ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

ანა ბარდაველიძე

ტრანს-სტილბენის ოქსიდის 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

Summary

ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა მეტად მნიშვნელოვანია, ვინაიდან ხშირ შემთხვევაში მათ განსხვავებული ფიზიოლოგიური მოქმედება ახასიათებთ. ენანტიომერების ანალიზის ყველაზე მეტად გამოყენებულ ტექნიკას წარმოადგენს მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია. რთულია მოიძებნოს ისეთი ქირალური სელექტორი, რომელზეც ნივთიერებათა დიდი ჯგუფი დაიყოფა, თუმცა ყველაზე ხშირად გამოყენებად ქირალურ სელექტორს წარმოადგენს პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორები.

ნაშრომში განხილულია ზედაპირულად ფოროვანი სტაციონალური ფაზების უპირატესობები ტრადიციულ უძრავ ფაზებთან შედარებით. ნაჩვენებია თუ რამდენად ეფექტურად და სწრაფად შეიძლება ჩატარდეს ანალიზები. მოტანილია შედეგები, რომლებიც მიღებულ იქნა ახალი სტაციონალური ფაზით მომზადებული სვეტების საშუალებით. ასევე მოტანილია ცხრილები და ვან-დეემტერის მრუდები, რომლებიც ნათლად ასახავენ რომ ამ ტიპის სვეტების გამოყენებით ტარდება ზე-სწრაფი ანალიზები, ნაკადის სიჩქარის ზრდისას შედეგი მკვეთრად არ უარესდება და მაღალ სიჩქარეებზე სვეტი არ კარგავს ეფექტურობას.

Summaary

Separation of chiral compound's enantiomers is very important due to fact, that often enantiomers have different physiological effect. High performance Liquid Chromatography is most widely used method for separation of enantiomers. Despite the fact, that there are described many chiral stationary phases, still it is not easy task to find chiral selector capable to separate wide range of compounds. Polysaccharide based chiral selectors are mostly used to prepare chiral stationary phases.

In this work, the is advantages of superficially porous stationary phases (core-shell) over traditional totally porous phases are described. It is shown, how efficient and fast analysis can be performed. Experimental results, performed on core-shell type chiral stationary phases, charts and van-deemter plots demonstrates, that it is possible to perform superfast separations without significant loss of separation efficiency.

შინაარსი

ანოტაცია ……...2

1. შესავალი ……5

2. ლიტერატურული ნაწილი

2.1 ქრომატოგრაფია…….....6

2.2 ქრომატოგრაფიული ზონის გაფართოების მიზეზები. ვან-დეემტერის განტოლება…8

2.3 ძირითადი ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები 9

2.4 პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების მიმოხილვა.....……11

2.5 აპარატურა მაღალ ეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში……..11

2.6 ზედაპირულად ფოროვანი სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებული პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზის უპირატესობები…...……....12

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 გამოყენებული აპარატურა……16

3.2 გამოყენებული სვეტები……16

3.3 გამოყენებული ქირალური სტაციონარული ფაზები.....16

3.4 საკვლევი ნივთიერება.....17

3.5 ექსპერიმენტში გამოყენებული ელუენტები.....17

3.6 ანალიზის პირობები.....17

5. შედეგები და განსჯა 18

6. დასკვნები 23

7 . გამოყენებული ლიტერატურა 24

1. შესავალი

თანამედროვე ქიმიაში ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა აქტუალური პრობლემაა. აქტუალობას კი ის განაპირობებს რომ ქიმიური ნივთიერებების ენანტიომერებს ხშირ შემთხვევაში აქვთ განსხვავებული ფიზიოლოგიური მოქმედება , ამიტომ მნიშვნელოვანია ასეთი ნივთიერებების ანალიზი ან ქირალურად სუფთა სახით მიღება. ქირალურ ნივთიერებებს განეკუთვნება ქირალური სამკურნალო საშუალებები, საკვები დანამატები , სასოფლო-სამეურნეო შხამქიმიკატები, და სხვა.
ენანტიომერები არიან სივრცულ იზომერები - ისინი ერთმანეთისგან განსხვავდებიან ატომთა ჯგუფების განლაგებით სივრცეში. ამიტომ აქირალურ გარემოში მათი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები იდენტურია.

ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებების გამო ენანტიომერული ნივთიერებების დაყოფა აქირალურ გარემოში შეუძლებელია. 1970-იანი წლებიდან განვითარდა ენანტიომერული ნარევების დაყოფის სითხურ-ქრომატოგრაფიული მეთოდები.

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია ენანტიომერული ნარევების ყველაზე ფართოდ გამოყენებული მეთოდია და აღიარებულია როგორც ძირითადი მეთოდი ქირალური სამკურნალო საშუალებების ანალიზისთვის. ამას განაპირობებს მისი უნივერსალურობა, ქირალური სტაციონარული ფაზების (ქსფ) ფართო არჩევანი, სიმარტივე, და მათი ხელმისაწვდომობა.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა:

2.1 ქრომატოგრაფია

ქრომატოგრაფია არის ნარევების კომპონენტებად დაყოფის მეთოდი, [1] რომელიც დაფუძნებულია ორ შეურევად ფაზაში ნიმუშის კომპონენტების წონასწორულ განაწილებებს შორის განსხვავებაზე. ამ ორი ფაზიდან ერთი მოძრავია, ხოლო მეორე უძრავი.ის კომპონენტები, რომლებიც მეტად ნაწილდებიან სტაციონალურ ფაზაში, მოძრაობს უფრო ნელა ვიდრე კომპონენტები, რომლებიც მეტად ნაწილდებიან მოძრავ ფაზაში. ანუ დაყოფა არის კომპონენტების მოძრაობის წრფივ სიჩქარეებს შორის განსხვავების შედეგი.

ქრომატოგრაფიული ექსპერიმენტი პირველად ჩაატარა მიხეილ ცვეტმა 1900 წელს. მისი მიზანი იყო ფოთლის ექსტრაქტიდან პიგმენტების - კაროტენების და ქსანტოფილების, ქლოროფილის დაყოფა. ცვეტმა თავის ექსპერიმენტს ქრომატოგრაფია დაარქვა.

ქრომატოგრაფიულ ექსპერიმენტში ხდება საკვლევი ნარევის შეყვანა უძრავ ფაზაზე, რომელიც როგორც წესი მოთავსებულია მეტალის მილში, ან კვარცის კაპილარში და ქრომატოგრაფიული სვეტი ეწოდება, ნარევის სვეტში გადაადგილება ხდება მოძრავი ფაზის განუწყვეტელი მიწოდებით, დაყოფილი კომპონენტების რეგისტრაცია ხდება მათი ფიზიკური, ქიმიური თუ ფიზიკო-ქიმიური თვისების გაზომვით.

მოძრავი და უძრავი ფაზების აგრეგატულ მდგომარეობაზე დამოკიდებულების მიხედვით განასხვავებენ აირად და სითხურ ქრომატოგრაფიას, ასევე არსებობს ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია.

სითხურ ქრომატოგრაფიაში იყენებენ როგორც სვეტებს ასევე ბრტყელ ფირფიტებს ან ქაღალდს. ქრომატოგრაფიულ სვეტში დაყოფილი კომპონენტები შემდეგ ხვდებიან დეტექტორში, რომლის საშუალებით ატარებენ კომპონენტების თვისებით და რაოდენობრივ იდენტიფიკაციას. ჩაიწერება დეტეტორის სიგნალის დროზე დამოკიდებულების გრაფიკი, სადაც ნივთიერებების პიკები წარმოდგენილია გაუსის მრუდის სახით. ხოლო ქრომატოგრაფიული ანალიზის შედეგად მიღებულ მთლიან სურათს ქრომატოგრამას უწოდებენ.

ენანტიომერების ანალიზის ყველაზე ფართოდ გავრცელებული ტექნიკა არის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (მესქ). მიუხედავად იმ ფაქტისა, რომ ცნობილია

საკმაოდ ბევრი ქირალური სელექტორი, რომელიც შეიძლება გამოყენებულ იქნას ენანტიომერების დასაყოფად მესქ-ში, კვლავაც რთულია ისეთი ქირალური სელექტორის შერჩევა, რომელიც გამოსადეგი იქნებოდა ქირალურ ნივთიერებათა დიდი ჯგუფის დაყოფისთვის. ყველაზე ხშირად გამოიყენება პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორები და კომერციულად ხელმისაწვდომი ქირალური სვეტების უმეტესობაც დამზადებულია პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების გამოყენებით. მესქ ყველაზე უფრო მისაღებ მეთოდს წარმოადგენს ორგანულ ნივთიერებათა დაყოფის და მათი განსაზღვრისთვის. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი უზრუნველყოფს ანალიზის ჩატარებას ოთახის ტემპერატურაზე, რაც ძალიან მნიშვნელოვანია თერმოლაბილური და არააქროლადი ორგანული ნივთერებების ანალიზის დრო, მაგ : ფარმაცევტული პრეპარატები, გარემოს დამაბინძურებელი ორგანული ბუნების ნივთიერებები. შესაძლებელია მედიკამენტების მეტაბოლიტების პრეპარატული შეგროვება, მათი შემდგომი იდენტიფიკაციის მიზნით. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიული ანალიზები ძირითადად ორ რეჟიმში ტარდება: ნორმალური ანუ პირდაპირ-ფაზიანი და შებრუნებულ-ფაზიანი. ნორმალურფაზიანში სტაციონალური ფაზა პოლარულია (მაგ: სილიკაგელი) ხოლო მოძრავი ფაზა არაპოლარული ან მცირედ პოლარული. შებრუნებულფაზიან რეჟიმში სტაციონალური ფაზა არაპოლარულია (სილიკაგელი მოდიფიცირებული სხვადასხვა სიგრძის ალკილური ჯგუფით) ხოლო მოძრავი ფაზა პოლარული დაწარმოადგენს წყლისა და ორგანული გამხსნელის ნარევს (წყალი-აცეტონიტრილი,წყალი-მეთანოლი).

არსებობს იონგაცვლითი სითხური ქრომატოგრაფია. აქ იყენებენ იონური [3] ურთიერთქმედების უნარიანი რეაგენტებით მოდიფიცირებულ სტაციონალურ ფაზას. მიზანი იონური ნაერთების დაყოფაა.

რაც შეეხება ჰიდროფილური ურთიერთქმედების სითხურ ქრომატოგრაფიას ეს განიხილება როგორც შებრუნებულ ფაზიანი სითხური ქრომატოგრაფიის შებრუნებული პროცესი.

ქირალური ქრომატოგრაფია - მეთოდი გამოიყენება ენანტიომერების დაყოფისთვის. სტაციონალური ფაზის შემადგენლობაში არის ქირალური ლიგანდი, რითაც მას ენიჭება თვისება - ქირალობა. ენანტიომერები იჩენენ განსხვავებულ მისწრაფებას ქირალური სტაციონალური ფაზის მიმართ, რაც განაპირობებს მათ დაყოფას.

2.2 ქრომატოგრაფიული ზონის გაფართოების მიზეზები. ვან-დეემტერის განტოლება.

ქრომატოგრაფიული ზონის გაფართოებას იწვევს შემდეგი მიზეზები:

1) გრიგალისებური დიფუზია-რომლის გამოც ნიმუშის ზოგიერთი მოლეკულა სვეტს [1] გაივლის სწორხაზოვნად,ზოგი კი სხვადასხვა გადახვევას განიცდის. ეს ეფექტი მინიმალურია, როდესაც სვეტი არის თანაბრად შევსებული მცირე დიამეტრის ნაწილაკებით.

2) სვეტის გასწვრივ დინების არაერთგვაროვნება- რის გამოც საკვლევი მოლეკულები სხვადასხვა მანძილს გადიან. დინების არაერთგვაროვნებას იწვევს ხახუნი სვეტის კედელსა და მოძრავ ფაზას შორის, ამის გამო ცენტრში მეტია სიჩქარე, ხოლო კედლებთან ნაკლები.

3) გასწვრივი დიფუზიის გავლენა-ანუ მოძრავ ფაზაში ნიმუშის მოლეკულების დიფუზია. ეს ეფექტი სითხურ ქრომატოგრაფიაში შესამჩნევია, მაშინ თუ ნივთიერება სვეტში დიდი დროის განმავლობაში რჩება.

4) მოლეკულების წინააღმდეგობა მასის გადატანის მიმართ-სტაციონალური ფაზის გამოყენება ნაწილაკების მცირე ზომით და თხელი ფორებით, მოცულობითი სიჩქარის შემცირება, სვეგტის ტემპერატურის მომატება ამცირებს ამ ეფექტის გავლენას.

სითხურ ქრომატოგრაფიაში ასე გამოიყურება ვან-დეემტერის განტოლება: **$H=A+B/u+Cu$**

და მისი მოდიფიცირებული ვარიანტი ნოქსის განტოლება: **$H=A*u^{1/3}+B/u+C*u$**

$A=2\lambda dp$ **$B=2\gamma d$** მოძრ **$C=2\omega dp^2/D$** მოძრ

H - თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე;

dp- ნაწილაკების საშუალო დიამეტრი;

D მოძრ- მოძრავ ფაზაში დიფუზიის კოეფიციენტი;

ω და λ -გეომეტრიული ფაქტორები;

γ-დიფუზიის კოეფიციენტი;

A- გრიგალისებური დიფუზიის კოეფიციენტი;

B- გრძივი დიფუზიის კოეფიციენტი;

C-მასის გადატანის დიფუზიის კოეფიციენტი;

U-ნაკადის სიჩქარე.

ვან-დეემტერის განტოლება გვიჩვენებს რომ ძირითადი პარამეტრები, რომლებიც თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლის განმსაზღვრელი პარამეტრებია, ესენია: 1) მოძრავი ფაზის მოცულობითი სიჩქარე, 2) სორბენტის ნაწილაკების დიამეტრი, 3)შევსების ხასიათი და გემეტრია, 4) დიფუზიის კოეფიციენტი.

2.3 ძირითადი ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები

შეკავების დრო t_R - ეს არის დრო ნიმუშის სვეტში შეყვანის მომენტიდან ქრომატოგრამაზე პიკის მაქსიმუმის მიღწევამდე : [1]

$$t_R = t_0 + t_{R'}$$

t_0 - არის არაადსორბირებადი კომპონენტის მიგრაციის დრო;

$t_{R'}$- წარმოადგენს სტაციონალურ ფაზაზე ყოფნის დროს და იგი განსხვავებული უნდა იყოს დასაყოფი ნარევის კომპონენტებისთვის.

შეკავების მოცულობა v_R - ეს არის მოძრავი ფაზის მილილიტრების რიცხვი ,რომელიც უნდა გავატაროთ სვეტში რათა ელუირდეს :

$$v_R = F\, t_R$$

F - მოძრავი ფაზის მოცულობითი სიჩქარეა.

სვეტის მკვდარი მოცულობა : V_M- ეს არის სვეტში მოძრავი ფაზის საერთო მოცულობა დეტექტორის ფანჯრამდე

$$V_M = t_0 F$$

V_M- არაადსორბირებადი კომპონენტის ელუენტური მოცულობა.

შეკავების ფაქტორის გამოსათვლელი ფორმულაა:

$$k = t_{R'} / t_0 = (t_R - t_0) / t_0$$

დაყოფის ფაქტორი ანუ სელექტიურობა :

$$\alpha = k_2 / k_1$$

სადაც $\boldsymbol{k}$ არის შეკავების კოეფიციენტი ანუ შეკავების ფაქტორი. თუ კომპონენტებს განსხვავებული $\boldsymbol{k}$ არ აქვთ, ორკომპონენტიანი ნარევი ვერ დაიყოფა. თუ $\boldsymbol{\alpha}$ =1 მაშინ არავითარ დაყოფას არ აქვს ადგილი, ვინაიდან შეკავების დროები იდენტურია.

ორი მეზობელი პიკის **გარჩევითობა** R_S გამოითვლება პიკების მაქსიმუმებს შორის მანძილის ფარდობით პიკების სიგანეების ჯამთან :

W – არის პიკის სიგანე ფუძესთან.

$$R_S = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2}$$

თეორიული თეფში -ქრომატოგრაფიული სვეტის ეფექტურობის მახასიათებელია, სვეტის წარმოსახვითი ნაწილი, სადაც ხორცილედება ადსორბცია-დესორბციის ერთი აქტი. ეს არის ძალიან კარგი მეთოდი იმისათვის, რომ სვეტის ეფექტურობა დავახასიათოთ . თეორიული თეფშების რიცხვი შემდეგნაირად გამოითვლება:

$$N = 16\,(t_R / W)^2$$

$$N = 5,54 * (t_R / W_{0.5})^2$$

სადაც $W_{0.5}$ არის პიკის სიგანე პიკის ნახევარ სიმაღლეზე.

თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე H - ეს არის მანძილი, რომელზედაც მიიღწევა ქრომატოგრაფიული წონასწორობა, იგი გამოითვლება ფორმულით :

$$H = L/N$$

სადაც L არის სვეტის სიგრძე.

2.4 პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების მიმოხილვა

დღეისათვის არსებობს მრავალი სხვადასხვა ტიპის ქირალური სელექტორი [2] ენანტიომერების თხევად-ფაზური დაყოფისათვის. ნებისმიერი დაბალი ან მაღალი მოლეკულური მასის მქონე ქირალურ ნივთიერება, რომელსაც აქვს უნარი წარმოქმნას არაკოვალენტური მოლეკულათაშორისი ენანტიოსელექტიური კომპლექსი, შეიძლება გამოყენებული იქნას როგორც ქირალური სელქტორი ენანტიომერების თხევადფაზური დაყოფისთვის. ბოლო 50 წლის განმავლობაში ასეულობით ქირალური სელექტორია აღწერილი . მიუხედავად შესწავლილი ქირალური სელექტორის დიდი რიცხვისა, მათგან მხოლოდ რამდენიმეს კომერციალიზაცია მოხდა. გარდა ზემოთ აღნიშნული ქირალური სელექტორის უნარისა, წარმოქმნას მოლეკულათაშორისი კომპლექსები ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებთან, არის კიდევ რამდენიმე კრიტერიუმი, რომლებსაც უნდა პასუხობდეს ქირალური სელექტორი, რათა მოხდეს მისი წარმატებით გამოყენება თხევადფაზური დაყოფებისათვის. ქირალურ სელექტორს ს უნდა ჰქონდეს თვისება, გამოყენებული იქნას უნივერსალურად სხვადასხვა მოძრავ ფაზებში, როგორებიცაა პირდაპირი და შებრუნებული ფაზები, პოლარულ-ორგანული ფაზები და ზეკრიტიკული სითხეები. ასევე უნდა გააჩნდეს მრავალრიცხოვანი განსხვავებული სტრუქტურების მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიოსელექტიური გამოცნობის უნარი. პოლისაქარიდების ნაწარმები კარგად აკმაყოფილებს ამ კრიტერიუმებს.

2.6 აპარატურა მაღალ ეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში

აპარატურა , მაღალ ეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში რამდენიმე ძირითადი [2] ბლოკისაგან შედგება. ეს ბლოკებია : ტუმბო, ინჯექტორი, სვეტი, დეტექტორი და მონაცემების ჩამწერი მოწყობილობა.

მაღალ ეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება სხვადასხვა ზომის მქონე სვეტები, რომლებიც შევსებულია იმ სტაციონალური ფაზით, რომელიც საჭიროა კონკრეტული ანალიზისთვის. არსებობს სხვადასხვა ტიპის დეტექტორები, ჩვენს შემთხვევაში გამოყენებულ იქნა ულტრაიისფერ-ხილული სინათლის აბსორბციის დეტექტორი, შემოკლებით უ.ი დეტექტორი. ის კიუვეტაში გამავალი ხსნარის მიერ

სინათლის აბსორბციას აფიქსირებს. აღსანიშნავია ასევე სვეტის თერმოსტატი, რომელშიც შეიძლება მოთავსდეს ერთი, ორი ან რამდენიმე სვეტი და მათ შორის მოხდეს ავტომატური გადართვა. სითხურ ქრომატოგრაფებში ხშირად გამოიყენება დეგაზატორის ბლოკი, რომელიც აცილებს მოძრავ ფაზაში გახსნილ აირებს, იმისთვის რომ ანალიზზე არ მოახდინოს გავლენა. ხელსაწყოს მართვა, მონაცემების ჩაწერა, მონაცემთა დამუშავება ხდება სპეციალური კომპიუტერული პროგრამული უზრუნველყოფის საშუალებით. რაც შეეხება ტუმბოებს, არსებობს გრადიენტული და იზოკრატიული ტუმბოები. იზოკრატიული გამოიყენება იმ შემთხვევაში როდესაც არ არის საჭირო მოძრავი ფაზის შემადგენლობის გრადიენტული ცვლილება. გრადიენტული კი იმ შემთხვევაში გამოიყენება თუ ანალიზის ჩატარებისას საჭიროა ორგანული და არაორგანული ფაზების ცვლილება.

2.5 ზედაპირულად ფოროვანი სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებული პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზის უპირატესობები

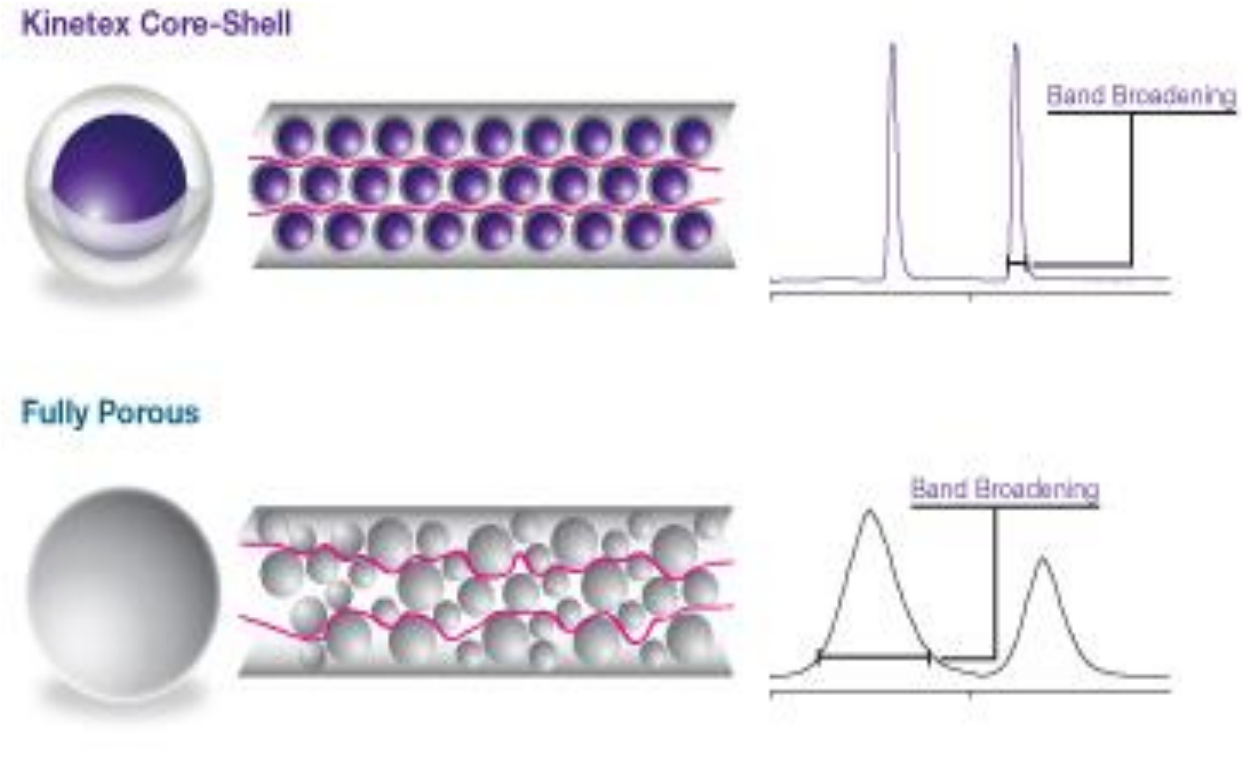
ფორიანი ზედაპირის მქონე გლუვი სილიკაგელის სარჩულზე მომზადებულ სვეტებს აღმოაჩნდა მნიშვნელოვანი უპირატესობები ტრადიციულ მთლიანად ფორიან სილიკაგელის სარჩულზე მომზადებულ სვეტებთან შედარებით.

დაწვრილებით განვიხილოთ ახალი ტიპის სტაციონალური ფაზის [3] უპირატესობები. თავიდან ნაწილაკების საშუალო ზომა იყო 100 მკმ-ის ფარგლებში, შემდეგ ზომა შემცირდა 50-40 მკმ-დე, შემდეგ 20, 10, 5 . ბოლოს უკვე მიღებული იყო ნაწილაკები 1 მკმ-ზე ნაკლები ზომით, თუმცა ასეთი ნაწილაკები არაეფექტური აღმოჩნდა , ვინაიდან ასეთი მცირე ზომის ნაწილაკებს არ გააჩნიათ ფორები და ასეთი სტრუქტურის ნაწილაკები კარგი დაყოფის შესაძლებლობას არ იძლევა. ფოროვანი სილიკაგელი არის ორი ტიპის : 1) ფოროვანი ზედაპირის მქონე გლუვი სილიკაგელი და 2) სრულად ფოროვანი სილიკაგელი. მისი ნაკლია ის რომ ვან-დეემტერის C და A წევრები არის მაღალი. ეს პრობლემა გადაწყდა სიახლის გამოჩენით, ეს სიახლე იყო ზედაპირულად ფოროვანი გლუვი სილიკაგელის ე.წ **Core-shell** ტიპის ნაწილაკები, რომელთაც დიდი წარმატება მოიპოვეს ქრომატოგრაფიაში იყო 2.7 მკმ ზომის, აქედან 1.7 გლუვი ზედაპირი და მასზე დაფენილი 0.5 მკმ სისქის ფოროვანი სტრუქტურა.

როგორც ვიცით არსებობს კონცენტრაციული პროფილის ორი თავისებურება, რომლებიც ძალიან მნიშვნელოვანია სვეტის ეფექტურობისათვის. ეს არის პიკის მაქსიმუმი ანუ ქრომატოგრამაზე მაქსიმალური კონცენტრაციის წერტილი და პიკის სიგანე. ეს მნიშვნელოვანია სვეტის ეფექტურობისა და გარჩევითობისათვის. შეიძლება პიკის მაქსიმუმები ძალიან კარგად იყვნენ განცალკევებულები, მაგრამ ისეთი სიგანე ჰქონდეთ რომ კომპონენტები შეიძლება დაუყოფელნი დარჩნენ. გარჩევითობა ზოგადად არის ორი სიგნალის გაყოფის შესაძლებლობა, გარჩევითობა რომ დამაკმაყოფილებელი იყოს ორი მეზობელი პიკი ფუძისეულად უნდა იყოს გამოყოფილი ერთმანეთისაგან. ასეთი გამიჯვნა დამოკიდებულია მოძრავი და სტაციონალური ფაზის აღნაგობაზე და სელექტიურობაზე.

ქრომატოგრაფიაში სვეტის ეფექტურობა განისაზღვრება თეორიული თეფშების რიცხვით. სვეტის ეფექტურობა რომ იყოს მაღალი ამისათვის უნდა გაიზარდოს თეორიული თეფშების რიცხვი, პიკები კი უნდა იყოს ვიწრო და რაც შეიძლება მაღალი. სვეტში არის ოთხი წყარო იმისა რომ მოხდეს პიკის გაფართოვება. გვაქვს ორი სახის დიფუზია და მასის გადაადგილების წინააღმდეგობა და გვაქვს კიდევ ერთი წყარო დინების არაერთგვაროვნება. გრიგალისებური დიფუზია გამოწვეულია სვეტის არათანაბარი შევსებით და ნაწილაკთა არაერთგვაროვნებით. გრიგალისებური დიფუზიის და დინების არაერთგვაროვნების ეფექტი მინიმალურია, როცა სვეტი თანაბრად არის შევსებული მცირე დიამეტრის ნაწილაკებით და ნაწილაკების ზომები დაახლოებით თანაბარია. რაც შეეხება გრძივ დიფუზიას, ეს არის ნიმუშის მოლეკულების განაწილება მოძრავ ფაზაში. ეს ეფექტი სითხურ ქრომატოგრაფიაში მცირეა ვინაიდან სითხეებში დიფუზიის კოეფიციენტები დაბალი მნიშვნელობისაა. ეს ეფექტი მაშინ არის შესამჩნევი, როდესაც ნიმუში დიდი დროის მანძილზე რჩება სვეტში. სიჩქარე ისე უნდა შეირჩეს მოძრავი ფაზის, რომ გრძივი დიფუზიის გავლენა იყოს მინიმალური. რაც შეეხება მასის გადატანის წინააღმდეგობას, თუ სტაციონალურ ფაზას გამოვიყენებთ ნაწილაკების მცირე ზომით და თხელი ფორებით, მაშინ მცირდება ამ ეფექტის გავლენა. სვეტის ტემპერატურის მომატებითაც მცირდება ეს ეფექტი, ვინაიდან მცირდება სიბლანტე. ე.ი , იმისათვის რომ გავაუმჯობესოთ სვეტის ეფექტურობა ,პირველ რიგში, უნდა გავზარდოთ N, ამისათვის კი უნდა შევამციროთ H, ამ უკანასკნელისთვის კი უნდა შევამციროთ A და C კოეფიციენტები.

სქემა #1-ზე შედარებულია ზედაპირულად ფოროვანი და სრულად ფოროვანი სტაციონალური ფაზები, პირველ შემთხვევაში როგორც ვხედავთ ნიმუშის მიერ გავლილი გზა ნაკლებია, მიღებული პიკი ვიწრო და მაღალია;



სქემა #1 *სრულიად ფოროვანი და ზედაპირულად ფოროვანი სილიკაგელის შედარება*

ზედაპირულად ფოროვანი ქირალური სელექტორის (ზფქს) ტიპის სვეტისთვის A კოეფიციენტის მნიშვნელობა შემცირებულია, შესაბამისად მცირდება H-ც, ეს ყველაფერი კი ხელს უწყობს თეორიული თეფშების რიცხვის გაზრდას, ე.ი ამით იზრდება სვეტის ეფექტურობა. ეს არის ზედაპირულად ფოროვანი გლუვი სილიკაგელის (ზფგს) ერთ-ერთი უპირატესობა.

მასის გადაადგილების წინააღმდეგობა როგორც აღვნიშნეთ იზრდება ნაწილაკები ზომის გაზრდით, **core-shell** ნაწილაკებს აქვს მცირე ზომა და შესაბამისად აქ C კოეფიციენტის მნიშვნელობაც მცირეა.

დიფუზია მყარ ზედაპირზე არსებული თხელი ფოროვანი გარსის შემთხვევაში არის უფრო ჩქარი, ვიდრე მთლიანად ფოროვანი ნაწილაკისთვის. ამასთანავე დიფუზიის ამგვარმა აჩქარებამ შეიძლება განაპირობოს სტაციონალურ ფაზასა და მოძრავ ფაზას შორის ნიმუშის განაწილების წონასწორობის სწრაფი მიღწევა. ამ ტიპის სვეტების წარმატების მიზეზი გახდა

თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლის (თთეს) მცირე მნიშვნელობა, ე.ი მათი ეფექტურობა რაც განპირობებული იყო გრძივი დიფუზიისა და გრიგალისებური დიფუზიის მცირე მნიშვნელობით.

ზფგს ტიპის სვეტის უპირატესობა გამოიკვეთება ანალიზების მოძრავი ფაზის მაღალ სიჩქარეზე ჩატარებისას. საერთოდ ანალიზის სიჩქარის გაზრდისას თეორიული თეფშების სიმაღლე იზრდება, შესაბამისად იკლებს სვეტის ეფექტურობა ანუ თეორიული თეფშების რიცხვი, თუმცა ზფგს ტიპის სვეტის შემთხვევაში ანალიზის სიჩქარის გაზრდისას თეორიული თეფშების სიმაღლე გაცილებით ნელა იზრდება, რაც საშუალებას იძლევა ჩატარდეს ანალიზები მაღალ სიჩქარეზე ეფექტურობის მინიმალური დანაკარგით, ახალი ტიპის სვეტების გამოყენება საშუალებას გვაძლევს ეფექტურობის დაკარგვის გარეშე ჩავატაროთ ანალიზები გაცილებით სწრაფად, რაც დროის ეკონომიის საშუალებას იძლევა.

ნათლად ჩანს ზფგს-ის ტიპის სვეტების პოტენციალი და უპირატესობა ტრადიციული ფორიანი სილიკაგელის სვეტებთან შედარებით, განსაკუთრებით ანალიზის მაღალ სიჩქარეებზე. მაღალია თეორიული თეფშების რიცხვი, მცირეა ენანტიომერების შეკავების დრო და სვეტის ეფექტურობა ნაკლებადაა დამოკიდებული მოძრავი ფაზის ნაკადის ხაზოვან სიჩქარეზე.

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 გამოყენებული აპარატურა

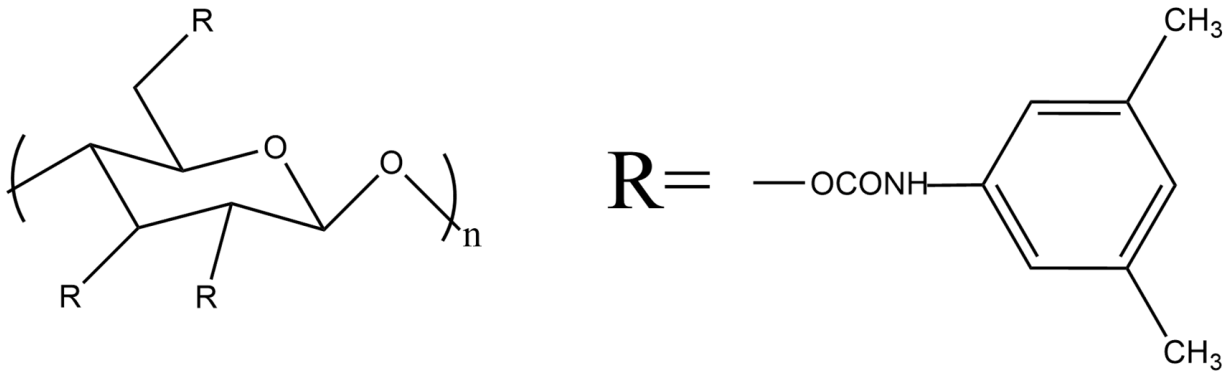
ექსპერიმენტში გამოყენებულ იქნა Agilent 1290 სერიის ულტრა-მაღალი ეფექტურობის სითხური ქრომატოგრაფი (U-HPLC), სადაც გვაქვს ბინარული (გრადიენტული) ტუმბო, ულტრაიისფერი დეტექტორი, სვეტის თერმოსტატი, ხელსაწყოს მართვის და მონაცემთა დამუშავების პროგრამა. ამ ხელსაწყოს მაქსიმალური წნევა არის 1200 ბარი, სიხშირე 80 ჰერცი, ტალღის სიგრძე 110-900 ნმ. უნდა აღინიშნოს რომ მოხდა ხელსაწყოს ოპტიმიზაცია ექსპერიმენტის განხორციელებისას, კერძოდ, შემცირდა კაპილარის სიგრძე და კიუვეტის მოცულობა.

3.2 გამოყენებული სვეტები

1) 2% sp-1 CS 3.6 მკმ 300 Å 50x4.6 მმ 2) 2% sp-1 CS 3.6მკმ 600 Å 100x4.6 მმ

3.3 გამოყენებული ქირალური სტაციონარული ფაზები

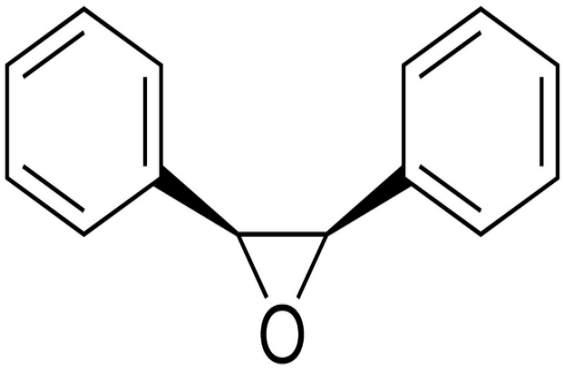
ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილ კარბამატი)



სურათი #2. *სტრუქტურული ფორმულა გამოყენებული სტაციონალური ფაზისა*

3.4 საკვლევი ნივთიერება

საკვლევი ნივთიერება იყო *ტრანს*-სტილბენის ოქსიდი. უნდა აღინიშნოს რომ ვინაიდან გამოყენებულია ახალი ტიპის სვეტები ზედაპირულად ფოროვანი სტაციონალური ფაზით, ასეთი ტიპის სტაციონალურ ფაზაზე ყველა ნივთიერება არ იყოფა. არის გარკვეული რაოდენობა ნივთიერებებისა, რომლებიც იყოფა ამ სვეტებზე და აქედან ერთ-ერთია *ტრანს*-სტილბენის ოქსიდი. მისი ფორმულაა ***C14H120.*** მისი სტრუქტურაა :



3.5 ექსპერიმენტში გამოყენებული ელუენტები

ჰექსანი/იზოპროპანოლი თანაფარდობით 95/5

ჰექსანი/იზოპროპანოლი თანაფარდობით 98/2

3.6 ანალიზის პირობები

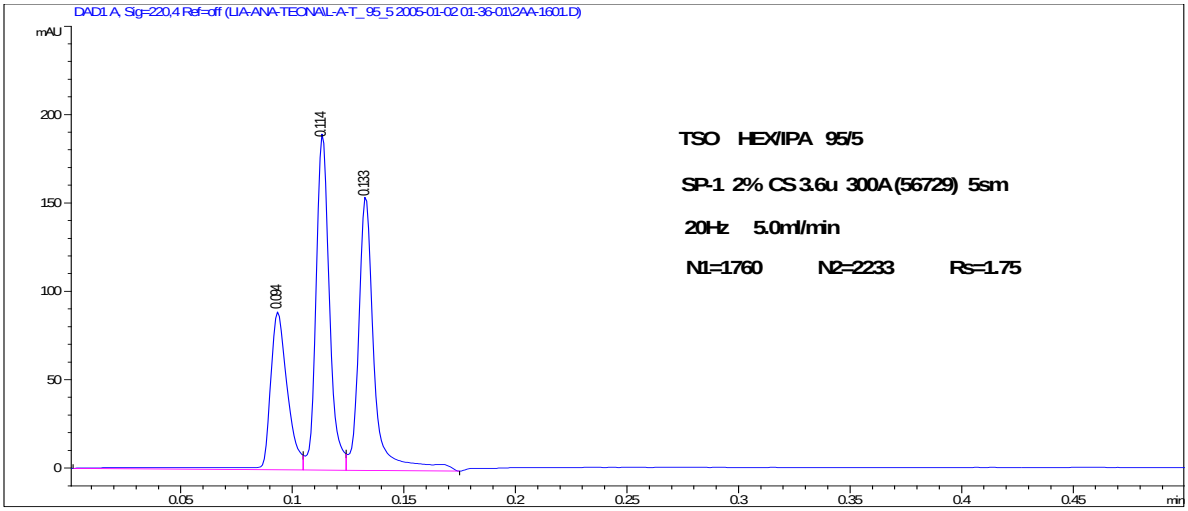
ანალიზები ტარდებოდა შემდეგ სიჩქარეებზე : 0.1; 0.2; 0.3; 0.5; 0.7; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 3.5; 4; 4.5; 5 მლ/წთ, შემდეგ სიხშირეებზე : 5; 20; 80 ჰერცებზე. გამოყენებული ტალღის სიგრძე იყო 220 ნმ. ანალიზები ტარდებოდა ოთახის ტემპერატურაზე .

5. შედეგები და განსჯა

5cm-ჰექსანი/იზოპროპანოლი -95/5

20 Hz

tR1 =0.114წთ =6.84წმ tR2 =0.133 წთ=7.98 წმ

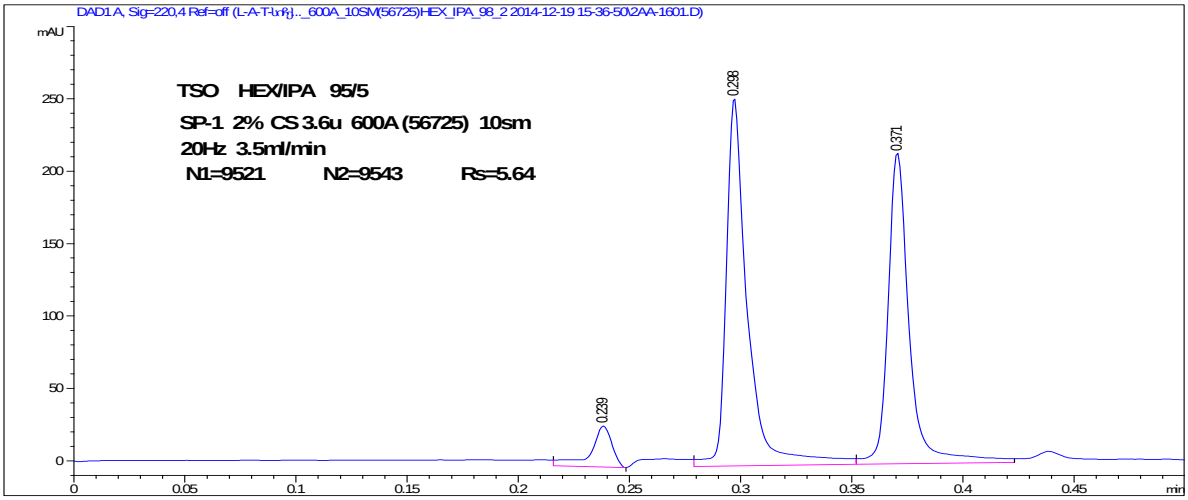


სურათი #3 *ტრანს -სტილბენის ოქსიდის (ტსო) ენანტიომერების დაყოფა, 5 სმ-იან სვეტზე, ფაზა ჰექსანი/იზოპროპანოლი 95/5-თან, სიჩქარე 5 მლ/წთ, სიხშირე 20 ჰერცი, ინიცირებული ნიმუშის მოცულობა 1მკლ.*

10cm-600 Å ჰექსანი/იზოპროპანოლი-95/5

20 Hz

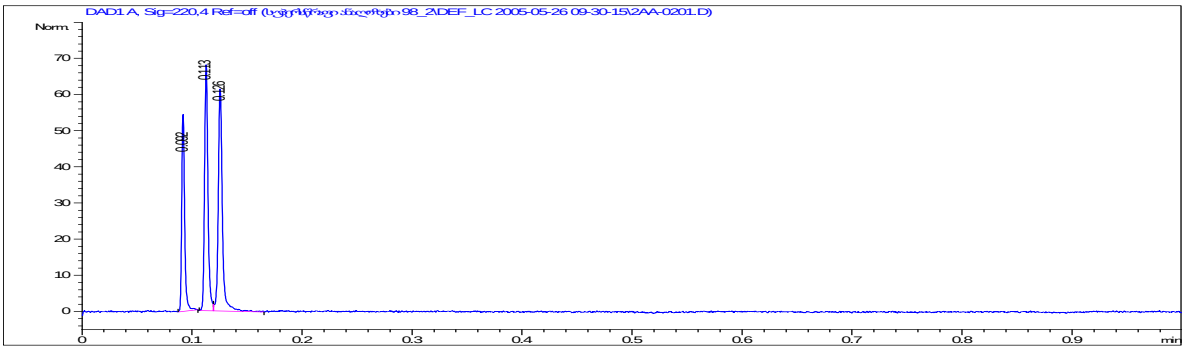
tR1 =0.298 წთ =17.88წმ tR2 =0.371 წთ=22.26 წმ



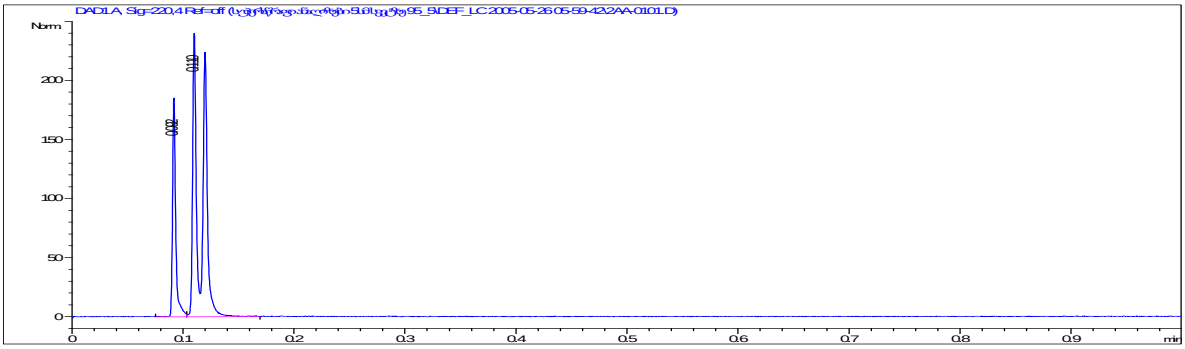
სურათი #4 *ტსო-ს ენანტიომერების დაყოფა 10 სმ-იან სვეტზე, ფაზა ჰექსანი/იზოპროპანოლი 95/5-თან, სიჩქარე 5 მლ/წთ, სიხშირე 20 ჰერცი,ინიცირებული ნიმუშის მოცულობა 1,5 მკლ.*

ანალიზი დასრულებული არის ძალიან მოკლე დროში, დაყოფები კი თითქმის ფუძისეულია. მიუხედავად იმისა რომ ანალიზი ჩატარებულია მაღალ სიჩქარეზე, ეს ფაქტი დაყოფაზე ძალიან ცუდ გავლენას არ ახდენს.

სურათ # 5-ზე ა) ბ)-ზე შედარებულია ერთმანეთთან ტსო-ს ანალიზის შედეგები ფაზაში ჰექსანი/იზოპროპანოლი თანაფარდობით 98/2-თან და ჰექსანი/იზოპროპანოლი თანაფარდობით 95/5-თან. როგორც ჩანს იზოპროპანოლის წილის გაზრდისას ანალიზის სისწრაფე იმატებს, დაყოფა კი უარესდება.



სურათ # 5 ა) ჰექსანი/იზოპროპანოლი 98/2-თან *სიჩქარე 5მლ/წთ, სიხშირე 80 ჰერცი, 5 სმ-იანი სვეტი, ინიცირებული ნიმუშის მოცულობა 0,5 მკლ.*



სურათ # 5 ბ) ჰექსანი/იზოპროპანოლი 95/5-თან *სიჩქარე 5მლ/წთ, სიხშირე 80 ჰერცი, 5 სმ-იანი სვეტი, ინიცირებული ნიმუშის მოცულობა 1 მკლ.*

ქვემოთ მოცემულია ცხრილები, სადაც აღწერილია თეორიული თეფშების რიცხვი ნაკადის სიჩქარის მიხედვით გაანგარიშებული 1 მეტრზე , ამ ცხრილებიდან ჩანს რომ სიჩქარის ზრდისას თეორიული თეფშების რიცხვი მკვეთრად არ ეცემა.

სურათი #6. ა)

ა) **5სმ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი-95/5**
20 ჰერცი

ml/min	N1	N2
1	122388	97081.44
1.5	109360.4	92322.49
2	72820.32	60844.44
2.5	70486.58	88011.11
3	61841.98	77701.56
3.5	60078.47	57001.56
4	45595.33	56916.33
4.5	35331.63	44100
5	39998.8	36100

5სმ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი-95/5
80 ჰერცი

N1	N2
124127.1	125465.1
132227.4	119822.5
111107.8	113569
117547.5	113064.1
112280.4	102400
117753.8	102400
139635.7	111556
108203.1	85264
89997.3	112225

5სმ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი-98/2
20 ჰერცი

ml/min	N1	N2
1	123111.1	128232.2
1.5	109360.4	69344.44
2	94472.51	60844.44
2.5	78791.11	87353.09
3	69250	76314.06
3.5	48282.83	122500
4	67415.64	66736.11
4.5	53627.2	52900
5	61711.17	93025

5სმ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი-98/2
80 ჰერცი

N1	N2
131455.3	128915.2
131879.7	131147.4
131455.3	118711.6
140198.2	144400
130608.6	99225
138850.1	96100
105109.3	99225
128084.8	111556

სურათი #6. ბ)

10სმ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი-98/2
20 ჰერცი

ml/min	N1	N2
1	13801.23	14503.87
1.5	13319.06	13770.21
2	11081.51	12362.78
2.5	9395.52	11181.87
3	8368.527	10227.32
3.5	7135.588	9421.216

10სმ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი-98/2
80 ჰერცი

N1	N2
15054.94	15229.81
15524.92	14509.43
14455.39	13499.38
13973.38	12789.1
13559.96	12353.86
13595.49	11918.65

10სმ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი-95/5
20 ჰერცი

ml/min	N1	N2
1	13639.76	15080.53
1.5	12419.2	14104.41
2	10523.27	12671.83
2.5	8695.966	11502.09
3	7549.41	10434.92
3.5	6499.857	9413.965

10სმ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი-95/5
80 ჰერცი

N1	N2
14174.6	15474.72
14298.39	15200.45
13185.09	14019.68
11950.26	13641.73
11927.4	13295.44
11294.17	12601.04

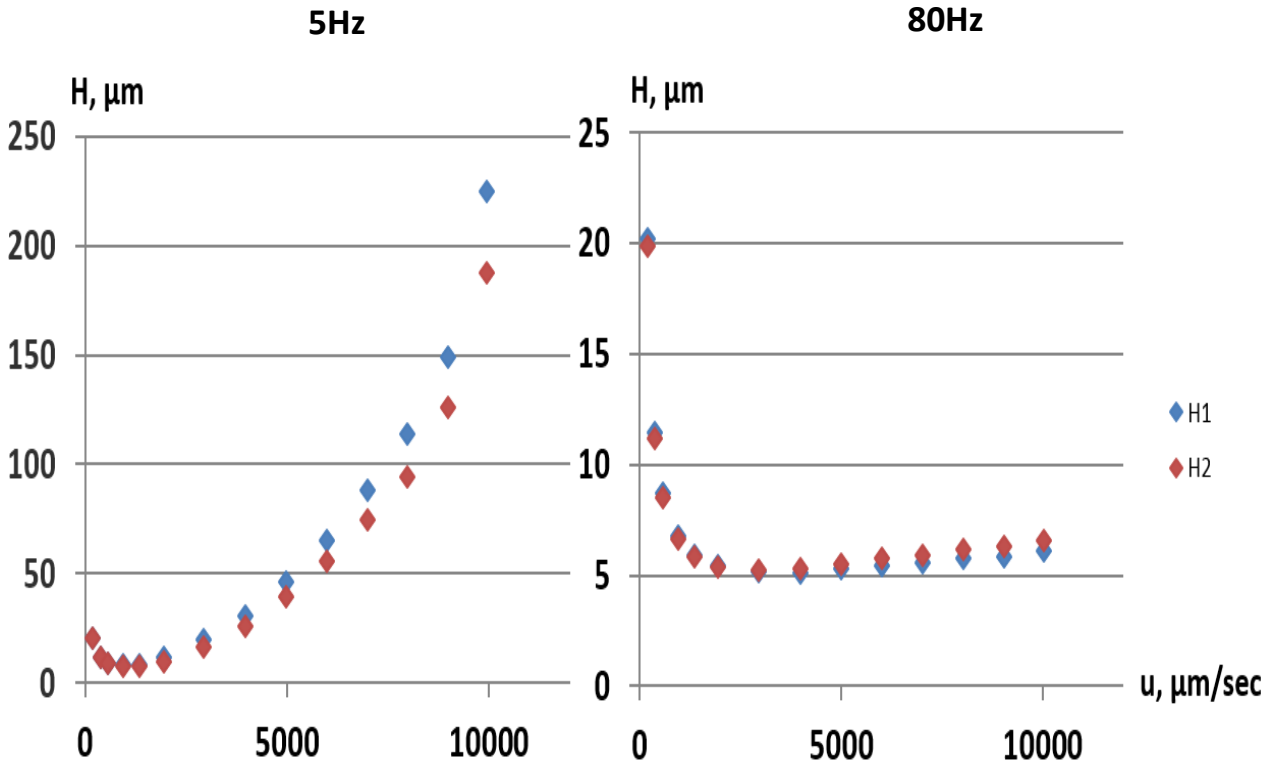
სურათ # 6-ზე ა) ბ) *მოცემულია თეორიული თეფშების რიცხვი (თთრ) სიჩქარის მიხედვით, 5 და 10 სმ-იანი სვეტებისათვის, ფაზის ორივე თანაფარდობისთვის ჰექსანი/იზოპროპანოლი 95/5 და 98/2 -ისთვის და ორივე სიშირისთვის 20 და 80 ჰერცებისთვის*

ჩანს რომ სიჩქარის ზრდასთან ერთად მცირდება თთრ, თუმცა მკვეთრად არა და სვეტი ეფექტურობას არ კარგავს. როგორც ვხედავთ 80 ჰერცზე გვაქვს უფრო მაღალი თთრ. როგორც ვიცით პიკი ეს არის წერტილების ერთობლიობა,რაც უფრო მაღალია სიხშირე ანუ მონაცემების დაფიქსირების სიჩქარე, მით უფრო მეტი წერტილის დაფიქსირებაა შესაძლებელი და მით უფრო სწორი ქრომატოგრაფიული სურათი მიიღება. სწორი ქრომატოგრაფიული სურათი კი მიიღება მაღალ სიხშირეზე და შესაბამისად გვაქვს მაღალი თთრ.

ვან-დეემტერის მრუდები

10სმ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი-95/5

სურათი #7.



სურათი #7. *10სმ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი-95/5 5 და 80 ჰერცი, ტრანს-სტილბენის ოქსიდი*

ამ ორ მრუდზე ნაჩვენებია თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლის დამოკიდებულება სიჩქარეზე ტსო-სთვის, ფაზა ჰექსანი/იზოპროპანოლი 95/5-თან, 10 სმ-იანი სვეტეისთვის, სიხშირე 5 და 80ჰერცი. სიჩქარის ზრდასთან ერთად იზრდება თთეს, მაგრამ მნიშვნელოვნად არ იზრდება, ეს კი იმას ნიშნავს რომ თეორიული თეფშების რიცხვი ძალიან არ მცირდება, ეს ყველაფერიც იმას ადასტურებს რომ სვეტი ეფექტურობას ინარჩუნებს.

6. დასკვნები

საბოლოოდ შეიძლება ითქვას :

- ❖ თეორიული თეფშების რიცხვი (**N**) მნიშვნელოვნად არ მცირდება ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე.
- • შედარებით მცირე თთეს - H;
- • მცირე C კოეფიციენტი;
- ❖ სუპერსწრაფი დაყოფები;
- ❖ იმისათვის რომ შევინარჩუნოთ ზედაპირულად ფოროვანი სტაციონალური ფაზების უპირატესობები უნდა ვიმუშაოთ მაღალი სიხშირის დეტექტორებზე;

სახეზეა ზედაპირულად ფოროვანი სტაციონალური ფაზების უპირატესობა, ეს ფაზები ბევრად ეფექტურ შედეგებს იძლევა.

7 . გამოყენებული ლიტერატურა

[1] მარინა რუხაძის სალექციო კურსი (ნარევთა დაყოფის ინსტრუმენტალური მეთოდები, 2014 წელი)

[2] გიორგი ჯიბუტის სადისერტაციო ნაშრომი :
(ქირალური ნივთიერბების დაყოფის ოპტიმიზაცია მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით, თსუ 2014 წელი)

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