან გლუვ სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებული პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორებით შევსებული ქრომატოგრაფიული სვეტები ეფექტურობის გაზრდის მიზნით შეიქმნა. ისინი მართლაც გამოირჩევა რიგი უპირატესობებით სრულად ფოროვანი სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებულ სტაციონალურ ფაზებთან შედარებით.

თავდაპირველად ამ აზრს სკეპტიკურად უყურებდნენ, მაგრამ დღეისათვის ზედაპირულად ფოროვანი სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებული სელექტორები აღიარეს როგორც საუკეთესო მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში. ეს დამტკიცდა მრავალი კვლევის შედეგად, მათ შორის ეს ნაშრომიც კორშელის ტიპის სვეტების უპირატესობების დემონსტრირებას ემსახურება. ეფექტურობის გაზრდისთვის საჭირო იყო სვეტში მასის გადატანის კინეტიკის გაუმჯობესება, რაც საანალიზო მოლეკულების გასავლელი გზის შემცირებით(დიფუზიის გზის შემცირებით) მოხერხდებოდა. კორშელის ტიპის სვეტებზე, ნაწილაკთა სტრუქტურის თავისებურებიდან გამომდინარე, ეს ამოცანა შესრულდა.

ნაშრომში მოტანილი ექსპერიმენტული მასალა ამტკიცებს ზედაპირულად ფოროვანი გლუვი სილიკაგელის და პოლისაქარიდული სელექტორების კომბინაციის ეფექტურობას. თეორიული თეფშების რიცხვი უახლოვდება 200 000 ერთეულს ერთ მეტრზე გაანგარიშებით. თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლის დაყვანილი მნიშვნელობა კი დაახლოვებით 1.4-ია, რაც რეკორდულად მცირეა დღემდე გამოქვეყნებული შედეგების მიხედვით. მისი შემცირება გამოწვეულია ვან-დეემტერის განტოლებაში სამივე კოეფიციენტის შემცირებით, ეს უკანასკნელი კი იმით არის გამოწვეული, რომ კორშელის ტიპის სვეტებში ნაწილაკებს ფორები აქვთ მხოლოდ ზედაპირზე, და არა მთლიანობაში.

Summary

The rationale behind concept of superficially porous particles was to improve column afficiancy. Core-shell columns have some advantages compearing with fully porous particles.

Initially this fact caused certain skepticism, but nowadays is well-known and well-documented that core-shell columns are really the best for separating enantiomers in HPLC. In this study the advantages of superficially porouse particles in HPLC is demonstrated.
Improvement of mass transfer kinetics depends on shortening the pathways that analyte molecules must travel, because higher column afficiency require short diffusion paths of analyte molecules in columns.

In the present study the separation performance of chiral stationary phases(CSPs) made of polysaccharide-based chiral selectors coated onto superficially porous silica supports were evaluted. Extraordinary high column performance reaching 200 000 plates per meter was observed. Reduced height of equivalent theoretical plates(HETP) are less for core-shell columns. In this study is demonstrated extremally low reduced H (h), which is about 1.4. Reason of this result is specific structure of core-shell particles. Pores are only on shell, not inside the particle, so this is reason of decreasing Van-Deemter coefficients, A,B and C.

შინაარსი

ანოტაცია.....2

1. შესავალი.....5

2. თეორიული ნაწილი

2.1 ქრომატოგრაფიის ზოგადი მიმოხილვა.....6

2.2 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია.....7

2.3 ძირითადი ცნებები მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში.....8

2.4 ვან-დეემტერის განტოლება. პიკის გაფართოების მიზეზები.....10

2.5 პოლისაქარიდების ნაწარმების გამოყენება მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგ-რაფიაში.....12

2.6 ახალი, კორშელის ტიპის სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებული პოლისაქარიდ-ული ქირალური სტაციონალური ფაზები.....13

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 ექსპერიმენტში გამოყენებული მასალები და აპარატურა.....14

3.2 სამუშაოს მიზნები:.....16

3.3 სამუშაოს მსვლელობის პირობები.....17

4. ანალიზის შედეგები და განსჯა.....17

5. დასკვნები.....23

6. გამოყენებული ლიტერატურა.....24

შესავალი

ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა თანამედროვე ქიმიაში აქტუალურ საკითხს წარმოადგენს. ეს იმ ფაქტითაა გამოწვეული, რომ ხშირ შემთხვევაში ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერებს მკვეთრად განსხვავებული ფიზიოლოგიური მოქმედება ახასიათებთ, შესაბამისად საჭიროა ასეთი ნივთიერებების ენანტიომერული სისუფთავის შემოწმება ან მათი ცალკეული სახით მიღება ანუ მათი დაყოფა. რატომ ექცევა ასეთი დიდი ყურადღება ქირალური ბუნების ნივთიერებებს?! იმიტომ, რომ ისინი გვხვდება ყოველდღიურ ცხოვრებაში სამკურნალწამლო საშუალებათა, საკვების დანამატების, სასოფლო სამეურნეო შხამქიმიკაკეტების და ა.შ სხვა გამოყენებადი პროდუქტების სახით.

ენანტიომერებს აქვთ ერთნაირი ქიმიური შედგენილობა, იდენტური ქიმიური და ფიზიკური თვისებები, ისინი განსხვავდებიან მხოლოდ ქირალური ცენტრის კონფიგურაციით, ანუ მის გარშემო ჩამნაცვლებლების განსხვავებული მდებარეობით სივრცეში, რაც გამოიხატება პოლარიზებული სინათლის სხივის სიბრტყის მობრუნების სხვადასხვა მხარით (მარჯვენა ან მარცხენა მხარეს გარკვეული კუთხით). ხშირ შემთხვევაში ქირალური ნივთიერების ერთ ენანტიომერს აქვს დადებითი ხოლო მეორეს უაროფითი ბიოლოგიური მოქმედება ცოცხალი ორგანიზმზე. შესაბამისად, მათი დაყოფა ერთგვარი აუცილებლობაა. ამის მიღწევა აქირალურ გარემოში შეუძლებელია, ქირალურში კი შესაძლებელი. ენატიომერების დაყოფისთვის იყენებენ ქრომატოგრაფიულ (ინსტრუმენტულ) მეთოდებს, ძირითადად მაღალ ეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიას, ქირალურ გარემოს პოლისაქარიდების საფუძველზე მომზადებული ქირალური სორბენტები წარმოადგენს. მუშაობა შეიძლება როგორც პირდაპირ ისე შებრუნებულფაზიან რეჟიმებში. მოძრავ ფაზას წარმოადგენს სხვადასხვა გამხსნელები და მათი ნარევები.

საკითხის აქტუალობიდან გამომდინარე მნიშვნელოვანია ენანტიომერების დაყოფის ახალი მეთოდების შემუშავება და არსებული მეთოდების გაუმჯობესება. ამის საუკეთესო მაგალითია ახალი ტიპის ქრომატოგრაფიული სვეტები, რომლებშიც სტანდარტული სვეტებისგან განსხვავებით ჩატვირთულია არა სრულად ფოროვან, არამედ ზედაპირულად ფოროვან გლუვ სილიკაგელზე დაფენილი პოლისაქარიდული სელექტორი ე.წ “core-shell” ტიპის მასალა.

2. თეორიული ნაწილი

2.1 ქრომატოგრაფიის ზოგადი მიმოხილვა

ქრომატოგრაფია (ბერძნულად χρῶμα-ფერი, γράφειν -აღწერა, ჩაწერა) არის ქიმიური ნივთიერებების ნარევთა დაყოფის ხერხი, რომელიც ემყარება საანალიზო ნივთიერებების არათანაბარ განაწილებას ორ, მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის. ნივთიერებათა ნარევები გახსნილია სითხეში, ან აირში და ხდება ნარევის გატარება სტრუქტურირებულ მასალაზე, რომელსაც უძრავი ფაზა ეწოდება, ნარევის უძრავ ფაზაზე გასატარებლად იყენებენ სითხეს, აირს, ან ზეკრიტიკული წნევების მქონე სითხეებს, შესაბამისად გამოყოფენ სითხურ, გაზურ (აირად) და ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიას. აპარატურული გაფორმებისა და გამოყენებული უძრავი ფაზების ბუნების მიხედვით, თხევადი ქრომატოგრაფიული პროცესების კლასიფიკაცია შეიძლება შემდეგნაირად მოვახდინოთ: ერთის მხრივ პლანარული, რომელიც მოიცავს თხელფენოვან ქრომატოგრაფიას და ქრომატოგრაფიას ქაღალდზე, ხოლო მეორეს მხრივ სვეტური ქრომატოგრაფია, რომელიც მოიცავს ადსორბციულ, აფინურს, თხევად-თხევად, იონმიმოცვლით და გელ-ქრომატოგრაფიას. [ლიტ.1]

ნარევის შემადგენელი სხვადასხვა კომპონენტები სხვადასხვაგვარად ნაწილდებიან მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის, ამის გამო სხვადასხვა სიჩქარით მოძრაობენ ქრომატოგრაფიულ სვეტში, შესაბამისად აქვთ განსვავებული შეკავების დროები, ანუ ელუირდებიან გარკვეული თანმიმდევრობით. ესაა ქრომატოგრაფიული დაყოფის პრინციპი. ექსპერიმენტები ტარდება როგორც პრეპარატული, ისე ანალიზური მასშტაბებით. პრეპარატული მეთოდის მიზანია დაყოფილი ნივთიერების გასუფთავება-შეგროვება შემდგომი გამოყენების მიზნით, ხოლო ანალიზური მეთოდის მიზანს ძირითადად ნიმუშის რაოდენობრივი შედგენილობის დადგენა წარმოადგენს.

ქრომატოგრაფიას საფუძველი XX საუკუნეში ჩაეყარა, მიხეილ ცვეტის მიერ 1900 წელს ჩატარებული ექსპერიმენტის შემდეგ. მეცნიერის მიზანი იყო ფოთლის ექსტრაქტიდან პიგმენტების - ქლოროფილის, კაროტენების და ქსანტოფილების დაყოფა. რამდენადაც ამ პიგმენტებს სხვადასხვა შეფერილობა გააჩნიათ (მწვანე, ნარინჯისფერი და ყვითელი, შესაბამისად), ცვეტმა მეთოდს ქრომატოგრაფია უწოდა (*ბერძ.* „ქრომა“- ფერი, „გრაფოს“ - ჩაწერა). [ლიტ.1]

XX საუკუნის მეორე ნახევარში სხვადასხვა მეცნიერების შრომებმა საფუძველი ჩაუყარა გაზურ, ქაღალდის და სითხურ ქრომატოგრაფიის მეთოდებს, ეს უკანასკნელი განვითარდა როგორც მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (HPLC). ცვეტის ექსპერიმენტის შესწავლამ ცხადყო, რომ მიგნებული ქრომატოგრაფიული პრინციპების

გამოყენება მრავალნაირად შეიძლებოდა, დღესდღეისობით ზოგად ტექნოლოგიურ პროგრესთან ერთად ქრომატოგრაფიული მეთოდები და აპარატურა ძალზე მრავალფეროვანი გახდა.

2.2 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია .

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია ორგანულ ნივთიერებათა დაყოფის და მათი განსაზღვრის მიზნით ყველაზე მისაღები მეთოდია. ქირალური მოლეკულების ენანტიომერების დაყოფა აქირალურ გარემოში (აქირალურ სვეტზე) შეუძლებელია მათი იდენტურობის გამო, მაგრამ ქირალურ სვეტზე ენანტიომერების დაყოფა პრინციპულად შესაძლებელია. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია უზრუნველყოფს ანალიზის ჩატარებას ოთახის ტემპერატურაზე, რაც მეტად მნშვნელოვანია თერმოლაბილური და არააქროლადი ორგანული ნივთიერებებისთვის. [ლიტ.2]

ქრომატოგრაფიული ანალიზის ჩასატარებლად იყენებენ სპეციალურ ხელსაწყოს, მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფს. პრინციპი, როგორც ზემოთ ავღნიშნეთ, იმაში მდგომარეობს, რომ ნარევის კომპონენტებს აქვთ განსხვავებული შეკავების და შესაბამისად განსხვავებული ელუირების დროები. ეს გამოწვეულია მათი განსხვავებული განაწილებით ორ ერთმანეთში შეურევად ფაზას შორის, რომელთაგან ერთი მოძრავია მეორე კი უძრავი. ეს პირობა აუცილებლად უნდა შესრულდეს, მოძრავ და უძრავ ფაზებს უნდა ჰქონდეთ განსხვავებული ბუნება და არ უნდა ჰქონდეს ადგილი ქიმიურ ურთიერთქმედებას ფაზებს შორის. სვეტში რომ მოხდეს კომპონენტების გადაადგილება, საჭიროა მოძრავი ფაზის უწყვეტი მიწოდება. ის კომპონენტები, რომლებიც უფრო მეტად განაწილდება მოძრავ ფაზაში მალე ელუირდება სვეტიდან, ხოლო კომპონენტები რომლებიც უფრო მეტად განაწილდება სტაციონალურ ფაზაში, შედარებით გვიან ელუირდება სვეტიდან.

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი შედგება ხუთი ძირითადი ნაწილისგან: 1) ტუმბო 2) ინჯექტორი 3) სვეტების თერმოსტატი 4) დეტექტორი 5) მონაცემების ჩამწერი ხელსაწყო (კომპიუტერი). თითოეულ ამ ბლოკს აქვს თავისი დანიშნულება: ტუმბო უზრუნველყოფს მოძრაფი ფაზის ნაკადის არსებობას სისტემაში გარკვეული სიჩქარით, ინჯექტორიდან ხდება ნიმუშის შეყვანა სვეტში ანუ ინჯექტირება, თერმოსტატი არის ბლოკი, რომელშიც მოთავსებულია ქრომატოგრაფიული სვეტი მუდმივ ტემპერატურაზე, ხოლო დეტექტორი უზრუნველყოფს ანალიზური სიგნალის დაფიქსირებას და მის გაზომვას. საბოლოო შედეგი კომპიუტერის საშუალებით ჩაიწერება გაუსის მრუდის სახით. აბსცისათა ღერძზე გადაზომილია დრო, ხოლო ორდინატთა ღერძზე სიგნალის ინტენსივობა. ამგვარად

ჩაწერილ მონაცემის სურათს ეწოდება ქრომატოგრამა. მაშასადე, ქრომატოგრამა არის გაზომილი სიგნალის ინტენსივობის დროზე დამოკიდებულების გრაფიკი. მიღებული პიკის რეგისტრაციის დროითა და ფართობით შეგვიძლია მოვახდინოთ ნივთიერებათა იდენტიფიკაცია და მათი კონცენტრაციების შეფასება. მაშასადამე, მოცემული ინსტრუმენტული მეთოდი გვაძლევს საშუალებას ჩავატაროთ როგორც თვისობრივი ასევე რაოდენობრივი ანალიზი. ქრომატოგრამაზე შეკავების დროის ზრდის მიხედვით პიკები ნაწილდება მარცხნიდან მარჯვნივ, ე.ი პირველი პიკი შეესაბამება კომპონენტს, რომელიც ყველაზე პირველი ელუირდა სვეტიდან, ხოლო ყველაზე ბოლო მას, რომელიც სულ ბოლოს, ყველაზე გვიან ელუირდა.

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია, როგორც ანალიზის მეთოდი გამოიყენება მრავალ დარგში. სამკურნალწამლო საშუალებათა უმრავლესობა ქირალური ბუნების არის, ამის გამო ბაზარზე გატანამდე უნდა იქნას შემოწმებული და საფუძვლიანად შესწავლილი. საჭიროების შემთხვევაში უნდა მოხდეს ქირალური ბუნების სამკურნალწამლო საშუალების ენანტიომერების დაყოფა და მავნე ზემოქმედების ენანტიომერის მოცილება. ბოლო დროს ენანტიომერულად სუფთა პრეპარატების დამზადება ტენდენციური გახდა. ანალიზის მოცემული მეთოდი აქტუალურია კვების მრეწველობაში, სხვადასხა ქიმიურ კვლევებში, სასოფლო-სამეუნეო შხამქიმიკატების წარმოებაში და ა.შ.

2.3 ძირითადი ცნებები მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში

ნიმუში - საანალიზო ნივთიერება, უფრო ხშირად ნივთიერებათა ნარევი.

უძრავი (სტაციონალური) ფაზა - ეს არის განსაზღვრული შედგენილობის და სტრუქტურის ადსორბციული უნარის მქონე მასალა. მასზე ხდება საანალიზო ნივთიერების კომპონენტების შეკავება განსხვავებული დროით. (უფრო ვრცლად უძრავი ფაზების შესახებ მომდევნო თავებში იქნება განხილული)

მოძრავი ფაზა (ელუენტი) - არის ორგანული, არაორგანული გამხსნელი ან მათი ნარევი. მოძრავი ფაზის მიწოდება ხდება უწყვეტად ქრომატოგრაფიული ანალიზის პროცესის განმავლობაში. ის აიძულებს კომპონენტებს გადაადგილდნენ სისტემაში ინიცირების მომენტიდან. მოძრავი ფაზა პოლარული ან არაპოლარული ბუნებისაა და ეს დამოკიდებულია იმაზე თუ რა ამოცანა აქვს მკვლევარს შესასრულებელი.

შეკავების დრო t_R – არის დროის მონაკვეთი ნიმუშის სვეტში შეყვანის მომენტიდან დეტექტორში გავლის ჩათვლით. ქრომატოგრამაზე მას შეესაბამება პიკის მაქსიმუმის მართობი აბსცისათა ღერძზე. საანალიზო ნივთიერების ყველა კომპონენტს აქვს სხვადასხვა

შეკავების დრო, რომელიც არაა დამოკიდებული ნიმუშის რაოდენობაზე, სამაგიეროდ t_R მოძრავი ფაზის წრფივი სიჩქარის ფუნქციაა, იგი სვეტის სიგრძეზეა დამოკიდებული.[ლიტ.2] მისი გამოთვლა შეიძლება ფორმულით:

$t_R = t_0 + t_R'$ [განტ.1]

სადაც t_0 არის არააადსორბირებადი კომპონენტის ელუირების დრო;

t_R' არის სტაციონალურ ფაზაზე ყოფნის დრო კომოპონენტისთვის.

შეკავების მოცულობა V_R - შეკავების ზოგადი პარამეტრია, ის მოძრავი ფაზის მილილიტრების რიცხვია, რომელიც უნდა გავატაროთ სვეტში, რათა ნიმუში ელუირდეს. იგი გამოითვლება ფორმულით:

$V_R = F\, t_R$ [განტ.2]

სადაც **F**- მოძრავი ფაზის მოცულობითი სიჩქარეა [მლ/წთ]. სითხეების არაკუმშვადობის გამო **F=v** სადაც **v** მოძრავი ფაზის ხაზოვანი სიჩქარეა.[ლიტ.2]

სვეტის მკვდარი მოცულობა V_M – არის სვეტში მოძრავი ფაზის საერთო მოცულობა დეტექტორის ფანჯრის (კიუვეტის მოცულობის) ჩათვლით .[ლიტ.2]

$V_M = t_0\, F$ [განტ.3]

შეეკავების ფაქტორი k – არის შეკავების ძირითადი პარამეტრი და უფრო მისაღებია ნივთიერების დახასიათება მის მიხედვით, რადგან ის არაა დამოკიდებული მოძრავი ფაზის სიჩქარეზე და სვეტის სიგრძეზე. თუ მოძრავი ფაზა ნელა გადაადგილდება ან სვეტი გრძელია მაშინ ერთნაირად იზრდება t_0 და შესაბამისად t_R -იც.

$k = (t_R - t_0)/t_0$ [განტ.4]

სხვაგვარად რომ ვთქავთ, k წარმოადგენს ნივთიერების მოლური კონცენტრაციების ფარდობას სტაციონალურ და მოძრავ ფაზებში. სასურველია პარამეტრი k იყოს 1÷5 შუალედში, თუ $k<1$ ნიშნავს, რომ ნიმუშმა სვეტი ძალიან მალე გაიარა ანუ არ შეკავდა სტაციონალურ ფაზაზე, ხოლო თუ $k>5$ ნიშნავს, რომ ანალიზს სჭირდება დიდი დრო, რაც კომერციული და სხვა ფაქტორების თვალსაზრისით არაა სასურველი. თუ ადსორბენტი წვრილფოროვანია მაშინ k-ს აქვს დიდი მნიშვნელობა, ნაკლებად ფოროვან და უფორო ადსორბენტებზე k მცირეა.[ლიტ.2]

დაყოფის ფაქტორი ანუ სელექტიურობა α - შეკავების ფაქტორების ფარდობაა, შესაბამისად თუ კომპონენტებს აქვთ ერთნაირი k-ს მნიშვნელობა ისინი ვერ დაიყოფა.

$\alpha = k_2/k_1$ [განტ.5]

სადაც $k_2>k_1$ თუ $\alpha=1$, ნიშნავს რომ ნარევი არ დაიყო. α-ზე გავლენას ახდენს სტაციონალური და მოძრავი ფაზები, მათი ცვლილებით α იცვლება.

გარჩევითობა Rs - არის პარამეტრი, რომელიც გვიჩვენებს ორი მეზობელი პიკის გარჩევის,

გამიჯვნის დონეს. ის გამოითვლება მეზობელი პიკების მაქსიმუმებს შორის მანძილის ფარდობით პიკების სიგანეების ჯამთან:

$R_s=2(t_{R2}- t_{R1})/(W_1+W_2)$ [განტ.6]

ან **$R_s=1.18(t_{R2}- t_{R1})/(W(1/2)_1+W(1/2)_2)$** [განტ.7]

სადაც **W** არის პიკის სიგანე ფუძესთან ხოლო **W(1/2)** არის პიკის სიგანე პიკის ნახევარ სიგანეზე. თუ $R_s=1.25$ მაშინ დაყოფა სრულია, თუ $R_s>1.5$ ნიშნავს, რომ ანალიზს სჭირდება დიდი დრო. ხოლო თუ $R_s<1.25$ ნიშნავს, რომ პიკები ან არ დაიყო საერთოდ ან დაიყო ნაწილობრივ(არაფუძისეულად).[ლიტ.2]

თეორიული თეფშების რიცხვი N - ამ პარამეტრით ფასდება სვეტის ეფექტურობა. სვეტი არის გარკვეული სიგრძის და დიამეტრის მქონე მეტალის მილი, რომელშიც ჩატვირთულია სტაციონალური ფაზა. ქრომატოგრაფში ის თერმოსტატის ბლოკშია მოთავსებული და სწორედ მისი საშუალებით ხდება დაყოფის პროცესის ჩატარება. ცნება თეორიული თეფში აღებულია გადადენის თეორიიდან. ქრომატოგრაფიული სვეტის მათემატიკური ეკვივალენტი წარმოადგენს სვეტს თეფშებით, რომელთაგან თითოეულზე ხდება კომპონენტის წონასწორული განაწილება თეფშსა და მოძრავ ფაზას შორის. თეორიული თეფშების რიცხვი დამოკიდებულია სვეტის სიგრძეზე. მისი გამოთვლა შეიძლება ორი გზით:

$N=16(t_R/W)^2$ [განტ.8]

ან $N=5.54(t_R/W1/2)^2$ [განტ.9]

N=L/H

სადაც **L** არის სვეტის სიგრძე, **H** არის თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე* (ტექსტში გამოყენებულია შემოკლება *თთეს*)* [ლიტ.2]

თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე H – არის მანძილი, რომელზედაც მიიღწევა ქრომატოგრაფიული წონასწორობა. ის უკუპროპორციულ დამოკიდებულებაშია თეორიული თეფშების რიცხვთან.[ლიტ.2]

H=L/N [განტ.10]

H=A+B/u+Cu (ვან-დეემტერის განტოლება) [განტ.11]

ქრომატოგრამა - საანალიზო ნივთიერების სიგნალის დროზე დამოკიდებულების გრაფიკი.

ქრომატოგრაფი - ხელსაწყო, რომელსაც იყენებენ ნარევთა დაყოფის მიზნით.

2.4 ვან-დეემტერის განტოლება. პიკის გაფართოების მიზეზები.

ქრომატოგრაფიული დაყოფის პროცესის კინეტიკური ანუ სიჩქარის თეორია პირველად დაამუშავა ჯ. ვან-დეემტერმა. მან კინეტიკური მოდელების გამოყენებით გამოიყვანა თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლის გამოსათვლელი განტოლება, რომელიც საბოლოო სახით მოცემულია წინა თავში [განტ.11] ამ განტოლებაში გვაქვს სამი კოეფიციენტი, A,B და C, მათ ვან-დეემტერის კოეფიციენტებს უწოდებენ. **A** არის გრიგალისებური დიფუზიის კოეფიციენტი, ის განპირობებულია იმით, რომ ნიმუშის ზოგიერთი მოლეკულა სვეტს გაივლის სწორხაზოვნად, ზოგი კი გარკვეულ გადახვევებს განიცდის. **B** არის გასწვრივი ანუ გრძივი დიფუზიის კოეფიციენტი, სხვაგვარად რომ ვთქვათ მოძრავ ფაზაში ნიმუშის მოლეკულების დიფუზიის კოეფიციენტი. **C** კოეფიციენტი ასახავს წინააღმდეგობას მასის გადატანის მიმართ. C კოეფიციენტის მნიშვნელობადამოკიდებულია ნაკადის მოცულობით სიჩქარეზე. გარდა ამისა, სტაციონალური ფაზის ნაწილაკების ზომების შემცირებით C კოეფიციენტიც მცირდება. ტემპერატურის გაზრდაც ასევე ამცირებს ამ ეფექტს. საბოლოო ჯამში ეს კოეფიციენტები იწვევენ ქრომატოგრაფიული ზონის გაფართოებას. თუ შევადარებთ განტ.10 და განტ.11-ს დავინახავთ, რომ N და H უკუპროპორციულ დამოკიდებულებაშია ერთმანეთთან, შესაბამისად N-ის გაზრდა ნიშნავს H-ის შემცირებას, რისი მიღწევაც შეიძლება ვან-დეემტერის კოეფიციენტების შემცირებით.[ლიტ.2] A,B და C კოეფიციენტები შემცირდება თუ გაუმჯობესდება მასის გადატანის კინეტიკა, კერძოდ, თუ შემცირდება საანალიზო მოლეკულების მიერ გასავლელი გზის სიგრძე (დიფუზიური გზის მანძილი). ამის მიღწევის საშუალებას გვაძლევს ზედაპირულად ფოროვანი ნაწილაკები, სიღრმეში ფორების არ არსებობის გამო შემცირებულია დიფუზიური გზის მანძილი.

ზოგადად, რაც უფრო ვიწროა ქრომატოგრაფიული პიკი, მით უკეთესია, ეს არა მარტო ანალიზის მცირე დროს, არამედ თეორიული თეფშების მაღალ რიცხვს შეესაბამება (ეს ჩანს განტ.8 და განტ.9-დან.). მაშასადამე, კარგი შედეგები რომ მივიღოთ, ამისათვის უნდა შევამციროთ ვან-დეემტერის განტოლებაში A, B და C კოეფიციენტები. მათი შემცირების შესაბამისად შემცირდება H(თთეს), ანუ გაიზრდება N რაც დაყოფის ეფექტურობის საზომია. ვან-დეემტერის განტოლებაში სიმბოლო u არის ელუენტის წრფივი სიჩქარე [მკმ/წმ]. მას ალგებრულად უკავშირდება B და C კოეფიციენტები, ამათგან უფრო მნიშვნელოვანია C, რადგანაც ის მრავლდება u-ზე. ე.ი თუ სვეტის ეფექტურობის გაზრდა გვინდა უნდა შევამციროთ C და A. B-ს წილი ნაკლებია და მისი შემცირებით H მნიშვნელოვნად არ მცირდება, რადგან განტ.11-ში B იყოფა u-ზე. A კოეფიციენტი შემცირება შეიძლება სტაციონალური ფაზის ერთგვაროვნების ხარისხის გაზრდით. ხოლო თუ შევამცირებით ნაწილაკების ზომებს, ან ფორიანობას, შემცირდება C კოეფიციენტი, ეს უკანასკნელი კი იმას

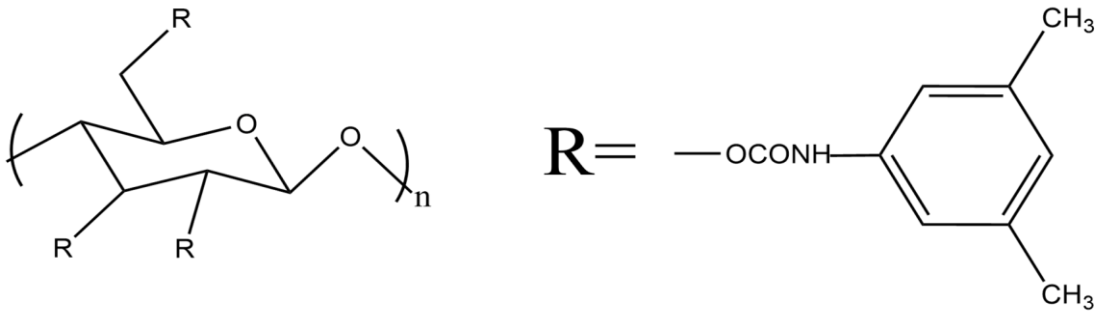
ნიშნავს, რომ მოძრავი ფაზის მაღალ სიჩქარეებზე სვეტის ეფექტურობა მკვეთრად არ შემცირდება.[ლიტ.3][ლიტ.4]

2.5 პოლისაქარიდების ნაწარმების გამოყენება მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში

ცნობილია 100-ზე მეტი ქირალური სელექტორი, მაგრამ ყველაზე გამოყენებადი და კომერციულად ხელმისაწვდომი ქირალური სვეტების უმეტესობაც დამზადებულია პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების გამოყენებით. ეს გამოწვეულია იმით, რომ ამ ტიპის ქირალური სელექტორები აკმაყოფილებენ ძირითად კრიტერიუმებს, რაც აუცილებელია ენანტიომერული დაყოფის შესასრულებლად. ეს კრიტერიუმებია: წარმოქმნას მოლეკულათაშორისი (გარდამავალი) კომპლექსები ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებთან, უნდა ჰქონდეს თვისება, გამოყენებული იქნას უნივერსალურად სხვადასხვა მოძრავ ფაზებში: პოლარულ-ორგანული ფაზები, არაპოლარული-ორგანული, ორგანული ფაზა/წყლის ნარევი და ზეკრიტიკული სითხეები. ასევე უნდა გააჩნდეს მრავალრიცხოვანი განსხვავებული სტრუქტურების მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიოსელექტიური გარჩევის/გამოცნობის უნარი, გამოსადეგი უნდა იყოს მიკრო და ნანო მასშტაბის დაყოფის მეთოდებისთვის, ასევე ანალიზური და პრეპარატული დაყოფებისთვისაც. ქირალური სელექტორის მოსამზადებელი მასალები და რეაგენტები ხელმისაწვდომი უნდა იყოს.[ლიტ.1]

პოლისაქარიდული ტიპის სელექტორებიდან ცნობილია ამილოზას და ცელულოზას ნაწარმები. თვალსაჩინოებისთვის მოვიტანოთ ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილ კარბამატი)-ს სტრუქტურა. [სურ.1]

სურ.1



ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილ კარბამატის) შემთხვევაში იქნებოდა განსხვავება გლიკოზიდურ ბმებში, ანუ თუ ცელულოზას შემთხვევაში ელემენტარული რგოლები β-1,4 ბმებითაა დაკავშირებული, ამილოზაში გვაქვს α-1,4 გლიკოზიდური ბმები. შემოკლებით ამ

სელექტორებს უწოდებენ CDMPC და ADMPC შესაბამისად. რა საკვირველია, არსებობს ამილოზას და ცელულოზას სხვა ნაწარმები, რომლებიც სელექტორებად გამოიყენება. ისინი განსხვავდებიან ერთმანეთისგან ჩამნაცვლებელი ჯგუფებით.

2.6 ახალი, კორშელის ტიპის სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებული პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზები.

1980 იანი წლებიდან ევოლუცია განიცადა პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების სტრუქტურებმა. მათი თავდაპირველი სახე იყო სრულად ფოროვანი. 1970-იანი წლებიდან საფუძველი ჩაეყარა პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების მოდიფიცირებას გაუმჯობესების მიზნით. მეცნიერთა ჯგუფები მუშაობდნენ სრულად ფოროვანი სტრუქტურის სელექტორის ნაცვლად ზედაპირულად ფოროვანის მიღებაზე და გარკვეული დროის შემდეგ მიაღწიეს მიზანს. რა თქმა უნდა ზედაპირულად ფოროვანი სელექტორის პირვანდელი სახე არ იყო დღევანდელის ანალოგიური, მაგრამ ფაქტია რომ 50 წლის წინ მეცნიერებმა ეს შეძლეს. მაშასადამე, სრულად ფოროვანი სტრუქტურის სელექტორი არის ზედაპირულად ფოროვანის წინამორბედი, ხოლო ეს უკანასკნელი კი გაუმჯობესებული ტექნოლოგიაა, რომელიც დღესაც აგრძელებს განვითარებას და უფრო და უფრო აქტუალური ხდება. სახელწოდება ხაზს უსვამს მის აგებულებას, მარტივად რომ წარმოვიდგინოთ ეს არის სილიკაგელის მყარ, ზედაპირულად ფოროვან ბურთულაზე დაფენილი პოლისაქარიდული სელექტორი. მაშასადამე, ფოროვანი ნაწილი ნაწილაკის მხოლოდ ზედაპირის გარკვეულ მოცულობაზეა, ნაწილაკს სიღრმეში ფორები არ აქვს.[ლიტ.3]

იბადება კითხვა, რით ჯობია სრულად ფოროვანი, ე.წ „კორშელის“ („Core-Shell“) ტიპის სელექტორები სრულად ფოროვანს. პასუხი ძალიან მარტივია, მივყვეთ ლოგიკურ მსჯელობას: მთავარი მიზანი არის მოკლე დროში ფუძისეული დაყოფების ჩატარება. თუ ქრომატოგრამაზე მივიღეთ მაღალი და ვიწრო პიკები დროის მცირე მონაკვეთში დაყოფა ითვლება კარგად. თუ ანალიზები ტარდება მოძრავი ფაზის სხვადასხვა, უფრო კონკრეტულად დაბალ და მაღალ სიჩქარეებზე და ამის მიუხედავად მკვეთრად არ მცირდება თეორიული თეფშების რიცხვი, დაყოფა ითვლება იდეალურად. ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე მუშაობა იძლევა იმის საშუალებას, რომ დაყოფის პროცესი უფრო სწრაფად დასრულდეს, რაც ხშირად ძალიან მნიშვნელოვანია. წესით ნაკადის სიჩქარის გაზრდა ამცირებს სვეტის ეფექტურობას, მაგრამ ზედაპირულად ფოროვანი სვეტების შემთხვევაში ეს ეფექტი არაა გამოხატული ისე მძაფრად, როგორც სრულად ფოროვანის შემთხვევაში. ეს გამოწვეულია

იმით, რომ ვან-დეემტერის განტოლებაში სამივე კოეფიციენტი მცირდება ზედაპირულად ფოროვანი სელექტორების გამოყენების შემთხვევაში.

2.4 თავში აღწერილი იყო A,B და C კოეფიციენტების არსებითი მნიშვნელობა. იქვე საუბარი იყო მათი შემცირების აუცილებლობაზე. ზედაპირულად ფოროვანი სელექტორი ქმნის პირობებს, რომელიც ხელს უწყობს ვან-დეემტერის კოეფიციენტების შემცირებას. „კორშელის“ ტიპის სვეტებში ნაწილაკთა ერთგვაროვნების ხარისხი მეტია, ეს იწვევს A კოეფიციენტის შემცირებას. ნაწილაკების სიღრმეში ფორების არ არსებობა ამცირებს C კოეფიციენტს, გარკვეულწილად მცირდება B-ც, შედეგად ბოლო ჯამში მცირდება H. სვეტის ეფექტურობას აღწერს ვან-დეემტერის მრუდი, იგი წარმოადგენს თთეს*-ის დამოკიდებულებას მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარეზე. ზედაპირულად ფოროვანი ნაწილაკების შემთხვევაში H მკვეთრად არ იზრდება, ხოლო სრულად ფოროვანი სტრუქტურის სელექტორის გამოყენებისას ვან-დეემტერის მრუდს აქვს მკვეთრი აღმავალი სახე.

თთეს* - შემოკლება. თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე (H)

3.ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 ექსპერიმენტში გამოყენებული მასალები და აპარატურა.

ექსპერიმენტში გამოყენებული ელუენტები:

1) ჰექსან/იზოპროპანოლი 95/5
2) ჰექსან/იზოპროპანოლი 98/2

ექსპერიმენტში გამოყენებული ქირალური სელექტორები:

1) 2% SP-1 CS 3.6u 600 Å 100x4.6

2) 2% SP-1 CS 3.6u 300 Å 50x4.6

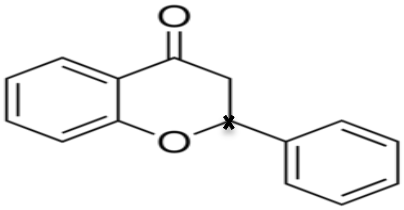
SP-1 სვეტები წარმოადგენს ცელულოზას ნაწარმს, კერძოდ ეს არის ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატს) შემოკლებით CDMPC. მისი სტრუქტურა მოცემულია სურ.1-ზე. გამოყენებული არის კორშელის ტიპის სვეტები. ე.ი ისინი არ არის სტანდარტული სვეტები სრულადფოროვანი ქირალური სელექტორით, არამედ უძრავი ფაზის ნაწილაკებს

აქვთ ზედაპირულად ფოროვანი სტრუქტურა. სვეტის აღწერაში მითითებული 3.6u გვიჩვენებს ნაწილაკების ზომებს მიკრომეტრებში. 3.6 მკმ ითვლება ნაწილაკების სტანდარტულ ზომად. უფრო მცირე ზომის ნაწილაკების გამოყენება აუმჯობესებს სვეტის ეფექტურობას მაგრამ ტექნოლოგიურად რთული პროცესია მათი დამზადება. 300 და 600 Å ანუ ანგსტრემი გვიჩვენებს ფორების ზომებს. 1 ანგსტრემი სმ$^{-8}$-ს რიგისაა. 100x4.6 და 50x4.6 აქ, 100 და 50 არის სვეტის სიგრძე მილიმეტრებში, ხოლო 4.6 არის სვეტის შიდა დიამეტრი მილიმეტრებში. სვეტის დასახელებაში მითითებული 2% გვიჩვენებს ქირალური სელექტორის დაფენილობის ხარისხს. სტრანდარტულ სვეტებში ქირალური სელექტორი 20-25%-ის ტოლია. ზედაპირულად ფოროვანი ნაწილაკების გამოყენების შემთხვევაში ქირალური სელექტორის რაოდენობა პროცენტულად გაცილებით მცირეა.

რაცემატი, რომელიც გამოყენებულ იქნა ექსპერიმეტში არის ფლავანონი. მისი სტრუქტურა მოცემულია სურ.2-ზე. საანალიზო ნივთიერების მოლეკულაში ერთი ქირალური ცენტრია, შესაბამისად აქვს ორი ენანტიომერი. მოცემულ სვეტებზე ფლავანონის ენანტიომერები წარმატებით დაიყო ფუძისეულად. რატომ მაინც და მაინც ფლავანონი და არა სხვა რაცემატი?! როგორც აღვნიშნეთ, ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო არაკომერციული ქირალური სვეტი, რომელზეც ქირალური სელექტორის დაფენილობის ხარისხი კომერციულთან შედარებით რამდენჯერმე მცირეა, შესაბამისად მასზე დაყოფადი რაცემატების სია მწირია, ფლავანონი კი ამ მცირე სიაში შედის.

სურ.2

სურათი 2-ზე მოცემულია რაცემატ ფლავანონის სტრუქტურული ფორმულა. ქირალური ცენტრი აღნიშნულია ფიფქით.



ექსპერიმენტში გამოყენებული ხელსაწყო:

ულტრა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი(შემოკლებით UHPLC), Agilent 1290 სერიის. ჩვეულებრივი მაღალ ეფექტური სითხური ქრომატოგრაფისგან იგი განსხვავდება იმით, რომ აქვს ძლიერი ტუმბო, რომელიც 1200-მდე ბარ წნევას ანვითარებს, რაც საშუალებას გვაძლევს ვიმუშაოთ მოძრავი ფაზის ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე. ნაკადის სიჩქარის გაზრდა ზრდის უკუწნევას, რომელსაც მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფები ხშირად ვერ უძლებენ, მაგალითად ისეთები, რომელთა ტუმბოსთვის წნევის ლიმიტი 400 ან 600 ბარია.

ასეთი ტუმბოებით ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე მუშაობა შეუძლებელია. ნაკადის მაღალი სიჩქარეების გამოყენება ამცირებს ანალიზის დროს და ამ შესაძლებლობის გამოყენება სწორედ სწრაფი დაყოფების ჩასატარებლადაა მნიშვნელოვანი. ექსპერიმენტში გამოყენებულმა ხელსაწყომ საშუალება მოგვცა ნაკადის სიჩქარეების საკმაოდ ფართო დიაპაზონში გვემუშავა, მაქსიმალური ნაკადის სიჩქარე 5მლ/წთ იყო, ამან საშუალება მოგვცა 5 სმ-იან სვეტზე 10 წამზე უფრო ნაკლებ დროში მიგვეღო ფლავანონის ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა.

გამოყენებულ ხელსაწყოს დეტექტორი არის უ.ი დიოდური ტიპის. ანალიზების ჩატარება შეიძლება სხვადასხვა ტალღის სიგრძეზე და სხვადასხვა სიხშირეზე. მინიმალური შესაძლებლობა 2.5Hz ხოლო მაქსიმალური 80Hz აქვს. ჰერცი (Hz) სიხშირის საზომი ერთეულია და იგი წამის განმავლობაში დაფიქსირებული წერტილების რაოდენობას გვიჩვენებს. ლოგიკურია რაც მეტია დეტექტორის სიხშირე, ანუ მონაცემების ჩაწერის სიჩქარე მით უფრო სწორი ქრომატოგრაფიული სურათი მიიღება. ექსპერიმენტებმა აჩვენა, რომ 80 ჰერცი სიხშირეზე მუშაობა უფრო მისაღებია.

ექსპერიმენტის წინ მოხდა ხელსაწყოს ოპტიმიზაცია, იგულისხმება კაპილარის დამოკლება და კიუვეტის მოცულობის შემცირება დეტექტორში (შედეგად შემცირდა t_0).

3.2 სამუშაოს მიზნები:

სამუშაოს მიზანი იყო რამდენიმე ამოცანის შესრულება:

1) სუპერსწრაფი დაყოფების ჩატარება ზედაპირულად ფოროვანი სტრუქტურის სვეტებზე.

2) სვეტის ეფექტურობაზე დაკვირვება სიჩქარეთა დიდი დიაპაზონის გამოყენებით. ამისათვის ვან-დეემტერის კოეფიციენტების გამოანგარიშება და მათ მიხედვით ვან-დეემტერის მრუდის აგება. (სწორედ ამ მრუდის მიხედვით შეიძლება ქრომატოგრაფიული სვეტის ეფექტურობაზე მსჯელობა)

3) სიხშირეთა ცვლილებით იმის ჩვენება, რომ სვეტების ეფექტურობის შენარჩუნების მიზნით ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე მუშაობისას უნდა გამოვიყენოთ მხოლოდ მაღალი სიხშირის დეტექტორები, რათა მიღებული შედეგი(ქრომატოგრამა) სწორედ აღწერდეს ქრომატოგრაფიული დაყოფის პროცესს.

4) ამ ყველაფრის გათვალისწინებით ზედაპირულად ფოროვანი სტაციონალური ფაზების უპირატესობების ჩვენება.

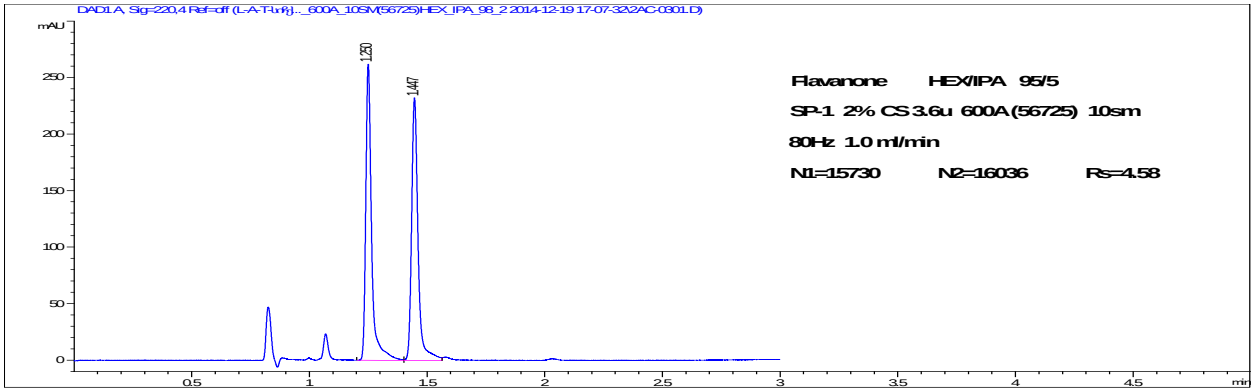
3.3 სამუშაოს მსვლელობის პირობები

სამუშაოს დაწყებამდე სანალიზო ნივთიერება ხსნარში გადავიყვანეთ, ამისათვის ავიღეთ 0,07მგ ფლავანონი და გავხსენით ელუენტში. ანალიზები 220ნმ სიგრძის ტალღაზე, 5 და 80 ჰერცებზე ჩატარდა. ფლავანონის ენანტიომერების დაყოფისთვის გამოვიყენეთ ნაკადის სხვადასხვა მოცულობითი სიჩქარეები(F): 0.1; 0.2; 0.3; 0.5; 0.7; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 3.0; 3.5; 4.0; 4.5 და 5.0 მლ/წთ. გამოყენებული მოძრავი და უძრავი ფაზების შესახებ ინფორმაცია 3.1 თავში იყო მოცემული. ანალიზები ოთახის ტემპერატურაზე ტარდებოდა.

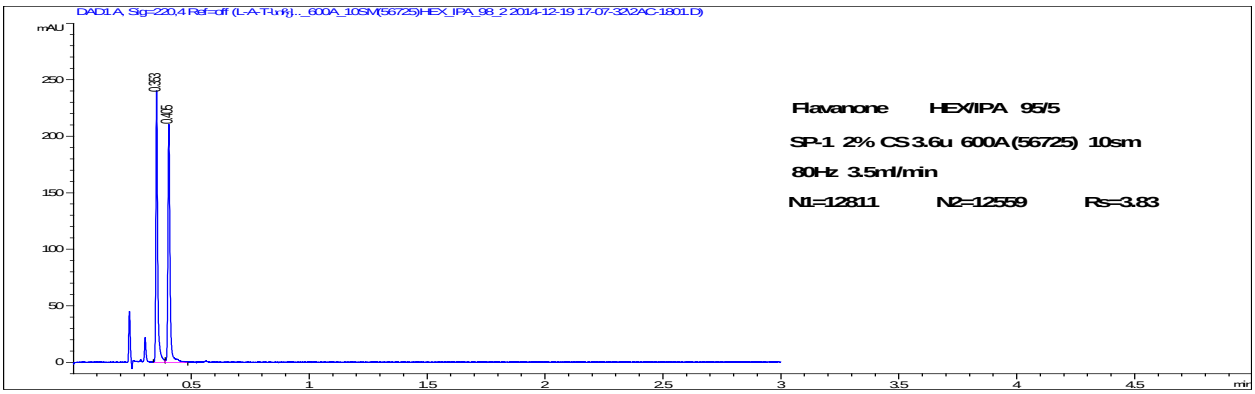
4 ანალიზის შედეგები და განსჯა

შედეგებზე დაკვირვება და დასკვნების გამოტანა მარტივი იქნება, თუ მათ შედარების გზით წარმოვადგენთ. დავიწყოთ ყველაზე მარტივით, მოძრავი ფაზის ნაკადის გაზრით ანალიზის დრო მცირდება. მნივნელობა არ აქვს გამოყენებულ სტაციონალურ და მოძრავ ფაზებს. მაგალითი მოცემულია სურ.3-ზე ა), ბ)

სურ.3



ა) სურათზე მოცემულია ფლავანონის ენანტიომერების დაყოფის ქრომატოგრამა, 10სმ-იან SP-1 სვეტზე. ელუენტი ჰექსან იზოპროპანოლის ნარევი 95/5 თანაფარდობით. ნაკადის სიჩქარე 1.0მლ/წთ, ინიცირებული ნივთიერების რაოდენობა 2მკლ, დეტექტორის სიხშირე 80ჰერცი.



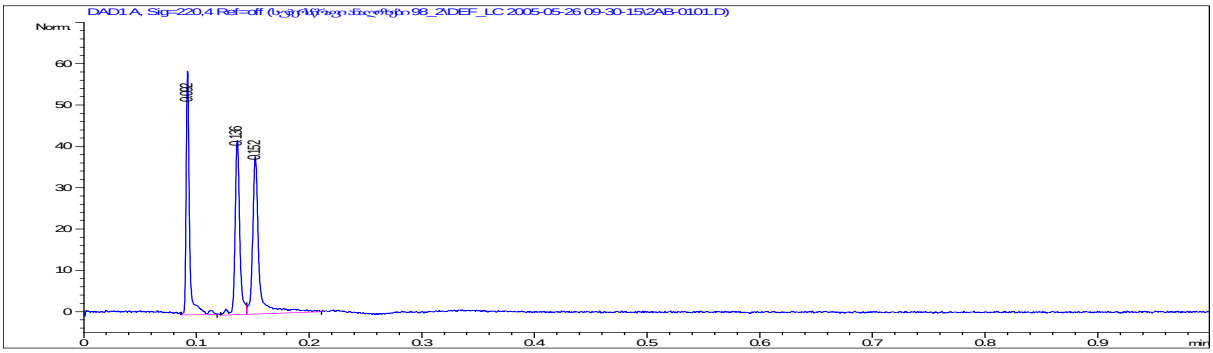
ბ) სურათზე მოცემულია ფლავანონის ენანტიომერების დაყოფის ქრომატოგრამა, 10სმ-იან SP-1 სვეტზე. ელუენტი ჰექსან იზოპროპანოლის ნარევი 95/5 თანაფარდობით. ნაკადის სიჩქარე 3.5მლ/წთ, ინიცირებული ნივთიერების რაოდენობა 2მკლ, დეტექტორის სიხშირე 80ჰერცი.

როგორც ვხედავთ, ელუენტის სიჩქარის გაზრდით 1.0-დან 3.5მლ/წთ-მდე შემცირდა ანალიზის დრო, თუკი 1.0 მლ/წთ-ზე ანალიზი დასრულდა ≈1.5 წუთში ანუ ≈90 წამში, 3.5 მლ/წთ-ზე ანალიზს მხოლოდ ≈24 წამი დასჭირდა. დაყოფა კი ორივე შემთხვევაში ფუძისეულია. აქვე შევნიშნოთ თეორიული თეფშების რიცხვის ცვლილება მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარის გავლენით. u-ს გაზრდით N მცირდება და ეს მოტანილი მაგალითითაც ჩანს. დაბალ სიჩქარეზე N≈16000, ხოლო მაღალ სიჩქარეზე შემცირებულია და N≈13000. იგივე ანალიზები რომ ჩატარებულიყო სრულად ფოროვანი სტრუქტურის სვეტებზე, N-ის მნიშვნელობა იქნებოდა უფრო მცირე დაბალ და მაღალ სიჩქარეებზე. გარდა ამისა გაცილებით მეტი იქნებოდა სხვაობა მათ შორის ანუ სვეტის ეფექტურობა ნაკადის სიჩქარის გაზრდით მკვეთრად შემცირდებოდა, რაც ნაკლებად ხდება კორშელის ტიპის სვეტებისთვის. ბუნებრივია, სტანდარტულ სვეტზე იგივე ანალიზებს გაცილებით მეტი დრო დასჭირდებოდა. წესით შეფასებამდე N-ის მნიშვნელობები გადაყავთ 1 მეტრზე გადაანგარიშებულ ერთეულებში, შემდგომი შედარებებისთვის. ჩვენ შემთხვევაში მოცემული რიცხვები გამრავლდება 10-ზე და მივიღებთ თეორიული თეფშების რიცხვს გადაანგარიშებულს 1 მეტრზე. შესაბამისად თუ სვეტი იქნებოდა 5 სმ-იანი, მაშინ მიღებულ შედეგებს გავამრავლებდით 20-ზე. აქვე შევნიშნოთ, რომ ნაკადის უფრო დაბალ სიჩქარეებზე(F<1მლ/წთ) მუშაობისას N შეიძლება უფრო მეტი იყოს, გააჩნია რომელ სიჩქარეს შეესაბამება ვან-დეემტერის მრუდზე ოპტიმუმის წერტილი. ანუ, ნაკადის სიჩქარის განუსაზღვრელად შემცირებით თეორიული თეფშების რიცხვი განუსაზღვრელად არ იზრდება, რომელიღაც კონკრეტულ u-ს მნიშვნელობაზე N აღწევს მაქსიმალურ მნიშვნელობას, მასზე უფრო მაღალ და დაბალ სიჩქარეებზე აქვს შედარებით მცირე

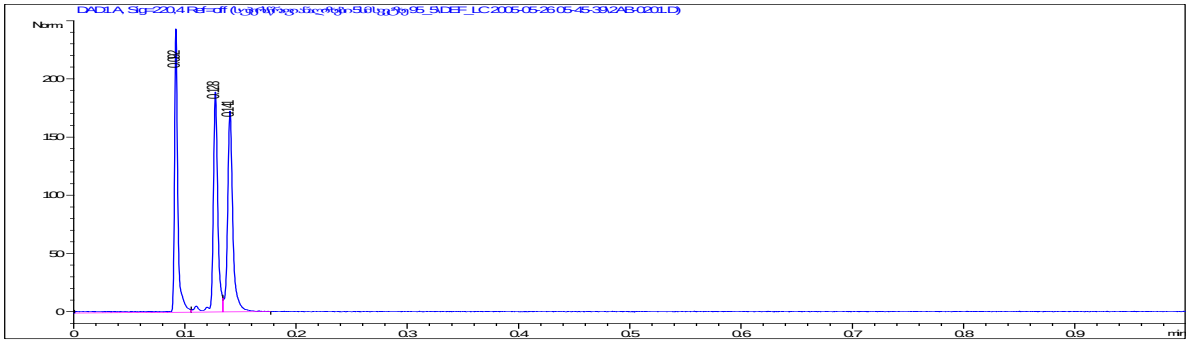
მნიშვნელობა. სწორედ ეს განაპირობებს ვან-დეემტერის მრუდის ტრადიციულ სახეს, რომელზეც მოგვიანებით იქნება საუბარი ტექსტში. მოძრავ ფაზის ან/და სვეტის შეცვლისას ნაკადის სიჩქარის გავლენა ყველა შემთხვევაში ერთნაირად გამოიხატება. განსხვავება შეიძლება მარტო ვან-დეემტერის მრუდზე ექსპერიმენტული ოპტიმუმის წერტილში იყოს.

გადავიდეთ მოძრავი ფაზის შედარებაზე და ვნახოთ რა გავლენას ახდენს იზოპროპანოლის წილის გაზრდა ან შემცირება დაყოფის ხარისხსა და სვეტის ეფექტურობაზე. სურ.4 ა), ბ)

სურ.4



ა) სურათზე მოცემულია ფლავანონის ენანტიომერების დაყოფა 5სმ-იან SP-1 სვეტზე, ელუენტი <u>ჰექსან/იზოპროპანოლი 98/2,</u> შედეგები ჩაწერილია 80ჰერცზე, ნიმუშის ინიცირებული რაოდენობა 1.5მკლ, ნაკადის სიჩქარე 5მლ/წთ.



ბ) სურათზე მოცემულია ფლავანონის ენანტიომერების დაყოფა 5სმ-იან SP-1 სვეტზე, ელუენტი <u>ჰექსან/იზოპროპანოლი 95/5,</u> შედეგები ჩაწერილია 80ჰერცზე, ნიმუშის ინიცირებული რაოდენობა 1.5მკლ, ნაკადის სიჩქარე 5მლ/წთ.

თუ დავაკვირდებით ქრომატოგრამებს, დავინახავთ, რომ იზოპროპანოლის წილის გაზრდა ამცირებს ანალიზის დროს, კონკრეტულად თუ ჰექსანი/იზოპროპანოლი 98/2 გვაქვს დაყოფა სრულდება 0.152წთ-ში ანუ ≈10წამში, ხოლო 95/5 ფაზაში ანალიზის დრო 0.141წთ-ია ანუ ≈9წამი. ანალიზის დროის შემცირების პარალელურად დაყოფის ხარისხი ფუჭდება. იზოპროანოლის უფრო ნაკლები მოცულობის შემცველ ფაზაში უფრო უკეთესი დაყოფა მიიღება. ექსპერიმენტის მიზანი არ იყო მოძრავი ფაზის ცვლილების შესწავლა, მაგრამ ვინაიდან სუპერსწრაფ დაყოფებზე კეთდებოდა ძირითადი აქცენტი, იზოპროპანოლის

წილის ვარირებას მიექცა ყურადღება. ანუ იმისათვის რომ შეძლებისდაგვარად შემცირებულიყო ანალიზის დრო პარალელურად შენარჩუნებულიყო „კარგი დაყოფა“.

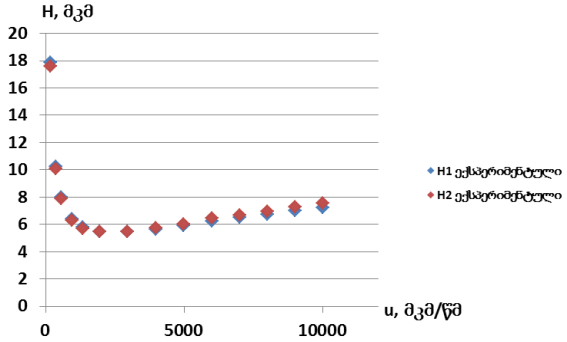
გადავიდეთ დეტექტორის სიხშირის ცვლილებაზე. სამუშაოს მიზანი არ იყო ჰერცების ცვლილების გავლენის შესწავლა, ისედაც ცნობილია, რომ რაც მეტია დეტექტორის მონაცემების ჩაწერის სიჩქარე, ანუ სიხშირე, მით უკეთესია იგი, იმ გამონაკლისი შემთხვევების გარდა, როგორიცაა საბაზისო ხაზის ხმაურის გაზრდა, რაც ერთგვარი არასასურველი ეფექტია. ჩვენი მიზანი იყო იმის ჩვენება, რომ დაბალ სიჩქარეებზე მუშაობისას დაბალი სიხშირის დეტექტორიც გამოდგება, მაგრამ მაღალ სიჩქარეებზე მუშაობისას სწორი ქრომატოგრაფიული სურათის მისაღებად უნდა გამოვიყენოთ მაღალი სიხშირის დეტექტორი. მით უმეტეს, როცა ვიყენებთ ბევრი უპირატესობის მქონე „Core-Shell” ტიპის სვეტებს. ეს უპირატესობები არ გამოჩნდება თუკი ქრომატოგრაფიული დაყოფის პროცესი სწორედ არ იქნება აღწერილი. ალბათ ჩნდება კითხვა, რა განსხვავებაა დეტექტორის სიხშირეებს შორის? დავიწყოთ იმით, რა არის ქრომატოგრაფიული პიკი? პიკი ეს არის წერტილთა ერთობლიობა. დეტექტორის ანალიზური სიგნალი ჩამწერ მოწყობილობაზე წერტილებით აღიქმება. ჰერცი წამის შებრუნებული სიდიდეა, მაშასადამე დეტექტორის სიხშირე გვიჩვენებს 1წამში დაფიქსირებული წერტილების (სიგნალების) რაოდენობას. რაც მეტია დეტექტორის სიხშირე მით მეტი სიგნალის დაფიქსირება ესწრება დროის მონაკვეთში. ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე მუშაობისას როგორც სურ.4 ქრომატოგრამებზე ვიხილეთ ანალიზს 10 წამიც არ დასჭირდა, შესაბამისად თუ არ გამოვიყენებთ მაღალი სიხშირის დეტექტორს შეიძლება ვერ მოესწროს პიკების გარჩევა და მხოლოდ ერთი პიკი დავინახოთ რეალური ორის ნაცვლად. სინამდვილეში მოცემულ ქირალურ სელექტორზე დაყოფა შესრულდება მაგრამ ამის დაფიქსირება ვერ მოხდება. მაშასადამე, მოთხოვნაა იმ სიხშირის დეტექტორის გამოყენება, რომელიც მოასწრებს სიგნალის დაფიქსირებას და სწორ ქრომატოგრაფიულ სურათს ასახავს.

ნაკადის დაბალ სიჩქარეებზე მუშაობისას, ანალიზს სჭირდება შედარებით დიდი დრო, ამიტომ გამოგვადგება როგორც მაღალი, ისე დაბალი სიხშირის დეტექტორები. შეიძლება დაიბადოს კითხვა, რატომ უნდა გამოვიყენოთ დაბალი სიხშირის დეტექტორი, თუ არსებობს მაღალი სიხშირის დეტექტორები?! საქმე ისაა, რომ მონაცემების დაბალი სიჩქარით ჩამწერი დეტექტორი უფრო ხელმისაწვდომია ვიდრე მაღალი სიხშირის, შესაბამისად მკვლევარი ხშირად იძულებულია ამოცანის შესასრულებლად გამოიყენოს ის რესურსი რაც აქვს და არა ის რაც უკეთესია. მაღალი სიხშირის დეტექტორები ძვირია და შესაბამისად ხშირად ნაკლებად ხელმისაწვდომია. დაბალი სიხშირის დეტექტორი შეიძლება იმიტომაც იქნას გამოყენებული, რომ თავიდან ავიცილოთ ის არასასურველი ეფექტები რასაც იწვევს

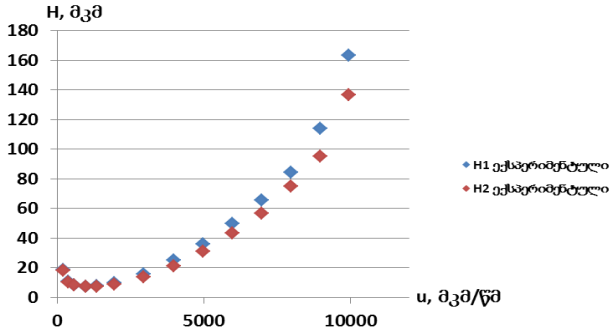
მაღალი სიხშირის დეტექტორი, ამაზე წინამდებარე ტექსტში უკვე იყო საუბარი.

ნაშრომში ნახსენები იყო, რომ ზედაპირულად ფოროვანი ნაწილაკებით შევსებული სვეტების გამოყენებისას ეფექტურობა მკვეთრად არ მცირდება, ამის პარალელურად ისიც ვთქვით, რომ სვეტის ეფექტურობა ნარჩუნდება მხოლოდ მაღალი სიხშირის დეტექტორის გამოყენებისას, რადგან ექსპერიმენტში ანალიზები ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე ტარდებოდა. მსჯელობა რომ უფრო გასაგები გავხადოთ, თვალსაჩინოებისთვის სურ.5-ზე მოტანილია ვან-დეემტერის მრუდები.

სურ.5



ა) მოცემულია ვან-დეემტერის მრუდი ნივთიერება ფლავანონისთვის. სვეტი SP-1 10სმ-იანი. ელუენტი 95/5 თანაფარდობის ჰექსან/იზოპროპანოლის ნარევი. დეტექტორის სიხშირე 80 ჰერცი. მოცემულია მხოლოდ ექსპერიმენტული მრუდები.



ბ) მოცემულია ვან-დეემტერის მრუდი ნივთიერება ფლავანონისთვის. სვეტი SP-1 10სმ-იანი. ელუენტი 95/5 თანაფარდობის ჰექსან/იზოპროპანოლის ნარევი. დეტექტორის სიხშირე 5 ჰერცი. მოცემულია მხოლოდ ექსპერიმენტული მრუდები.

მრუდების მიხედვით მტკიცდება მსჯელობა. ზედაპირულად ფოროვანი ნაწილაკებით შევსებული ქრომატოგრაფიული სვეტის ეფექტურობა ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზეც რომ ნარჩუნდება (მკვეთრად არ მცირდება) მხოლოდ 80 ჰერცის შემთხვევაში ჩანს.

ექსპერიმენტში დაფიქსირდა საკმაოდ მაღალი თეორიული თეფშების რიცხვის მნიშვნელობები ერთ მეტრზე გადაანგარიშებით. ეს შედეგები ცხრილების სახით ნაჩვენებია ცხრილი 1-ში.

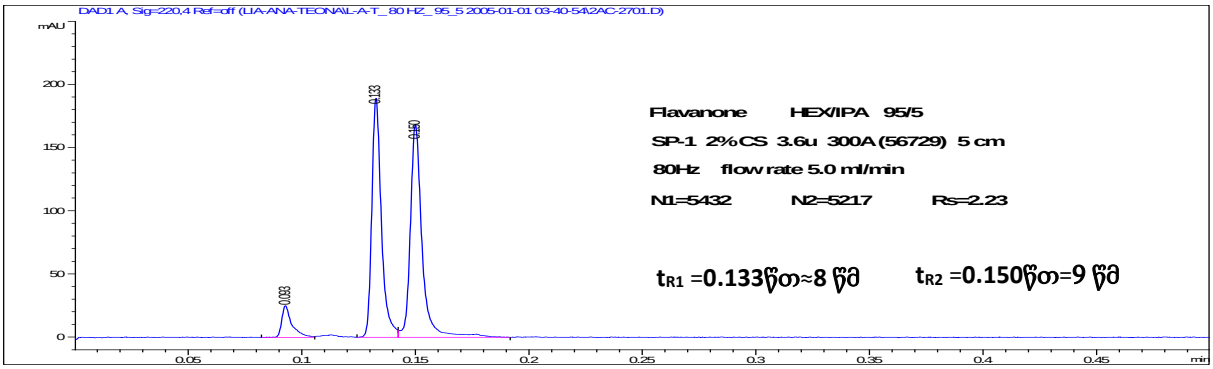
ცხრილი.1

	5Hz		80Hz	
F,მლ/წთ	N1	N2	N1	N2
0.1	54150	55170	55950	56820
0.2	94990	96480	97780	99100
0.3	120140	122500	1247500	127100
0.5	136240	141020	156340	158950
0.7	131320	139040	173210	175850
1.0	105470	116370	182560	183850
1.5	64600	74010	183410	182690
2.0	39940	47730	176990	174000
2.5	27930	32190	169140	165730
3.0	20210	23120	159820	155350
3.5	15290	17600	154210	150250
4.0	11850	13320	148980	144440
4.5	8760	10510	143330	137730
5.0	6120	7310	137980	132540

ცხრილში მოცემულია თეორიული თეფშების რიცხვის მნიშვნელობები 1 მეტრზე გაანგარიშებით ნაკადის ყველა სიჩქარეზე 10 სმ-იანი SP-1 სვეტისთვის. გამოყენებული ელუენტი ჰექსან/იზოპროპანოლის 95/5 ნარევი. 5 და 80 ჰერცი(მითითებულია ცხრილში).

მაქსიმალური თეორიული თეფშების რიცხვი ერთ მეტრზე გაანგარიშებით დაფიქსირდა ≈184000, ეს საკმაოდ დიდი მიღწევაა. ვან-დეემტერის მრუდზე [სურ.5 ა)] მას შეესაბამება ოპტიმუმის წერტილი, სადაც H-ის მნიშვნელობა 5 მიკრომეტრის ფარგლებშია. თუ ამ რიცხვს გავყოფთ ნაწილაკების ზომაზე, 3.6 მკმ-ზე მიიღება უგანზომილებო სიდიდე, რომელსაც ეწოდება დაყვანილი თეორიული თეფშების რიცხვი. ამ ექსპერიმენტში ეს სიდიდე 1.4-ზე ნაკლებია, რაც დღემდე გამოქვეყნებული შედეგების ფონზე შეიძლება ჩაითვალოს რეკორდად. ასეთი შედეგების მიღება კი მოხერხდა იმის გამო, რომ კორშელის ტიპის სვეტებზე, ნაწილაკების მხოლოდ ზედაპირული და არა სრული ფორიანობის გამო ვან-დეემტერის განტოლებაში მცირდება სამივე კოეფიციენტი. მათ პარალელურად მცირდება H და შესაბამისად იზრდება N.

შედეგების განხილვა დავაგვირგვინოთ სუპერსწრაფი ანალიზის დემონსტრირებით. სურ.6



სურათზე მოცემულია ფლავანონის ენანტიომერების დაყოფა უმოკლეს დროში. გამოყენებული სვეტი SP-1 50x4.6, ელუენტი ჰექსან/იზოპროპანოლი 95/5, ნაკადის მოცულობითი სიჩქარე 5მლ/წთ, სიხშირე 80 ჰერცი.

როგორც სურ.5-ზე ვხედავთ, 9 წამში ჩვენ მივიღეთ ფლავანონის ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა, თეორიული თეფშების რიცხვი 1 მეტრზე გაანგარიშებით N1=108460; N2=104340 რაც ითვლება ძალიან კარგ შედეგებად მაღალი ნაკადის სიჩქარეების გამოყენების ფონზე.

5. დასკვნები:

ექსპერიმენტის შედეგებმა ცხადყო, რომ ზედაპირულად ფოროვან, გლუვ სილიკაგელზე დაფენილი პოლისაქარიდული სელექტორი საშუალებას გვაძლევს ჩავატაროთ რეკორდულად სწრაფი ანალიზები სტაციონალური ფაზის ეფექტურობის შენარჩუნების პარალელურად. „კორშელის" ტიპის სვეტი ინარჩუნებს ეფექტურობას მოძრავი ფაზის ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზეც, რაც სრულად ფოროვანი სილიკაგელის და პოლისაქარიდული სელექტორის კომბინაციის გამოყენებისას ვერ ხერხდება. ზედაპირულად ფოროვანი ნაწილაკების შემთხვევაში მაღალ ეფექტური დაყოფების შესრულება შესაძლებელია 10 წამზე მცირე დროში.

6. გამოყენებული ლიტერატურა:

[1]. გ. ჯიბუტის სადისერტაციო ნაშრომი: „ქირალური ნივთიერებების დაყოფის ოპტიმიზაცია მაღალ ეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით“ თბილისი, 2014წ;

[2]. მ. რუხაძე „ნარევთა დაყოფა“ სალექციო კურსი, 2014წ;

[3]. G. Guichon Review “Shell particles, trials, tribulations and triumphs” *Journal of Chromatography A*, 1218 (2011) 1915–1938;

[4]. Ketevan Lomsadze[a], George Jibuti[a], Tivadar Farkas[b], Bezhan Chankvetadze[a] “Comparative high-performance liquid chromatography enantioseparations on polysaccharide based chiral stationary phases prepared by coating totally porous and core–shell silica particles” *Journal of Chromatography A*, 1234 (2012) 50– 55.