

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

ანა ბარდაველიძე

**ზედაპირულად ფოროვან სილიკაგელზე ცელულოზას
ფენილკარბამატების დაფენით, ან კოვალენტური
იმობილიზაციით მომზადებული ქირალური სტაციონარული
ფაზების გამოყენება ენანტიომერების დასაყოფად ზემადალი
ეფექტურობის სითხურ ქრომატოგრაფიაში**

**ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი
ფიზიკური და ანალიზური ქიმიის კათედრა
სამაგისტრო პროგრამა: ქიმიური ექსპერტიზა**

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიის მაგისტრის ხარისხის მოსაპოვებლად

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

თანახელმძღვანელი: ქიმიის მეცნიერებათა აკადემიური დოქტორი, ასისტენტ-
პროფესორი **ნინო თაყაიშვილი**

თბილისი,

2020 წელი

ანოტაცია

ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა მეტად მნიშვნელოვანია, რაც ხშირ შემთხვევაში განპირობებულია მათი განსხვავებული ფიზიოლოგიური მოქმედებით. ენანტიომერების ანალიზის ყველაზე ფართოდ გამოყენებულ მეთოდს წარმოადგენს მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია. რთულია ისეთი ქირალური სელექტორების მოძებნა, რომელთაც ექნება ნივთიერებათა დიდი ჯგუფის დაყოფის უნარი. აღსანიშნავია, რომ ყველაზე ხშირად გამოყენებად ქირალურ სელექტორს წარმოადგენს პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზები.

ნაშრომში განხილულია ზედაპირულად ფოროვანი სტაციონალური ფაზების უპირატესობები ტრადიციულად გამოყენებულ მთლიანად ფოროვან უძრავ ფაზებთან შედარებით. მოტანილია შედეგები, რომლებიც მიღებულ იქნა ახალი სტაციონალური ფაზით მომზადებული სვეტების საშუალებით, ასევე ცხრილები და ვან დემტერის მრუდები, რომლებიც ნათლად ასახავს ამ ტიპის სვეტების გამოყენებით ზესწრაფი ანალიზების ჩატარების შესაძლებლობას. აღსანიშნავია, რომ ნაკადის სიჩქარის ზრდისას შედეგი მკვეთრად არ უარესდება და მაღალ სიჩქარეებზე სვეტი არ კარგავს ეფექტურობას. სამუშაო ასევე ეძღვნება ახალი ტიპის სტაციონალური ფაზის შესწავლას, რომელიც მომზადებულია ზედაპირულად ფოროვან სილიკაგელზე პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის იმობილიზაციის (კოვალენტური შეკავშირების) გზით. ნაშრომში აღწერილია ამ ტიპის უძრავი ფაზის გამოყენებით ენანტიომერების ფუძისეული და მაღალეფექტური დაყოფები მეთანოლში, აცეტონიტრილსა და ნ-ჰექსან/იზოპროპანოლის ნარევიში.

Summary

Separation of enantiomers of chiral compound's 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 a 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 advantages of superficially porous stationary phases (core-shell) over traditional fully porous phases are described. It is shown, how efficient and fast separation of enantiomers can be performed. Experimental results, performed on core-shell type chiral stationary phases, tables and van-Deemter plots demonstrate that it is possible to perform superfast separations without significant loss of separation efficiency.

In this study we report also the CSP obtained by covalent immobilization of a polysaccharide-type chiral selector onto the surface of superficially porous silica particles. The applicability of this CSP for the separation of enantiomers in pure methanol and acetonitrile, as well as in n-hexane/2-propanol mobile phases is shown.

შინაარსი

ანოტაცია	2
1. შესავალი	6
2. ლიტერატურული ნაწილი	
2.1 ქრომატოგრაფია.....	7
2.2 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია	9
2.3 ძირითადი ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები	11
2.4 ქრომატოგრაფიული ზონის გაფართოების მიზეზები. ვან დემტერის განტოლება.....	14
2.5 ვან დემტერის მრუდი.....	17
2.6 პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების მიმოხილვა.....	20
2.7 ზედაპირულად ფოროვანი სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებული პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზის უპირატესობები.....	21
3. ექსპერიმენტული ნაწილი	
3.1 გამოყენებული აპარატურა.....	25
3.2 გამოყენებული სვეტები.....	26
3.3 გამოყენებული ქირალური სტაციონარული ფაზები.....	27
3.4 საკვლევი ნივთიერებები.....	28
3.5 ექსპერიმენტში გამოყენებული ელუენტები.....	29
3.6 ანალიზის პირობები.....	29
3.7 სამუშაოს მიზნები.....	29
4. შედეგები და განსჯა.....	31

5. დასკვნები.....	47
6 . გამოყენებული ლიტერატურა.....	48

1. შესავალი

თანამედროვე ქიმიაში ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა აქტუალური პრობლემაა. აქტუალობას კი ის განაპირობებს, რომ ქიმიური ნივთიერებების ენანტიომერებს ხშირ შემთხვევაში აქვს განსხვავებული ფიზიოლოგიური მოქმედება. ამიტომ მნიშვნელოვანია ასეთი ნივთიერებების ანალიზი და ენანტიომერულად სუფთა სახით მიღება. ქირალურ ნივთიერებებს განეკუთვნება ქირალური სამკურნალო საშუალებები, საკვების დანამატები, სასოფლო-სამეურნეო მხამქიმიკატები და სხვა. ენანტიომერები არის სივრცული იზომერები - ისინი ერთმანეთისგან განსხვავდება ქირალურ ცენტრთან 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 მეთოდი.

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია ენანტიომერული ნარევების დაყოფის ყველაზე ფართოდ გამოყენებული მეთოდია და აღიარებულია როგორც ძირითადი მეთოდი ქირალური სამკურნალო საშუალებების ანალიზისთვის. ამას განაპირობებს მისი უნივერსალურობა, სიმარტივე, ქირალური სტაციონალური ფაზების (ქსფ) ფართო არჩევანი 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 უპირატესად ნაწილდება სტაციონალურ ფაზაში, მოძრაობს უფრო ნელა, ვიდრე კომპონენტები, რომლებიც მეტად ნაწილდება 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, ქსანთოფილების და 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. ნარევი სვეტში გადაადგილება 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 ხვდება დეტექტორში, რომლის საშუალებით ატარებენ კომპონენტების თვისებით და რაოდენობრივ იდენტიფიკაციას. ჩაიწერება დეტექტორის 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 მეთოდი 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 ენანტიომერების დაყოფისთვის. ყველაზე ხშირად გამოიყენება პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორები და კომერციულად ხელმისაწვდომი ქირალური სვეტების უმეტესობაც დამზადებულია პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების გამოყენებით. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი უზრუნველყოფს ანალიზის ჩატარებას ოთახის ტემპერატურაზე, რაც ძალიან მნიშვნელოვანია თერმოლაბილური და არააქროლადი ორგანული ნივთიერებების ანალიზის დროს, 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 და წარმოადგენს წყლისა და ორგანული გამხსნელის ნარევს (წყალი-აცეტონიტრილი, წყალი-მეთანოლი).

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

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

2.2 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია, რომელსაც სხვაგვარად მაღალი წნევის სითხურ ქრომატოგრაფიასაც უწოდებენ, არის ნივთიერებათა დაყოფის, იდენტიფიცირების და ნარევეში თითოეული კომპონენტის რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდი. იგი ფართოდ გამოიყენება სხვადასხვა ტიპის კვლევებში, მაგალითად როგორცაა სამეცნიერო, სამედიცინო, საწარმო, სასამართლო, საექსპერტო და სხვა. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია მისი პრინციპიდან გამომდინარე, იძლევა ანალიზის პირობების შერჩევის საშუალებას კონკრეტული ამოცანისთვის. არსებობს სხვადასხვა სამუშაო რეჟიმები, მოძრავი და უძრავი ფაზების საკმაოდ დიდი არჩევანი, ხელსაწყო მრავალფეროვანი პარამეტრები, ოპტიმიზაციის საშუალება და სხვა. აგრეთვე შესაძლებელია ანალიზის ჩატარება როგორც განსაზღვრულ (შერჩეულ), ასევე ოთახის ტემპერატურაზეც. ეს უკანასკნელი მეტად მნიშვნელოვანია თერმოლაბილური და არააქროლადი ორგანული ნივთიერებებისთვის.

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის პრინციპი იმაში მდგომარეობს რომ ნარევის კომპონენტებს აქვს განსხვავებული შეკავების და შესაბამისად განსხვავებული ელუირების დროები. ეს გამოწვეულია მათი განსხვავებული განაწილებით ორ ერთმანეთში შეურევად ფაზას შორის (ერთი ფაზა 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. კომპონენტები, რომლებიც უფრო მეტად განაწილდება მოძრავ ფაზაში მალევე ელუირდება სვეტიდან, ხოლო კომპონენტები, რომლებიც უფრო მეტად განაწილდება სტაციონალურ ფაზაში, ისინი შედარებით გვიან გამოვა სვეტიდან.

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი რამდენიმე ძირითადი ბლოკისაგან შედგება [2]. ეს ბლოკებია : ტუმბო, ინჟექტორი, თერმოსტატი, სვეტი, დეტექტორი და მონაცემების ჩამწერი მოწყობილობა - კომპიუტერი.

ტუმბო უზრუნველყოფს მოძრავი ფაზის ნაკადის არსებობას სისტემაში გარკვეული სიჩქარით. 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 მოძრავი ფაზის შედგენილობის ცვლილება.

მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება სხვადასხვა ზომის სვეტები, რომლებიც შევსებულია იმ სტაციონალური ფაზით, რომელიც საჭიროა კონკრეტული ანალიზისთვის. ინჟექტორიდან ხდება ნიმუშის შეყვანა სვეტში, ანუ ინიცირება. 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. დეტექტორი უზრუნველყოფს ანალიზური სიგნალის დაფიქსირებას და მის გაზომვას შესაბამის ერთეულებში. აღსანიშნავია ასევე სვეტის თერმოსტატი, რომელშიც შეიძლება მოთავსდეს ერთი, ორი ან რამდენიმე სვეტი და მათ შორის მოხდეს ავტომატური გადართვა. საჭიროების შემთხვევაში ეს ბლოკი უზრუნველყოფს ტემპერატურის კონტროლს. სითხურ ქრომატოგრაფებში ხშირად გამოიყენება დეგაზატორის ბლოკი, რომელიც აცილებს მოძრავ ფაზაში გახსნილ აირებს, იმისთვის რომ ანალიზზე არ მოახდინოს გავლენა. ხელსაწყო მართვა, მონაცემების ჩაწერა, მონაცემთა დამუშავება ხდება სპეციალური კომპიუტერული პროგრამული უზრუნველყოფის საშუალებით. საბოლოო შედეგი კომპიუტერის საშუალებით ჩაიწერება ე.წ. ქრომატოგრამის სახით, რომლის აბსცისათა ღერძზე გადაზომილია დრო, ხოლო ორდინატთა ღერძზე სიგნალის ინტენსივობა. მაშასადამე, ქრომატოგრამა სიგნალის დროზე დამოკიდებულების გრაფიკია. ქრომატოგრამაზე არსებული პიკები გარკვეული კომპონენტის შესაბამისი სიგნალებია. 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 წანაცვლდება მარცხნიდან მარჯვნივ, ე.ი ქრომატოგრამაზე პირველი პიკი შეესაბამება კომპონენტს, რომელიც ყველაზე პირველი ელუირდა სვეტიდან, ხოლო ბოლო სიგნალი შეესაბამება იმ ნივთიერებას, რომელიც ყველაზე გვიან ელუირდა.

ტრადიციულ სითხურ ქრომატოგრაფიაში მოძრავი ფაზა სვეტში გრავიტაციის გზით გადაადგილდება და ამიტომ წნევა არ არის ძალიან მაღალი, ხოლო მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის შემთხვევაში უკუწნევა მაღალია, იგი 1200 ბარამდე შეიძლება

დაფიქსირდეს. ამიტომ, როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, ამ ინსტრუმენტულ მეთოდს შესაძლოა ვუწოდოთ მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფიაც .

2.3 ძირითადი ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები

ნიმუში - საანალიზო ნივთიერება.

უძრავი (სტაციონალური) ფაზა - ეს არის განსაზღვრული შედგენილობის და სტრუქტურის ადსორბენტული უნარის მქონე მასალა. მასზე ხდება საანალიზო ნივთიერების კომპონენტების შეკავება.

მოძრავი ფაზა (ელუენტი) - სითხური ქრომატოგრაფიის შემთხვევაში მოძრავი ფაზა სითხეა, კონკრეტულად, ორგანული, არაორგანული გამხსნელი, ან მათი ნარევი. ქრომატოგრაფიული ანალიზის პროცესის განმავლობაში, ტუმბოს საშუალებით მოძრავი ფაზის მიწოდება ხდება უწყვეტად. ის აიძულებს კომპონენტებს, რომ გადაადგილდეს სისტემაში ინიცირების მომენტიდან. მოძრავი ფაზა შეიძლება იყოს პოლარული, ან არაპოლარული ბუნების, მისი შერჩევა დამოკიდებულია იმაზე თუ რა ამოცანაა შესასრულებელი.

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

$$t_R = t_0 + t_R' \quad (1)$$

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 ნიმუშის მოცემული კომპონენტი ელუირდეს :

$$V_R = F \cdot t_R \quad (2)$$

F - მოძრავი ფაზის მოცულობითი სიჩქარეა.

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

$$V_M = t_0 F \quad (3)$$

V_M - არაადსორბირებადი კომპონენტის ელუირების მოცულობა.

შეკავების ფაქტორის გამოსათვლელი ფორმულა k : არის შეკავების ძირითადი პარამეტრი და უფრო მისაღებია ნივთიერების დახასიათება მისი მიხედვით, რადგან ის არაა დამოკიდებული მოძრავი ფაზის სიჩქარეზე და სვეტის სიგრძეზე. თუ მოძრავი ფაზა ნელა გადაადგილდება, ან სვეტი გრძელია, მაშინ იზრდება t_0 და შესაბამისად t_R -იც.

$$k = (t_R - t_0) / t_0 \quad (4)$$

სასურველია პარამეტრი k იყოს $1 \div 5$ შუალედში, თუ $k < 1$ ნიშნავს, რომ ნიმუშმა სვეტი ძალიან სწრაფად 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 რიცხვითი მნიშვნელობა დიდია, ნაკლებად ფოროვან და უფრო ადსორბენტებზე კი k მცირეა.

დაყოფის ფაქტორი ანუ სელექტიურობა : შეკავების ფაქტორების ფარდობაა

$$\alpha = k_2 / k_1 \quad (5)$$

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

ორი მეზობელი პიკის **გარჩევითობა R_s** არის პარამეტრი, რომელიც გვიჩვენებს ორი მეზობელი პიკის გარჩევის, გამიჯვნის დონეს. გამოითვლება პიკების მაქსიმუმებს შორის მანძილის ფარდობით პიკების სიგანეების ჯამთან :

$$R_S = 2 \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2} \quad (6)$$

$$\text{ან } R_S = 1.18 \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{W_{(0.5)1} + W_{(0.5)2}} \quad (7)$$

W – არის პიკის სიგანე ფუძესთან. **W(0.5)** არის პიკის სიგანე პიკის ნახევარ სიმაღლეზე. [ლიტ.1] .

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

$$N = 16 (t_R / W)^2 \quad (8)$$

$$N = 5.54 \cdot (t_R / W_{0.5}) \quad (9)$$

$$N = \frac{L}{H} \quad (10)$$

განტ. (8) და განტ. (9) ფაქტიურად ერთი და იგივეა, უბრალოდ გამომდინარე იქიდან, რომ განტ. (9)-ის მნიშვნელში პიკის სიგანე მის ნახევარსიმაღლეზეა გაზომილი, განტ. (8)-სგან განსხვავებით კოეფიციენტი 16-ის ნაცვლად გვაქვს 5.54.

L არის სვეტის სიგრძე, **H** არის თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე* (ტექსტში გამოყენებულია შემოკლება *თეფს*)*

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

$$H=L/N \quad (11)$$

2.4 ქრომატოგრაფიული ზონის გაფართოების მიზეზები. ვან დეემტერის განტოლება.

თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლის (თთეს) გამოსათვლელი ფორმულაში გვაქვს სამი კოეფიციენტი, A, B და C, მათ ვან დეემტერის კოეფიციენტებს უწოდებენ. თეორიული თეფშების რიცხვი (N) უკუპროპორციულ დამოკიდებულებაშია თეორიული თეფშების ექვივალენტურ სიმაღლესთან (H). N არის დაყოფის ეფექტურობის საზომი, შესაბამისად, რაც მეტია მისი მნიშვნელობა, მით ეფექტურია დაყოფა. ფაქტიურად, სასურველია N-ის მაღალი რიცხვითი მნიშვნელობები, ამისათვის კი H უნდა იყოს რაც შეიძლება მცირე. თავის მხრივ თთეს პირდაპირპროპორციულია ვან დეემტერის კოეფიციენტებისა. აქედან გამომდინარე შეიძლება დავასკვნათ, რომ დაყოფის ეფექტურობის თვალსაზრისით მნიშვნელოვანია ვან დეემტერის კოეფიციენტების მნიშვნელობათა მინიმუმამდე დაყვანა. განვმარტოთ თითოეული კოეფიციენტი:

1) **A გრიგალისებური დიფუზია** - რომლის გამოც ნიმუშის ზოგიერთი მოლეკულა სვეტს გაივლის სწორხაზოვნად, ზოგი კი სხვადასხვა გადახვევას განიცდის [1]. ქრომატოგრაფიული სვეტი შევსებულია მცირე ზომის ნაწილაკებით. მათ შორის დარჩენილი მცირე სივრცეებით იქმნება ე.წ არხები და ამ არხებში მიედინება მოძრავი ფაზა, რომელსაც ინიცირების შემდეგ გაყვება ნიმუშის მოლეკულებიც. სასურველია ჩატვირთული ნაწილაკების ზომები, მათი ზედაპირის ფართობები იყოს რაც შეიძლება ერთგვაროვანი, რადგან ამ შემთხვევაში მიიღწევა ნაწილაკების შედარებით კომპაქტური ჩაწყობა, ეს უკანასკნელი კი ძალიან მნიშვნელოვანია გრიგალისებური დიფუზიის ეფექტის შესამცირებლად. ვან დეემტერის განტოლებაში, კოეფიციენტი A თავისუფალი წევრის სახითაა, ანუ დანარჩენი ორი კოეფიციენტისგან განსხვავებით არაა ალგებრულად დაკავშირებული მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარესთან, ეს ნიშნავს იმას, რომ გრიგალისებური დიფუზიის ეფექტი u -ს მნიშვნელობებზე არაა დამოკიდებული. მიუხედავად ამისა, დაყოფის ეფექტურობის თვალსაზრისით A კოეფიციენტის მნიშვნელობის დაყვანა მინიმუმამდე მაინც ძალიან მნიშვნელოვანია, ვინაიდან A და H პირდაპირპროპორციულ კავშირშია.

2) **B - გასწვრივი ანუ გრძივი დიფუზიის კოეფიციენტი** - ანუ მოძრავ ფაზაში ნიმუშის მოლეკულების დიფუზიის კოეფიციენტი. ვინაიდან ფორმულაში ის იყოფა u -ზე, მისი

მაღალი რიცხვითი მნიშვნელობის უარყოფითი ეფექტი უფრო მეტად გამოხატულია მოძრავი ფაზის ნაკადის დაბალ სიჩქარეებზე.

3) C - კოეფიციენტი - სვეტში ჩატვირთული ნაწილაკები წარმოადგენს განსაზღვრული ზომის ფოროვან მასალას. აქ განიხილება ორი ვარიანტი: სრულად ფოროვანი, ან ზედაპირულად ფოროვანი სტრუქტურები. სტაციონალური ფაზის ფოროვანი აღნაგობა აუცილებელია ადსორბენტის ზედაპირის ფართობის გაზრდის მიზნით. მეორეს მხრივ, იგივე ფოროვანი ნაწილაკები, უფრო ზუსტად კი ფორებში არსებული სტაგნანტური (უძრავი) სითხე (მოძრავი ფაზა) განაპირობებს ვან დეემტერის განტოლებაში C წევრის არსებობას. საანალიზო ნიმუშის ერთი და იგივე კომპონენტის (იდენტური) მოლეკულების ნაწილი ფორებში საერთოდ არ შეაღწევს, ნაწილი მცირედ, ნაწილი კი აღწევს ფორების სიღრმეში. ის მოლეკულები, რომლებიც მოხვდება ფორებში (ანუ იქ სადაც უძრავი სითხეა), მხოლოდ დიფუზიის გზით შეძლებს იქიდან გამოღწევას ისევ ზედაპირზე. სამივე შემთხვევაში იდენტური მოლეკულების მიერ სტაციონარულ ფაზასთან კონტაქტის დრო იქნება განსხვავებული. მიუხედავად იმისა, რომ ეს განსხვავება ძალიან მცირეა, იგი მაინც საკმარისია ქრომატოგრაფიული ზონის გაფართოებისთვის.

ფაქტიურად, მასის გადატანის წინააღმდეგობა არის სისტემის უწყვეტი მცდელობა აღიდგინოს წონასწორობის მდგომარეობა. ზოგადად, ქრომატოგრაფიული სისტემა იმყოფება დინამიკურ წონასწორობაში. ვინაიდან სისტემაში მოძრავი ფაზის გატარება ხდება უწყვეტად, სისტემაც უწყვეტად ცდილობს წონასწორობის მდგომარეობის აღდგენას. როდესაც ნიმუშის მოლეკულები ხვდება ფორებში, ირღვევა წონასწორობა და კონცენტრაციული სხვაობის შედეგად დიფუზიის გზით სისტემა ცდილობს „გამოადგოს“ ეს მოლეკულები უძრავი სითხით სავსე ფორებიდან, რათა აღიდგინოს წონასწორობა. განტ. 12-ში C კოეფიციენტი მრავლდება u-ზე, რაც განაპირობებს ამ წევრის უარყოფითი ეფექტის გამმაფრებას მოძრავი ფაზის ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე. ამ მსჯელობიდან გამომდინარე, სასურველია u-ს მცირე მნიშვნელობების რეჟიმში მუშაობა, მაგრამ მეორეს მხრივ, ზოგჯერ, ანალიზების ჩატარება მოძრავი ფაზის ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე ძალიან მომგებიანია, რადგან ამ გზით მცირდება ანალიზის დრო.

მსჯელობიდან გამომდინარე, საჭირო გახდა გამოსავალის ძიება. გამოსავალი მდგომარეობს C კოეფიციენტის რიცხვითი მნიშვნელობის მინიმუმამდე დაყვანაში. ეს

შესაძლებელია სტაციონალური ფაზის ნაწილაკების ზომების შემცირებით, ტემპერატურის გაზრდით, ან ადსორბენტის სრულად ფოროვანი ნაწილაკების ჩანაცვლებით ზედაპირულად ფოროვანი ნაწილაკებით [3, 4].

რას ნიშნავს ქრომატოგრაფიული ზონის განთხევა (გაფართოვება)? წესით, იდეალურ შემთხვევაში, ქრომატოგრამაზე სიგნალები ვერტიკალური სხივების სახით უნდა ფიქსირდებოდეს, მაგრამ რეალურ შემთხვევაში პიკებს დაახლოვებით სამკუთხედის ფორმა აქვთ, რომლის წვერო არ არის მახვილი, პიკებს გაუსის მრუდის ფორმა გააჩნია. . ის, რომ სიგნალები ასეთი ფორმისაა, გამოწვეულია სწორედ ქრომატოგრაფიული ზონის განთხევით. აღნიშნულიდან გამომდინარე, გრიგალისებური დიფუზია, გრძივი დიფუზია და მასის გადატანის წინააღმდეგობა განაპირობებს იმას, რომ ერთი და იგივე კომპონენტის მოლეკულები სვეტიდან დროის გარკვეულ მონაკვეთში ელუირდება და არა დროის ერთ კონკრეტულ მნიშვნელობაზე. როგორც უკვე აღვნიშნეთ, მიუხედავად იმისა, რომ ეს დროის შუალედი ძალიან მცირეა, იგი მაინც საკმარისია იმისათვის, რომ სიგნალმა მიიღოს გაუსის მრუდის სახე და არა ის, რაც უნდა ჰქონოდა იდეალურ ვარიანტში. ვინაიდან ქრომატოგრაფიული სიგნალის ასეთი, არაიდეალური ფორმა გარდაუვალია, ითვლება, რომ სასურველია პიკი იყოს რაც შეიძლება ვიწრო. პიკის სივიწროვე უზრუნველყოფს დაყოფის ეფექტურობას, გავიხსენოთ განტ. (8) და/ან განტ. (9). პიკის სივიწროვე ნიშნავს, რომ მისი სიგანე არის მცირე, ვინაიდან ამ განტოლებებში W (პიკის სიგანე) მნიშვნელშია, რაც უფრო მცირე იქნება მისი მნიშვნელობა მით მეტი იქნება N-ის, ანუ თეორიული თევშების რიცხვის მნიშვნელობა. ეს უკანასკნელი კი მიაწინებს, რომ დაყოფა ეფექტურია.

სითხურ ქრომატოგრაფიაში ასე გამოიყურება ვან დეემტერის განტოლება:

$$H=A+B/u+Cu \quad (12)$$

და მისი მოდიფიცირებული ვარიანტი ნოქსის განტოლება:

$$H=A \cdot u^{1/3}+B/u+C \cdot u \quad (13)$$

$$A=2\lambda dp \quad (14)$$

$$B=2\gamma d \text{ მოძრ } (15)$$

$$C=2\omega dp^2/D \text{ მოძრ } (16)$$

H - თეორიული თევშების ექვივალენტური სიმაღლე;

Dp - ნაწილაკების საშუალო დიამეტრი;

D მოძრ - მოძრავ ფაზაში დიფუზიის კოეფიციენტი;

ω და λ -გეომეტრიული ფაქტორები;

γ -დიფუზიის კოეფიციენტი;

U -ნაკადის სიჩქარე.

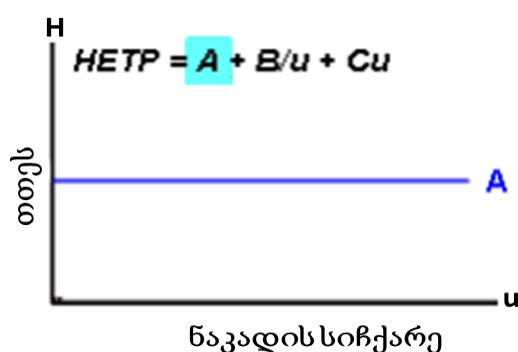
ვან დეემტერის განტოლება გვიჩვენებს, ძირითად პარამეტრებს, რომლებიც თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლის განმსაზღვრელი პარამეტრებია, ესენია: 1) მოძრავი ფაზის მოცულობითი სიჩქარე, 2) სორბენტის ნაწილაკების დიამეტრი, 3) შევსების ხასიათი და გეომეტრია, 4) დიფუზიის კოეფიციენტი.

2.5 ვან დეემტერის მრუდი

ვან დეემტერის მრუდი არის ვან დეემტერის განტოლების გრაფიკული გამოსახულება. ის აღწერს თეთს-ის დამოკიდებულებას მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარეზე.

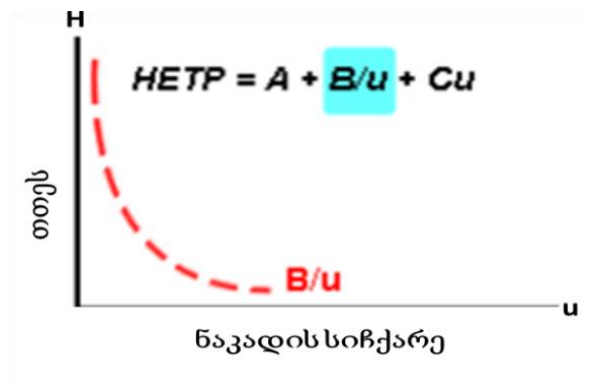
ტრადიციულად მრუდს ჰიპერბოლური ფორმა აქვს, რომელიც წარმოადგენს ცალკეული ეფექტების (A,B და C კოეფიციენტების) ჯამურ მრუდს.

როგორც ნახაზ (ნახ) 1-ზე ვხედავთ, A კოეფიციენტის გავლენა აღიწერება აბსცისათა ღერძის პარალელური წრფით. ეს გამოწვეულია იმით, რომ ვან დეემტერის განტოლებაში გრიგალისებური დიფუზიის წევრი არ არის ალგებრულ კავშირში მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარესთან, რაც იმას ნიშნავს, რომ u-ს ცვლილებით A არ იცვლება.



ნახ. 1 გრიგალისებური დიფუზიის გავლენა ქრომატოგრაფიული ზონის განთხევაზე.

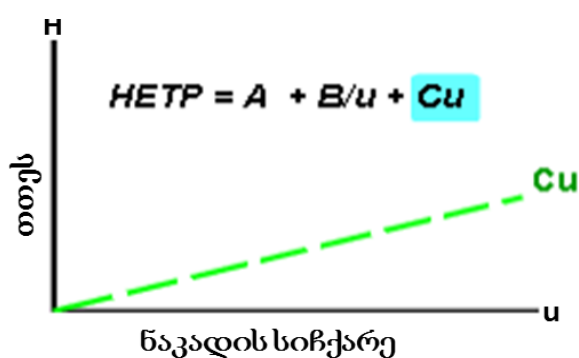
რაც შეეხება B კოეფიციენტს, მისი უარყოფითი გავლენა უფრო მკაფიოდ გამოიხატება მოძრავი ფაზის ნაკადის დაბალ სიჩქარეებზე. **ნახ. 2**



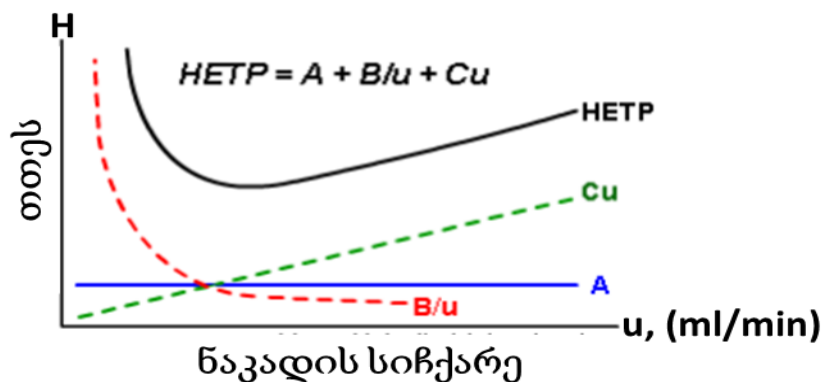
ნახ. 2 B კოეფიციენტის ეფექტი ქრომატოგრაფიული ზონის გაფართოვებაზე.

მოცემულ მრუდზე გამოსახულია B კოეფიციენტის ეფექტი ქრომატოგრაფიული ზონის გაფართოვებაზე. როგორც ვხედავთ u-ს გაზრდით B-ს შესაბამისი მრუდი ქვემოთ ეშვება და შესაბამისად ნაკლებად მონაწილეობს H-ის მნიშვნელობის გაზრდაში.

C კოეფიციენტის ეფექტი უფრო მკვეთრია u-ს მაღალ მნიშვნელობებზე. C წევრის გავლენა H-ის მნიშვნელობაზე ნაჩვენებია **ნახ. 3** -ზე.



ნახ. 3 C წევრის გავლენა H-ის მნიშვნელობაზე.



ნახ. 4 აქ მოცემულია ზემოთ აღნიშნული ყველა ეფექტი ერთად, ერთ მრუდზე.

ნახ. 4-ზე ნაჩვენებია მრუდიდან გამომდინარე, რაც ნაკლები იქნება კოეფიციენტების მნიშვნელობა, მით ნაკლებია თეთს, ანუ მით მეტი იქნება N -ის მნიშვნელობა. A , B და C წევრების შემცირებით ვან დეემტერის მრუდს აღარ ექნება მკვეთრად აღმავალი სახე. მისი მაქსიმუმის და მინიმუმის მნიშვნელობები ახლოს იქნება ერთმანეთთან. ამ ეფექტის მიღწევა შესაძლებელია სრულად ფოროვანის ნაცვლად ზედაპირულად ფოროვანი (ე.წ. კორშელის ტიპის) სილიკაგელის ნაწილაკების გამოყენებით.

2.6 პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების მიმოხილვა

დღეისათვის არსებობს მრავალი სხვადასხვა ტიპის ქირალური სელექტორი ენანტიომერების თხევად-ფაზური დაყოფისათვის [2]. ნებისმიერი დაბალი, ან მაღალი მოლეკულური მასის მქონე ქირალურ ნივთიერება, რომელსაც აქვს უნარი წარმოქმნას არაკოვალენტური მოლეკულათაშორისი ენანტიოსელექტიური კომპლექსი, შეიძლება გამოყენებული იქნას, როგორც ქირალური სელექტორი ენანტიომერების თხევად-ფაზური დაყოფისთვის. ბოლო 50 წლის განმავლობაში ასეულობით ქირალური სელექტორია აღწერილი. მიუხედავად შესწავლილი ქირალური სელექტორების დიდი რიცხვისა, მათგან მხოლოდ რამდენიმეს კომერციალიზაცია მოხდა. ქირალური სელექტორის გარდა აღნიშნული უნარისა, წარმოქმნას მოლეკულათაშორისი კომპლექსები ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებთან, არის კიდევ რამდენიმე კრიტერიუმი, რომლებსაც უნდა პასუხობდეს ქირალური სელექტორი, რათა მოხდეს მისი წარმატებით გამოყენება თხევად-ფაზური დაყოფისათვის. ქირალურ სელექტორს უნდა ჰქონდეს თვისება, გამოყენებულ 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.

პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის შეკავშირება სილიკაგელზე შესაძლოა ფიზიკური და ქიმიური გზით. ფიზიკურის შემთხვევაში პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის დაფენა ხდება სილიკაგელზე, ქიმიურის შემთხვევაში - სელექტორი კოვალენტური ბმითაა დაკავშირებული სილიკაგელთან, ან სილიკაგელზე დაფენის შემდეგ გადაჰყავთ პრაქტიკულად უხსნად ნაწარმებში. ამას მეორენაირად იმობილიზებულს უწოდებენ. მას აქვს უპირატესობა დაფენილ სელექტორებთან შედარებით. ამ შემთხვევაში შესაძლებელია ისეთი გამხსნელების გამოყენება მოძრავ ფაზებად, მათ დანამატებად და ნიმუშის გამხსნელებად, რომლებიც აკრძალულია დაფენილი სტაციონარული ფაზების შემთხვევაში.

ფიზიკური, ან ქიმიური გზით პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის შეკავშირება შესაძლებელია, როგორც სრულად ფოროვან სილიკაგელთან, ასევე ზედაპირულად

ფოროვან სილიკაგელთანაც. ეს უკანასკნელი კომბინაცია ახალია ქირალური ანალიზების სფეროში და გააჩნია უპირატესობები სრულად ფოროვან სილიკაგელთან შედარებით [4-8].

2.7 ზედაპირულად ფოროვანი სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებული პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზის უპირატესობები

ფოროვანი ზედაპირის მქონე გლუვი სილიკაგელის სარჩულზე მომზადებულ სვეტებს აღმოაჩნდა მნიშვნელოვანი უპირატესობები ტრადიციულ მთლიანად ფოროვან სილიკაგელის სარჩულზე მომზადებულ სვეტებთან შედარებით.

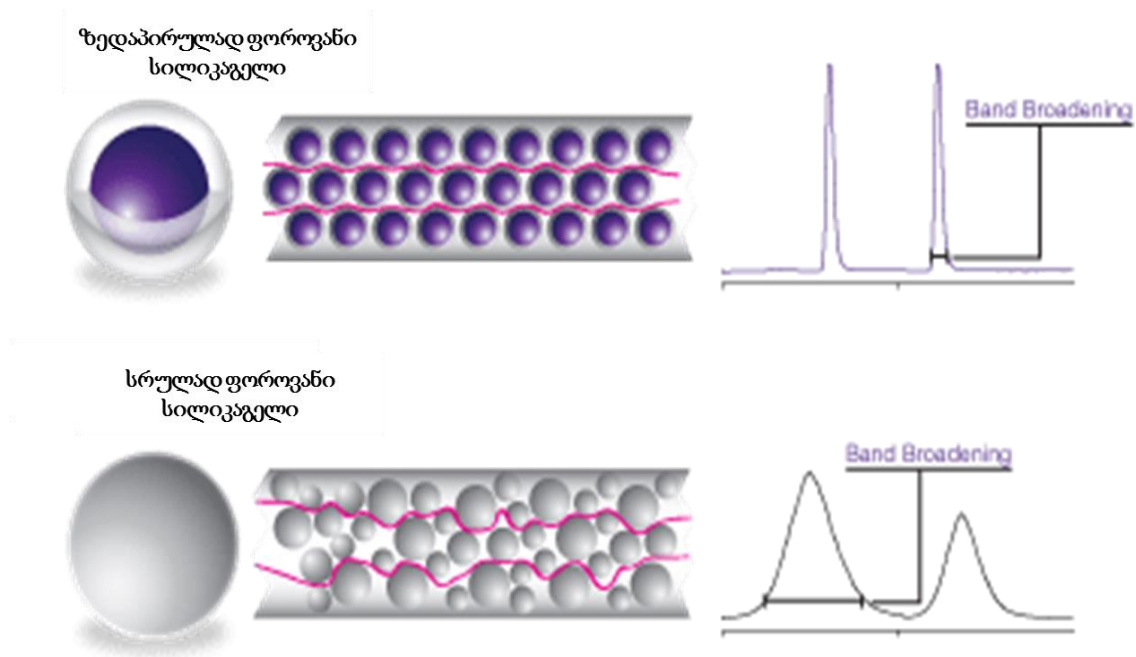
დაწვრილებით განვიხილოთ ახალი ტიპის სტაციონალური ფაზის [4-8] უპირატესობები. თავიდან ნაწილაკების საშუალო ზომა იყო 100 მკმ-ის ფარგლებში, შემდეგ ზომა შემცირდა 50-40 მკმ-დე, შემდეგ 20, 10, 5. ბოლოს უკვე მიღებული იყო ნაწილაკები 1 მკმ-ზე ნაკლები ზომით, თუმცა ასეთი ნაწილაკები არაეფექტური აღმოჩნდა, ვინაიდან ასეთი 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. ამ უკანასკნელის 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, რომლებმაც დიდი წარმატება მოიპოვა ქრომატოგრაფიაში.

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 განცალკევებული, 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. მოძრავი ფაზის სიჩქარე ისე უნდა შეირჩეს, რომ გრძივი დიფუზიის გავლენა იყოს მინიმალური. რაც შეეხება მასის გადატანის წინააღმდეგობას, თუ სტაციონალურ ფაზას გამოვიყენებთ ნაწილაკების მცირე ზომით და ზედაპირული 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.

ნახ. (5) -ზე შედარებულია ზედაპირულად ფოროვანი და სრულად ფოროვანი სტაციონალური ფაზები, პირველ შემთხვევაში როგორც ვხედავთ ნიმუშის მიერ გავლილი გზა ნაკლებია, მიღებული პიკი ვიწრო და მაღალია;



ნახ. (5) სრულად 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 სილიკაგელის (ზფს) 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 ნიშნის განაწილების წონასწორობის სწრაფი მიღწევა. ამ ტიპის სვეტების წარმატების მიზეზი გახდა თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლის (თთეს)

მცირე მნიშვნელობა, ე.ი მათი ეფექტურობა, რაც განპირობებული იყო გრძელი დიფუზიისა და გრიგალისებური დიფუზიის მცირე მნიშვნელობით.

ზფს ტიპის სვეტის უპირატესობა გამოიკვეთება ანალიზების მოძრავი ფაზის მაღალ სიჩქარეზე ჩატარებისას. საერთოდ ანალიზის სიჩქარის გაზრდისას თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე იზრდება, შესაბამისად იკლებს სვეტის ეფექტურობა ანუ თეორიული თეფშების რიცხვი, თუმცა ზფს ტიპის სვეტის შემთხვევაში ანალიზის სიჩქარის გაზრდისას თეორიული თეფშების სიმაღლე გაცილებით ნელა იზრდება, რაც საშუალებას იძლევა ჩატარდეს ანალიზები მაღალ სიჩქარეზე ეფექტურობის მინიმალური დანაკარგით.

ზფს-ის ტიპის სვეტების პოტენციალი და უპირატესობა ტრადიციული ფოროვანი სილიკაგელის სვეტებთან შედარებით განსაკუთრებით თვალსაჩინოა, 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

ულტრა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი (შემოკლებით UHPLC), Agilent 1290 სერიის, ჩვეულებრივი მაღალ ეფექტური სითხური ქრომატოგრაფისგან განსხვავდება იმით, რომ აქვს ძლიერი ტუმბო, რომელიც 1200-მდე ბარ წნევას აწვდის, რაც საშუალებას გვაძლევს ვიმუშაოთ მოძრავი ფაზის ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე. ნაკადის სიჩქარის გაზრდა ზრდის უკუწნევას, რომელსაც მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფები ხშირად ვერ უძლებს, 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, ნაკადის მაქსიმალური სიჩქარე 5 მლ/წთ იყო.

გამოყენებული ხელსაწყოს დეტექტორი არის უ.ი დიოდური ტიპის. ანალიზების ჩატარება შეიძლება სხვადასხვა ტალღის სიგრძეზე და დეტექტორების სხვადასხვა სიხშირეზე. დეტექტორების მინიმალური სიხშირეა 2.5 Hz, ხოლო მაქსიმალური 160 Hz. ჰერცი (Hz) სიხშირის საზომი ერთეულია და იგი ერთი წამის განმავლობაში დაფიქსირებული წერტილების რაოდენობას გვიჩვენებს. რაც მეტია დეტექტორის სიხშირე, ანუ მონაცემების ჩაწერის სიჩქარე, მით უფრო სწორი ქრომატოგრაფიული სურათი მიიღება.

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

3.2 გამოყენებული სვეტები

1. 2% sp-1 CS 3.6u 600 A 100x4.6

2. 2% sp-1 CS 3.6u 300 A 50x4.6

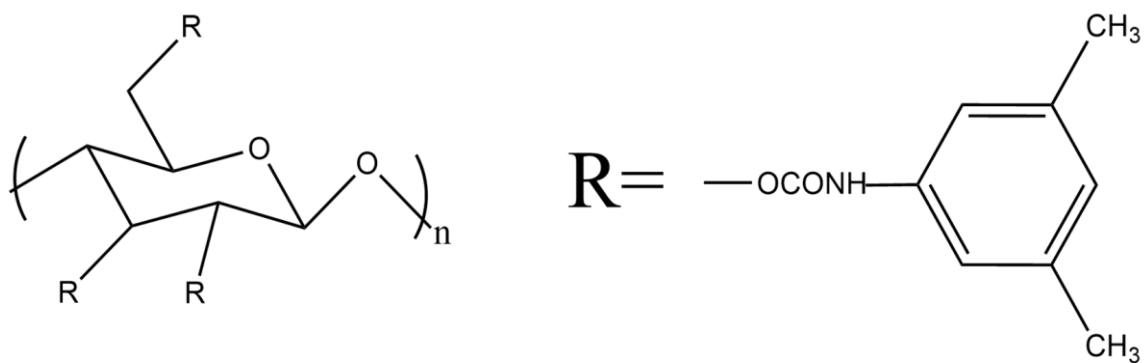
SP-1 სვეტები წარმოადგენს ცელულოზას ნაწარმს, კერძოდ ეს არის ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი), შემოკლებით CDMPC. მისი სტრუქტურა მოცემულია ნახ. (6)-ზე. გამოყენებული არის კორშელის ტიპის სვეტები. ე.ი ისინი არ არის სტანდარტული სვეტები სრულადფოროვანი ქირალური სელექტორით, არამედ უძრავი ფაზის ნაწილაკებს აქვთ ზედაპირულად ფოროვანი სტრუქტურა. სვეტის აღწერაში მითითებული 3.6u გვიჩვენებს ნაწილაკების ნომინალურ საშუალო ზომებს მიკრომეტრებში. 3.6 მკმ ითვლება ნაწილაკების სტანდარტულ ზომად. უფრო მცირე ზომის ნაწილაკების გამოყენება აუმჯობესებს სვეტის ეფექტურობას, მაგრამ მათი დამზადება ტექნოლოგიურად რთული პროცესია. 300 და 600 Å (ანგსტრემი) გვიჩვენებს ფორების ზომებს. 1 ანგსტრემი სმ-ს რიგისაა. 100 x 4.6 და 50 x 4.6 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. სტანდარტულ სვეტებში ქირალური სელექტორის დაფენილობის ხარისხი 20-25%-ის ტოლია. ზედაპირულად ფოროვანი ნაწილაკების გამოყენების შემთხვევაში ქირალური სელექტორის რაოდენობა პროცენტულად გაცილებით მცირეა.

3. 2% sp-5 3.6u 500 A 100x4.6

SP-5 ნიშნავს, რომ ქირალური სელექტორი არის ცელულოზა ტრის(3,5-დიქლოროფენილკარბამატი) შემოკლებით CDCPC, სტრუქტურა მოცემულია ნახ. (7)-ზე. სვეტში ჩატვირთული სილიკაგელის ნაწილაკები არის ზედაპირულად ფოროვანი სტრუქტურის, ზომით 3.6 მკმ, ხოლო ფორების ზომით 500 Å (ანგსტრემი, 1 ანგსტრემი=10⁻⁸სმ). როგორც უკვე ზემოთ აღვნიშნეთ, პოლისაქარიდული სელექტორი (2% მოცულობითი წილით) სილიკაგელის ნაწილაკებზე კოვალენტურად იქნა შეკავშირებული. გამოყენებული ქირალური სვეტის საერთო სიგრძე 10 სმ, შიგა დიამეტრი 4.6 მმ.

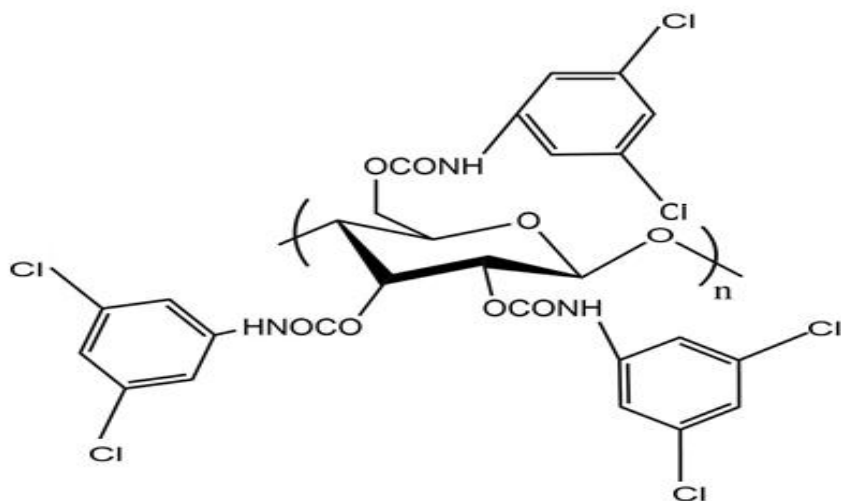
3.3 გამოყენებული ქირალური სელექტორები

ცელულოზა ტრის (3,5 -დიმეთილფენილ კარბამატი)



ნახ. (6) წინამდებარე სამუშაოში გამოყენებული ქირალური სელექტორების სტრუქტურული ფორმულები.

ცელულოზა ტრის (3,5 -დიქლოროფენილ კარბამატი)

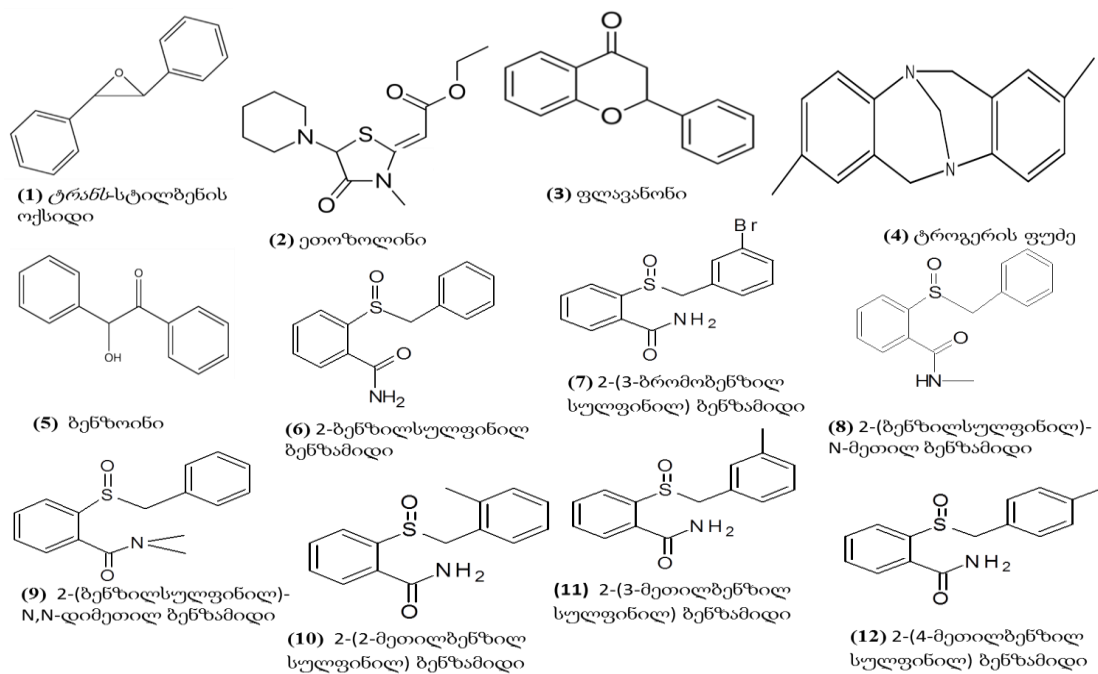


ნახ. (7) წინამდებარე სამუშაოში გამოყენებული ქირალური სელექტორების სტრუქტურული ფორმულები.

3.4 საკვლევი ნივთიერებები

ანალიზებში გამოყენებული ქირალური ნივთიერებების სტრუქტურული ფორმულები მოცემულია სურ.3-ზე:

- 1) ტრანს-სტილბენის ოქსიდი;
- 2) ეთოზოლინი;
- 3) ფლავანონი;
- 4) ტროგერის ფუძე;
- 5) ბენზოინი;
- 6) 2-ბენზილსულფინილ ბენზამიდი;
- 7) 2-(3-ბრომობენზილსულფინილ) ბენზამიდი;
- 8) 2-(ბენზილსულფინილ)-N-მეთილ ბენზამიდი;
- 9) 2-(ბენზილსულფინილ)-N,N-დიმეთილ ბენზამიდი;
- 10) 2-(2-მეთილბენზილსულფინილ) ბენზამიდი;
- 11) 2-(3-მეთილბენზილსულფინილ) ბენზამიდი;
- 12) 2-(4-მეთილბენზილსულფინილ) ბენზამიდი;



ნახ. (8) ანალიზებში გამოყენებული ქირალური ნივთიერებები.

3.5 ექსპერიმენტში გამოყენებული ელუენტები

ჰექსანი/იზოპროპანოლი მოცულობით თანაფარდობით 95/5

ჰექსანი/იზოპროპანოლი მოცულობით თანაფარდობით 98/2

ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი მოცულობით თანაფარდობით 90/10;

მეთანოლი;

აცეტონიტრილი;

3.6 ანალიზის პირობები

ანალიზები ტარდებოდა შემდეგ სიჩქარეებზე : 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5; 0.6; 0.7; 0.8; 0.9; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 3.0; 3.5; 4.0; 4.5; 5.0 და 5.5 მლ/წთ;
დეტექტორების სიხშირეები: 5; 10; 20; 40; 80 და 160 ჰერცი. გამოყენებული ტალღის სიგრძე : 200, 220 და 250 ნმ.

3.7 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 გამომანგარიშება და მათი 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.

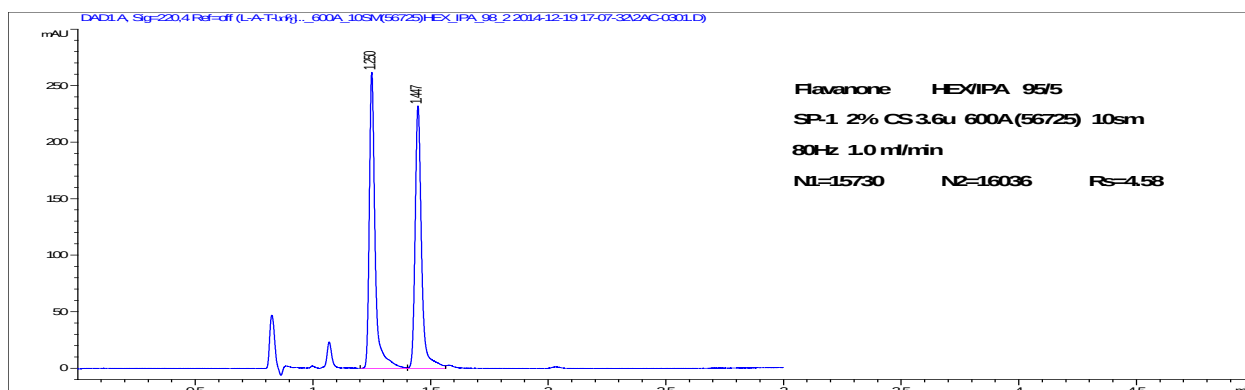
ასევე ზედაპირულად ფოროვან სილიკატებზე იმობილიზებული პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის შესწავლა.

კვლევები ჩატარდა რამდენიმე მიმართულებით, კონკრეტულად შესწავლულ იქნა მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარის, საანალიზო ნიმუშის ინიცირების მოცულობისა და დეტექტირების სიხშირის გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე. მიღებული შედეგები საკმაოდ საინტერესო აღმოჩნდა, მათ შესახებ უფრო ვრცლად იქნება საუბარი მომდევნო პარაგრაფებში. მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარის ეფექტის დასადგენად, ავარგეთ ვან დეემტერის მრუდები. გამოვთვალეთ ვან დეემტერის კოეფიციენტები. ანალიზები ამ მიმართულებით ჩავატარეთ 0.1-დან 5.5 მლ/წთ-მდე ნაკადის სიჩქარის პირობებში.

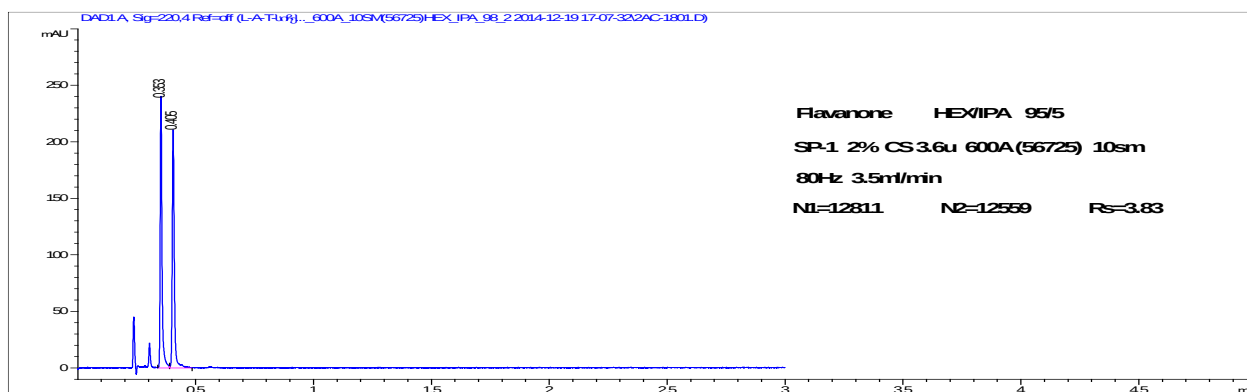
სამუშაოების კიდევ ერთი მნიშვნელოვანი მიზანი იყო მაღალეფექტური დაყოფების ჩატარება ანალიზის მცირე დროში. 25 წამზე მცირე დროში მოხერხდა ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა, ამასთანავე დაფიქსირდა თეორიული თეფშების მაღალი რიცხვი.

4. შედეგები და განსჯა

შედეგებს წარმოვადგენთ შედარების გზით. დავიწყეთ ყველაზე მარტივით, მოძრავი ფაზის ნაკადის გაზრდით ანალიზის დრო მცირდება. მნიშვნელობა არ აქვს გამოყენებულ სტაციონალურ და მოძრავ ფაზებს. მაგალითი მოცემულია ნახ. 9 -ზე ა), ბ)



ნახ. (9) ა) მოცემულია ფლავანონის ენანტიომერების დაყოფის ქრომატოგრამა, 10 სმ-იან SP-1 სვეტზე. ელუენტი ჰექსან იზოპროპანოლის ნარევი 95/5 თანაფარდობით. ნაკადის სიჩქარე 1.0 მლ/წთ, ინიცირებული ნივთიერების რაოდენობა 2 მკლ, დეტექტორის სიხშირე 80 ჰერცი.

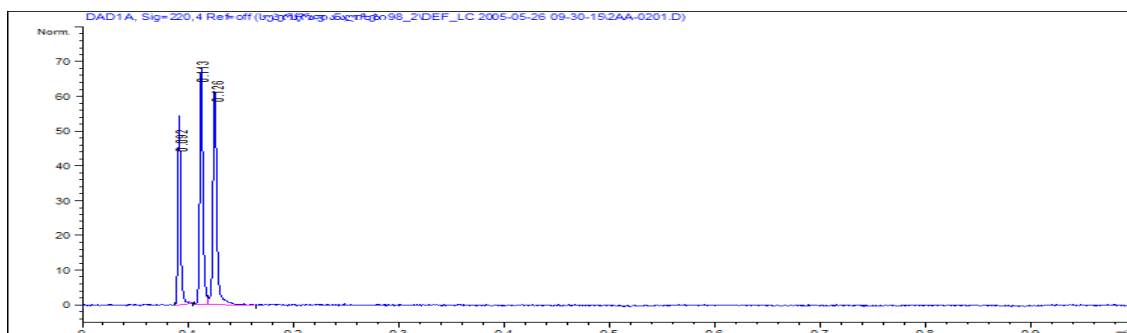


ნახ. (9) ბ) მოცემულია ფლავანონის ენანტიომერების დაყოფის ქრომატოგრამა, 10 სმ-იან SP-1 სვეტზე. ელუენტი ჰექსან იზოპროპანოლის ნარევი 95/5 თანაფარდობით. ნაკადის სიჩქარე 3.5 მლ/წთ, ინიცირებული ნივთიერების რაოდენობა 2 მკლ, დეტექტორის სიხშირე 80 ჰერცი.

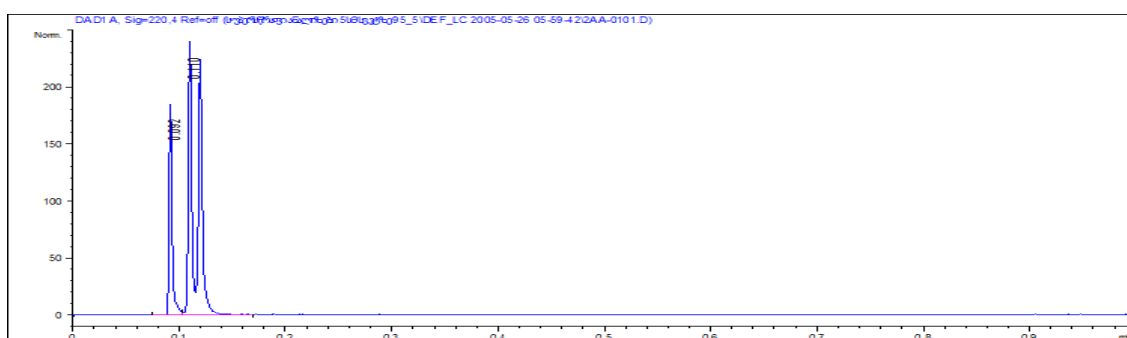
როგორც ვხედავთ, ელუენტის სიჩქარის გაზრდით 1.0-დან 3.5მლ/წთ-მდე შემცირდა ანალიზის დრო, თუკი 1.0 მლ/წთ-ზე ანალიზი დასრულდა ≈ 90 წამში, 3.5 მლ/წთ-ზე ანალიზს მხოლოდ ≈ 24 წამი დასჭირდა. დაყოფა კი ორივე შემთხვევაში ფუძისეულია. საინტერესოა თეორიული თეფშების რიცხვის ცვლილება მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარის გავლენით. u -ს გაზრდით N მცირდება. დაბალ სიჩქარეზე $N \approx 16000$, ხოლო მაღალ სიჩქარეზე შემცირებულია და $N \approx 13000$. იგივე ანალიზები რომ ჩატარებულიყო სრულად ფოროვანი სტრუქტურის სვეტებზე, N -ის მნიშვნელობა იქნებოდა უფრო მცირე დაბალ და მაღალ სიჩქარეებზე. გარდა ამისა სვეტის ეფექტურობა ნაკადის სიჩქარის გაზრდით მკვეთრად შემცირდებოდა, რაც ნაკლებად ხდება კორშელის ტიპის სვეტებისთვის. ბუნებრივია, სტანდარტულ სვეტზე იგივე ანალიზებს გაცილებით მეტი დრო დასჭირდებოდა. შეფასებამდე N -ის მნიშვნელობები გადაყავთ 1 მეტრზე გადანგარიშებულ ერთეულებში, შემდგომი შედარებებისთვის. ჩვენს შემთხვევაში მოცემული რიცხვები გამრავლდება 10-ზე და მივიღებთ თეორიული თეფშების რიცხვს გადანგარიშებულს 1 მეტრზე, თუ სვეტი იქნებოდა 5 სმ-იანი, მაშინ მიღებულ შედეგებს გავამრავლებდით 20-ზე. ნაკადის უფრო დაბალ სიჩქარეებზე ($F < 1$ მლ/წთ) მუშაობისას N შეიძლება უფრო მეტი იყოს, გააჩნია რომელ სიჩქარეს შეესაბამება ვან დეემტერის მრუდზე ოპტიუმის წერტილი. 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. მოძრავი ფაზის, ან სვეტის შეცვლისას ნაკადის სიჩქარის გავლენა ყველა შემთხვევაში ერთნაირად გამოიხატება. განსხვავება შეიძლება მარტო ვან დეემტერის მრუდზე ექსპერიმენტული ოპტიუმის წერტილში იყოს.

განვიხილოთ მოძრავი ფაზის შედგენილობის გავლენა, კერძოდ, ელუენტში იზოპროპანოლის წილის ცვლილება დაყოფის ხარისხსა და სვეტის ეფექტურობაზე [ნახ. 10 ა), ბ)].

ნახ. 10. 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. რადგანაც ძირითადი აქცენტი კეთდებოდა სუპერსწრაფ დაყოფებზე, ყურადღება მიექცა ელუენტში იზოპროპანოლის წილის ვარირებას, იმისათვის რომ შეძლებისდაგვარად შემცირებულიყო ანალიზის დრო და პარალელურად შენარჩუნებულიყო „კარგი დაყოფა“.



ნახ. (10) ა) ჰექსანი/იზოპროპანოლი 98/2-თან, სიჩქარე 5 მლ/წთ, სიხშირე 80 ჰერცი, 5 სმ-იანი სვეტი, ინიცირებული ნიმუშის მოცულობა 0,5 მკლ.

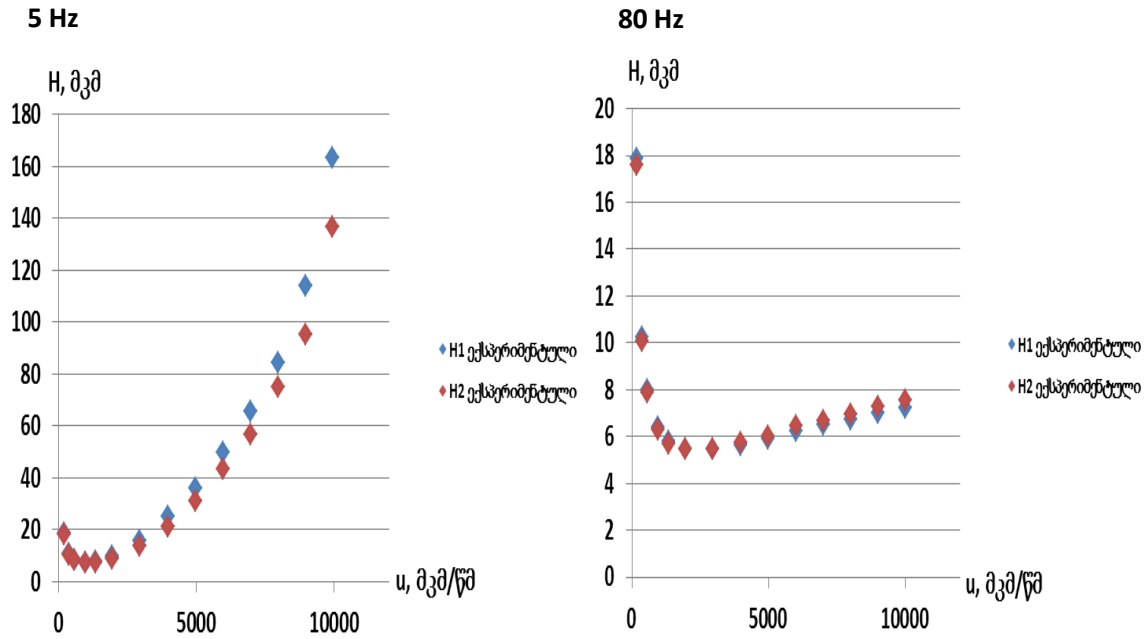


ნახ. (10) ბ) ჰექსანი/იზოპროპანოლი 95/5-თან, სიჩქარე 5 მლ/წთ, სიხშირე 80 ჰერცი, 5 სმ-იანი სვეტი, ინიცირებული ნიმუშის მოცულობა 1 მკლ.

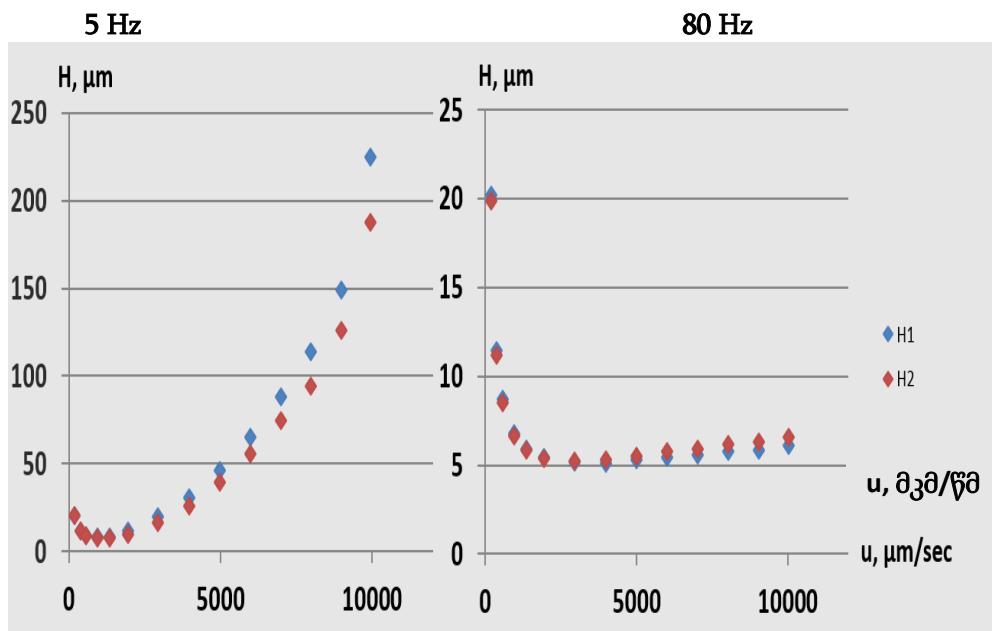
დეტექტორის სიხშირის გავლენა: როგორც ცნობილია, რაც მეტია დეტექტორის მონაცემების ჩაწერის სიჩქარე, ანუ სიხშირე, მით უკეთესად აღწერს ის ქრომატოგრამას. მეორეს მხრივ, დეტექტირების სიხშირის გაზრდისას იზრდება საბაზისო ხაზის ხმაური, რაც ერთგვარი არასასურველი ეფექტია. ჩვენი მიზანი იყო იმის ჩვენება, რომ დაბალ სიჩქარეებზე 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, რატომ ახდენს დეტექტირების სიჩქარე (სიხშირე) გავლენას ქრომატოგრაფიული დაყოფის ხარისხზე? დავიწყეთ 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 1 წამში დაფიქსირებული წერტილების (სიგნალების) რაოდენობას. რაც მეტია დეტექტორის სიხშირე, მით მეტი სიგნალის დაფიქსირება ესწრება დროის ერთეულში. ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე მუშაობისას როგორც ნახ. 9 -ზე მოტანილ ქრომატოგრამებზე ჩანს, 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.

ნაშრომში ნაჩვენებია იყო, რომ ზედაპირულად ფოროვანი ნაწილაკებით შევსებული სვეტების გამოყენებისას ელუენტის მაღალ მოცულობით სიჩქარეებზე ეფექტურობა მკვეთრად არ მცირდება. ისიც აღვნიშნეთ, რომ სვეტის ეფექტურობა სწორად რეგისტრირდება მხოლოდ მაღალი სიხშირის დეტექტორის გამოყენებისას, რადგან ექსპერიმენტში ანალიზები ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე ტარდებოდა. მსჯელობა რომ უფრო გასაგები გავხადოთ, თვალსაჩინოებისთვის ნახ. (11) ა), ბ -ზე მოტანილია ვან დეემტერის მრუდები.



ნახ. (11) - ზე ა) მოცემულია ვან დეერვალის მრუდი ნივთიერება ფლავანონისთვის. სვეტი SP-1 10 სმ-იანი. ელუენტი 95/5 თანაფარდობის ჰექსან/იზოპროპანოლის ნარევი. დეტექტორის სიხშირე 5 და 80 ჰერცი.



ნახ. (11) - ზე ბ) მოცემულია ვან დეერვალის მრუდი ნივთიერება ტრანს-სტილბენის ოქსიდისთვის. სვეტი SP-1 10 სმ-იანი. ელუენტი 95/5 თანაფარდობის ჰექსან/იზოპროპანოლის ნარევი. დეტექტორის სიხშირე 5 და 80 ჰერცი.

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 ნაჩვენებია ცხრილების სახით (ცხრილი 1-ში, 2-ში და 3-ში).

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

	5 Hz		80 Hz	
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	<u>183850</u>
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

ცხრილ 2-ში მოცემულია თეორიული თევზების რიცხვის მნიშვნელობები 1 მეტრზე გაანგარიშებით ბენზოინისთვის, ნაკადის ყველა სიჩქარეზე 5 სმ-იანი SP-1 სვეტისთვის. გამოყენებული ელუენტი ჰექსან/იზოპროპანოლის 98/2 ნარევი. 20 და 80 ჰერცი (მითითებულია ცხრილში).

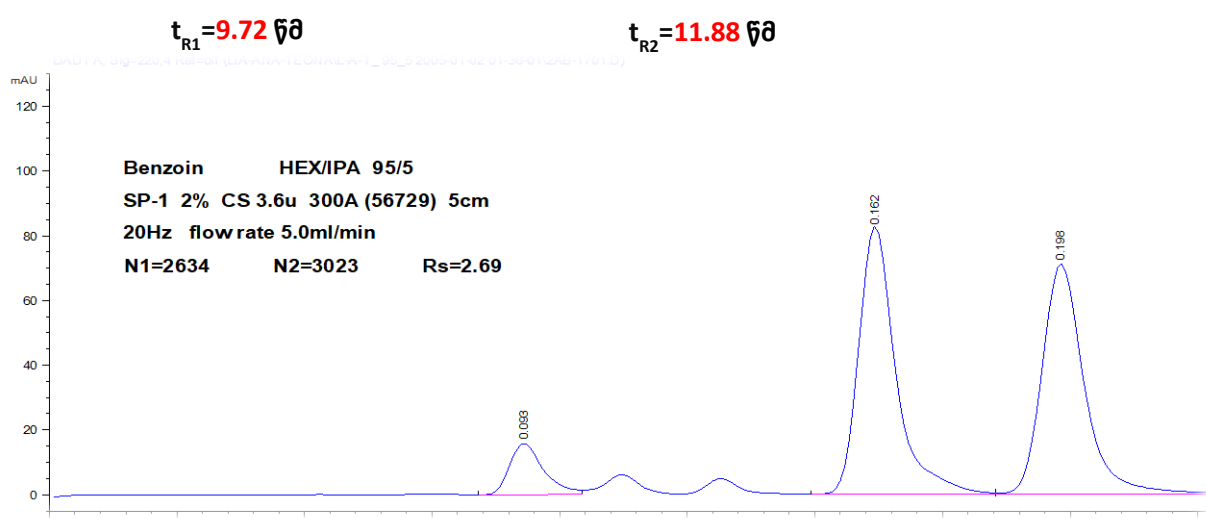
	5 Hz		80 Hz	
მლ/წთ	N1	N2	N1	N2
1	148871.1	131638.7	142825.8	123315.3
1.5	127010.7	122759.4	125359.7	119382.2
2	107288.5	101819	117244.4	105766.4
2.5	101776	100806.3	125359.7	117701.8
3	91438.39	102400	105792.9	115600
3.5	80773.2	88371.07	121577	102400
4	74900.8	80089	120661.2	96100
4.5	74900.8	76544.44	94103.12	94556.25
5	59252.03	61504	142825.8	123315.3

ცხრილ 3-ში მოცემულია თეორიული თევზების რიცხვის მნიშვნელობები 1 მეტრზე გაანგარიშებით ტრანს-სტილბენის ოქსიდისთვის, 10 სმ-იანი SP-1 სვეტისთვის. გამოყენებული ელუენტი ჰექსან/იზოპროპანოლის 98/2 ნარევი. 20 და 80 ჰერცი (მითითებულია ცხრილში).

მლ/წთ	N1	N2	N1	N2
1	138012	130901	150549	137453
1.5	133190	124279	155249	130951
2	110815	111577	144553	121835
2.5	93955	100919	139733	115425
3	83685	92304	135599	111496
3.5	71355	85029	135954	107569

მაქსიმალური თეორიული თეფშების რიცხვი ერთ მეტრზე გაანგარიშებით დაფიქსირდა ≈ 184000 , ეს საკმაოდ დიდი მიღწევაა. ვან დეემტერის მრუდზე (ნახ. (11) ა)) მას შეესაბამება ოპტიუმის 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 ერთ-ერთ საუკეთესო მიღწევად. 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.

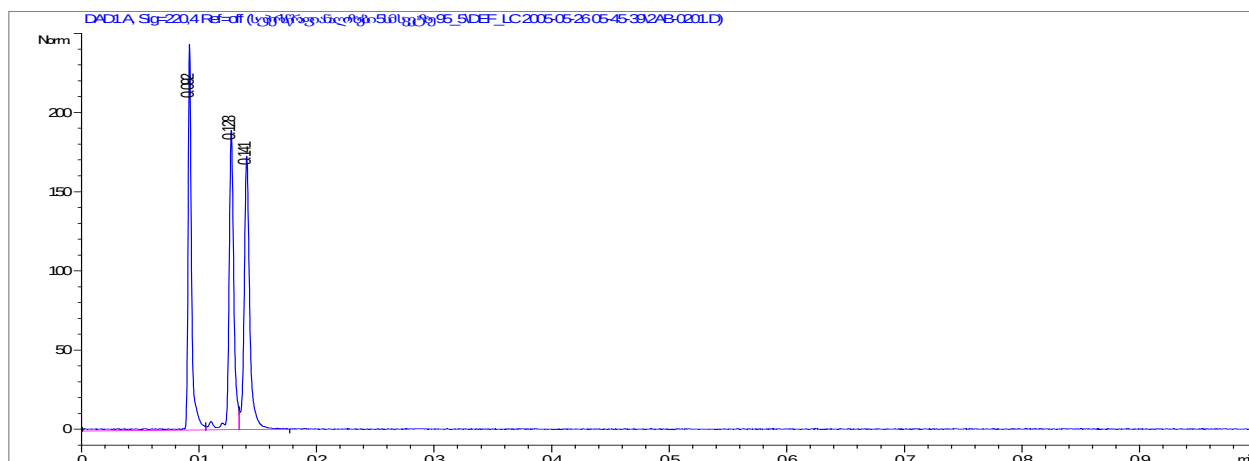
სუპერსწრაფი ანალიზები ნახ. (12) ა) ,ბ) და გ).



ნახ. (12) ა) სურათზე მოცემულია ბენზოინის ენანტიომერების დაყოფა უმოკლეს დროში. გამოყენებული სვეტი SP-1 5 სმ, ელუენტი ჰექსან/იზოპროპანოლი 95/5, ნაკადის მოცულობითი სიჩქარე 5 მლ/წთ, სიხშირე 20 ჰერცი.

tR1 =0.128წთ=7.68წმ

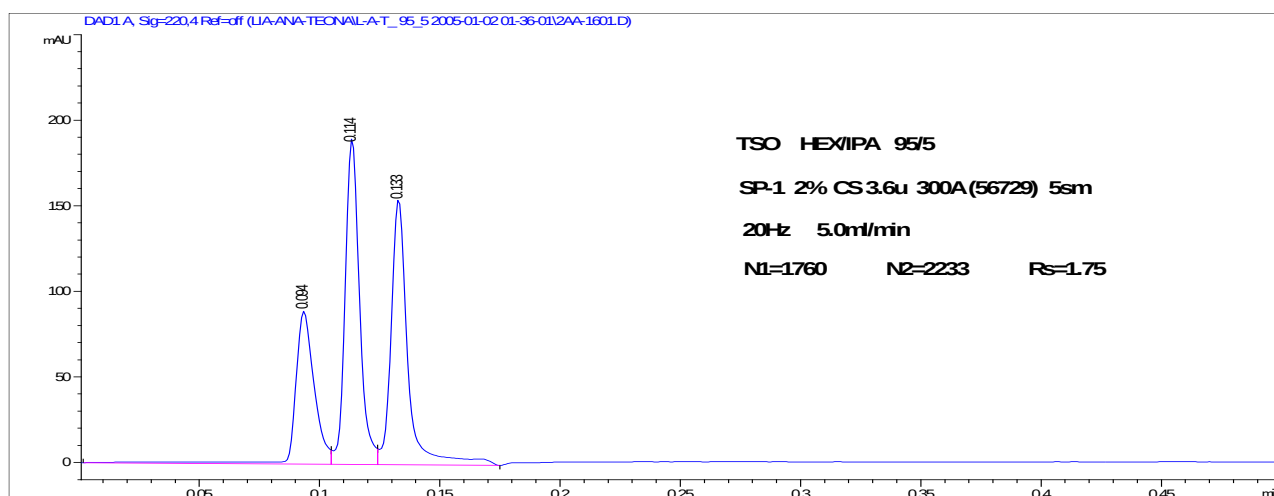
tR2 =0.141წთ=8.46წმ



ნახ. (12) ბ) სურათზე მოცემულია ფლავანონის ენანტიომერების დაყოფა უმოკლეს დროში. გამოყენებული სვეტი SP-1 5 სმ, ელუენტი ჰექსან/იზოპროპანოლი 95/5, ნაკადის მოცულობითი სიჩქარე 5 მლ/წთ, სიხშირე 80 ჰერცი.

tR1 =0.114წთ=6.84 წმ

tR2 =0.133 წთ=7.98



ნახ. (12) გ) სურათზე მოცემულია ტრანს-სტილბენის ოქსიდის ენანტიომერების დაყოფა უმოკლეს დროში. გამოყენებული სვეტი SP-1 5 სმ, ელუენტი ჰექსან/იზოპროპანოლი 95/5, ნაკადის მოცულობითი სიჩქარე 5 მლ/წთ, სიხშირე 20 ჰერცი.

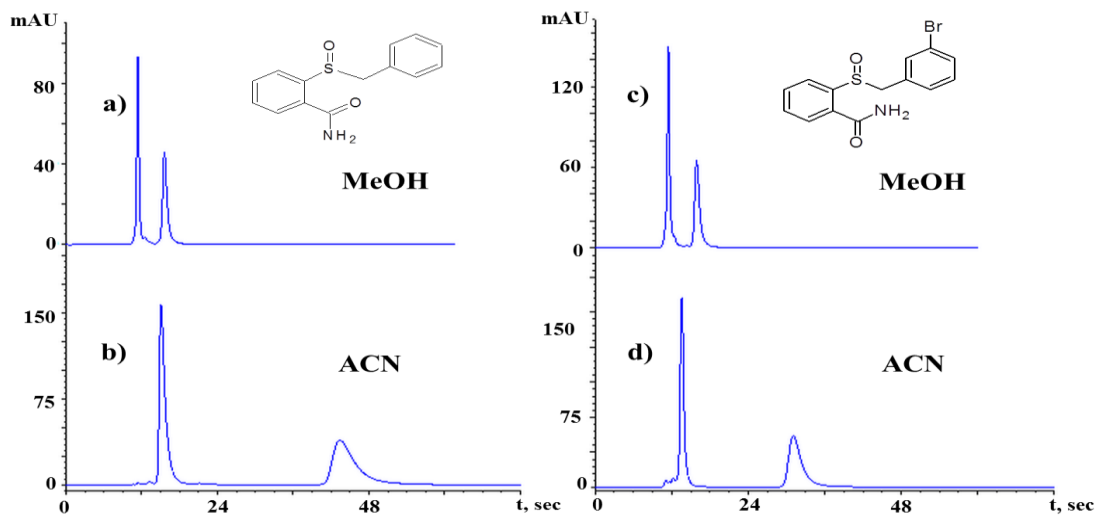
განვიხილოთ იმობილიზებული სვეტის შედეგები, ეს არის **2% sp-5 3.6u 500 A 100x4.6** .

პირველ რიგში ანალიზებისთვის ავიღეთ ქრომატოგრაფიულად სუფთა მეთანოლი და აცეტონიტრილი, ყოველგვარი დანამატების გარეშე. მეთანოლში გავანალიზეთ ზემოთ ჩამოთვლილი ყველა ქირალური ნივთიერება. სულფოქსიდებისთვის და ეთოზოლინისთვის ავავთ ვან დეემტერის მრუდები, ამისათვის სულფოქსიდები შევისწავლეთ 0.1-დან 5.0 მლ/წთ-მდე. მოცემულ ნაკადის სიჩქარეებზე შედეგების დეტექტირება ორ სიხშირეზე მოხდა, კონკრეტულად 5 და 160 ჰერცებზე და მრუდებიც შესაბამისად ორივე სიხშირეზე გაზომილი შედეგების მიხედვით ავავთ, როგორც თეორიული, ასევე ექსპერიმენტული შედეგებისთვის. თეორიული მრუდების ასაგებად გამოვთვალეთ ვან დეემტერის კოეფიციენტები, მათი მნიშვნელობები მოტანილია მე- 4 ცხრილში.

ცხრილი 4 ვან დეემტერის კოეფიციენტები.

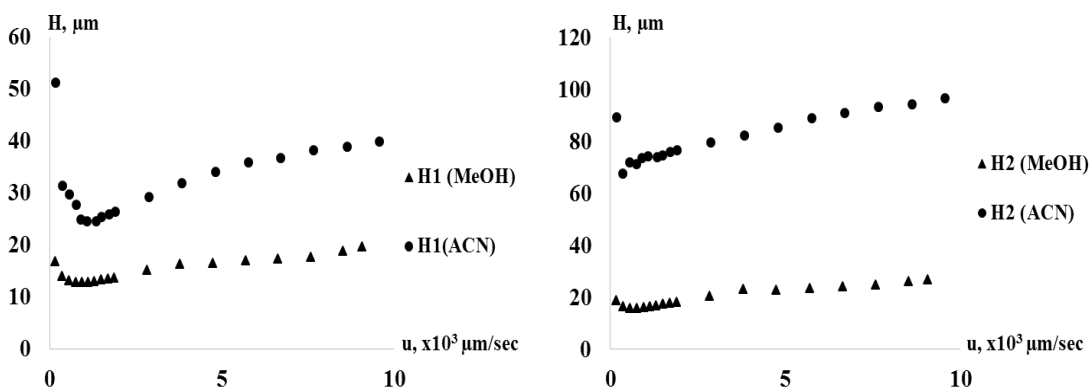
ქირალური ნივთიერება	მომრავი ფაზა	პიკის ნომერი	A, μm	B, $\mu\text{m}^2/\text{sec}$	C, sec^{-1}
2-ბენზილსულფინილ ბენზამიდი	MeOH	I	4.6	3773.8	0.0013
		II	14.7	2117.7	0.0024
2-(3-ბრომობენზილ სულფინილ) ბენზამიდი	MeOH	I	10.0	937.0	0.0011
	CAN	I	31.0	1791.2	0.0004
2-(ბენზილსულფინილ)-N,N-დიმეთილ ბენზამიდი	MeOH	I	11.4	733.5	0.0009
		II	15.4	297.5	0.0013
	ACN	I	18.1	5839.2	0.0025
		II	66.7	3208.2	0.0034
ტრანს-სტილბენის ოქსიდი	HEX/IPA 98/2 (v/v)	I	11.2	2773.5	0.0005
		II	11.0	2606.2	0.0007
		II	11.0	2606.2	0.0007

აცეტონიტრილში გავანალიზეთ ქირალური სულფოქსიდები და ეთოზოლინი. სულფოქსიდებისთვის ორივე პოლარულ-ორგანულ ფაზაში მივიღეთ ფუძისეული დაყოფები და ავაგეთ ვან დეემტერის მრუდები. სულფოქსიდებისთვის აცეტონიტრილის შემთხვევაში გამოვლინდა უფრო მაღალი სელექტივობა, ვიდრე მეთანოლში (ნახ. (13)).



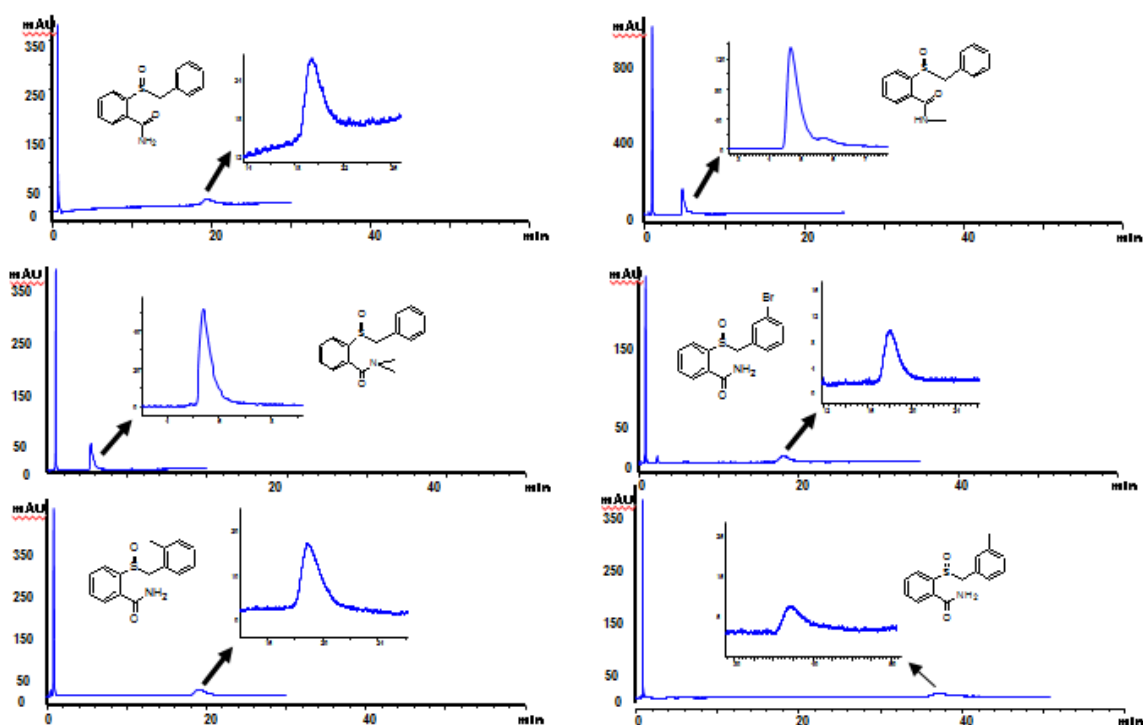
ნახ. (13) სულფოქსიდების ენანტიომერების დაყოფა დაყოფა მეთანოლსა და აცეტონიტრილში.

რაც შეეხება თეორიული თეფშების რიცხვის მნიშვნელობებს, გამომდინარე იქიდან, რომ აცეტონიტრილში სელექტივობა იყო უფრო მაღალი, შესაბამისად დაყოფები უფრო ეფექტური აღმოჩნდა მეთანოლში. ამას ადასტურებს მე-14 ნახაზზე მოტანილი ვან დეემტერის მრუდები.



ნახ. (14) მრუდები შეესაბამება 2-(ბენზილსულფინილ)-N,N-დიმეთილ ბენზამიდს. მრუდები ექსპერიმენტულ შედეგებზე დაყრდნობითაა აგებული.

ზედაპირულად ფოროვან სილიკაგელზე დაფენილი ცელულოზა-(3,5-დიქლოროფენილკარბამატი) შეუთავსებელია ისეთ მოძრავ ფაზებთან, როგორიცაა მაგალითად ჰექსან/იზოპროპანოლის ნარევი. ამის მიზეზი არის პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის ხსნადობა ნორმალურ-ფაზიანი ტიპის ელუენტებში. განსხვავებით დაფენილისგან, იმობილიზებული ქირალური სტაციონარული ფაზები მდგრადია სხვადასხვა გამხსნელების მიმართ და თუ დაფენილ ცელულოზა-(3,5-დიქლოროფენილკარბამატთან) კომბინაციაში დაუშვებელია ჰექსან-იზოპროპანოლის გამოყენება, იგივე პოლისაქარიდული სელექტორის იმობილიზებულ ვარიანტთან ეს შეზღუდვა აღარ არსებობს. შესაბამისად, ჩავატარეთ ანალიზები მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსან/იზოპროპანოლის გამოყენებით. გავანალიზეთ სულფოქსიდები ჰექსან/იზოპროპანოლი 90/10-ში. შედეგები საინტერესო აღმოჩნდა. თუკი მეთანოლში 5.0 მლ/წთ ნაკადის სიჩქარეზე ენანტიომერები ფუძისეულად იყოფოდა 25 წამზე ნაკლებ დროში, აცეტონიტრილში 1 წუთზე ნაკლებ დროში, ჰექსან/იზოპროპანოლში იგივე ნაკადის სიჩქარეზე ანალიზის დრო 15-50 წუთის ფარგლებში იყო, მიუხედავად იმისა, რომ სვეტის სიგრძე (10 სმ) და პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის მოცულობით წილი იყო ძალიან მცირე (2%) (ნახ. (15)). სულფოქსიდებისაგან განსხვავებით, ტრანს-სტილბენის ოქსიდი ჰექსან იზოპროპანოლის ამ თანაფარდობისთვის, მხოლოდ ნაწილობრივ დაიყო, ხოლო 98/2 თანაფარდობის შემთხვევაში, დაიყო ფუძისეულად.

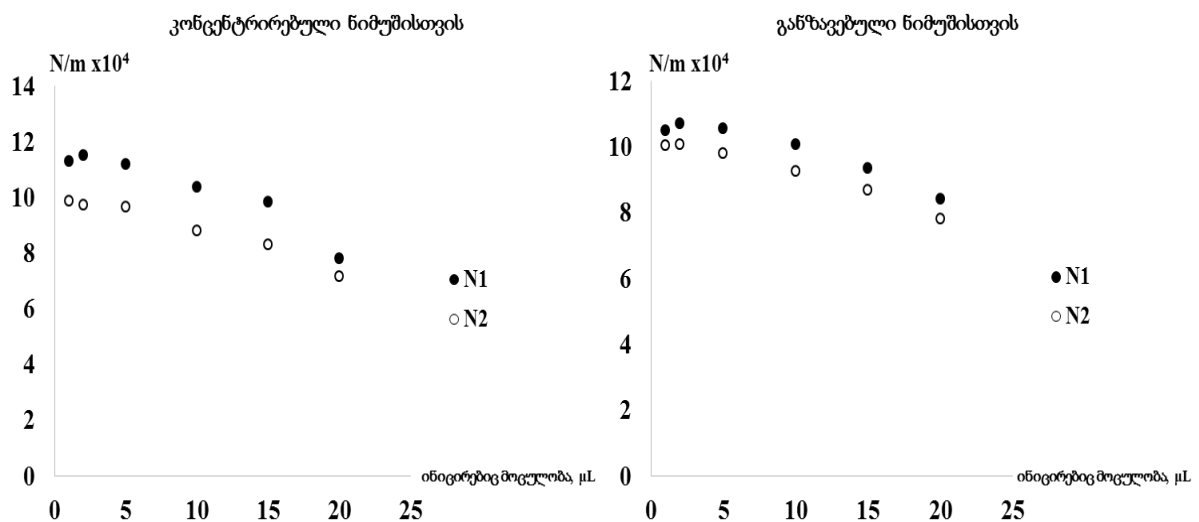


ნახ. (15) სულფოქსიდების ენანტიომერების დაყოფა დაყოფა ჰექსან/იზოპროპანოლი 90/10 -ში.

ხოლო მოძრავ ფაზად ჰექსან/იზოპროპანოლი 98/2-ის გამოყენებით ტრანს-სტილბენის ოქსიდისთვის შევისწაღეთ ნაკადის სიჩქარის გავლენა დაყოფის ეფექტურობაზე (0.1-5.0 მლ/წთ). შედეგები გავზომეთ 5 და 160 ჰერცზე, გამოვთვალეთ ვან დეემტერის კოეფიციენტები, და ორივე დეტექტირების სიხშირისთვის ავაგეთ მრუდები.

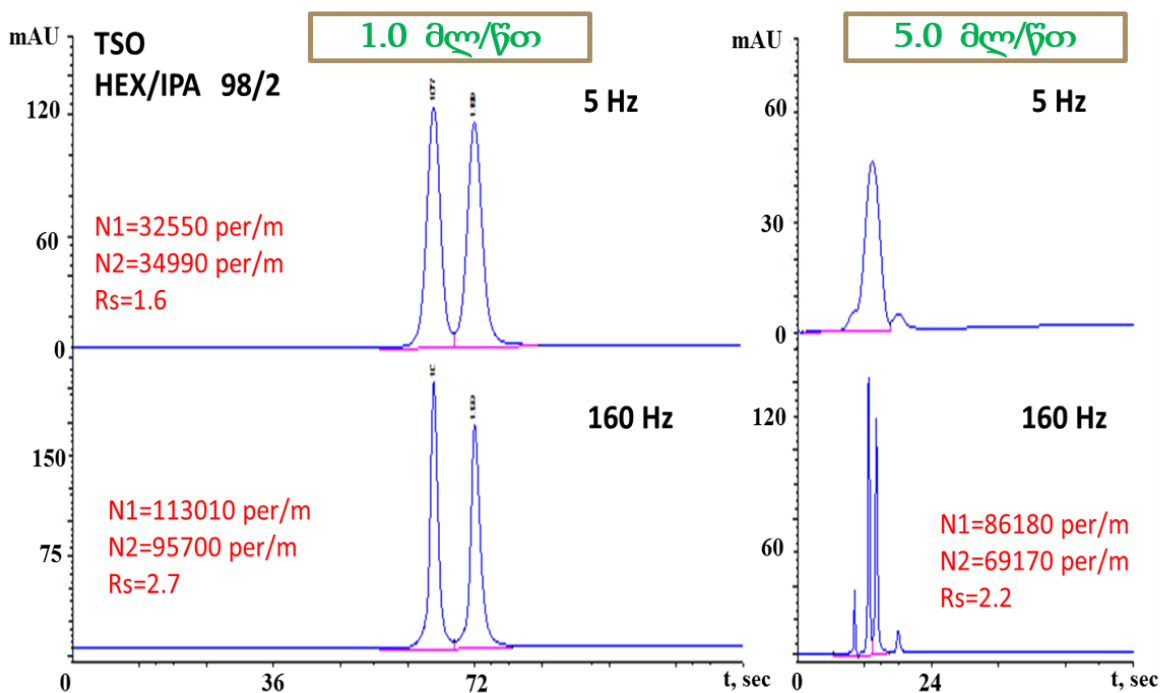
ვან დეემტერის მრუდების აგება სასარგებლოა იმისათვის, რომ გამოვთვალოთ ოპტიმალური ნაკადის სიჩქარე და დავაკვირდეთ, თუ ზოგადად რამდენად ახდენს გავლენას დაყოფის ეფექტურობაზე ნაკადის სიჩქარე. კოეფიციენტების რიცხვითი მნიშვნელობების გამოთვლა საინტერესოა იმისათვის, რომ გავიგოთ რომელი ფაქტორი არის დომინანტი ეფექტურობის შემცირების თვალსაზრისით. გარდა ამისა, შესაძლებელი ხდება ვან დეემტერის თეორიული მრუდების აგებაც, შესაბამისად შემდგომ უკვე ადვილი მისაგნებია ნაკადის სიჩქარის თეორიული ოპტიმუმიც. საბოლოო ჯამში საინტერესოა თეორიული და პრაქტიკული მრუდების და ოპტიმუმის წერტილების შედარება.

ტრანს-სტილბენის ოქსიდის მაგალითზე, შესწავლულ იქნა ნიმუშის ინიცირების მოცულობის გავლენა დაყოფის ეფექტურობაზე. ამ კუთხით ექსპერიმენტები ჩატარებულ იქნა, როგორც კონცენტრირებული (1 მგ/მლ) ასევე განზავებული (0.1 მგ/მლ) ნიმუშისთვის და ორივე შემთხვევაში, 2 მკლ-დან ზემოთ, ინიცირების მოცულობის გაზრდით ეფექტურობა მცირდებოდა (ნახ. (16)). ამ კუთხით ყველა ანალიზი ჩატარდა 1.0 მლ/წთ ნაკადის სიჩქარეზე და შედეგები გაიზომა დეტექტირების სიხშირეზე 80 ჰერცი.



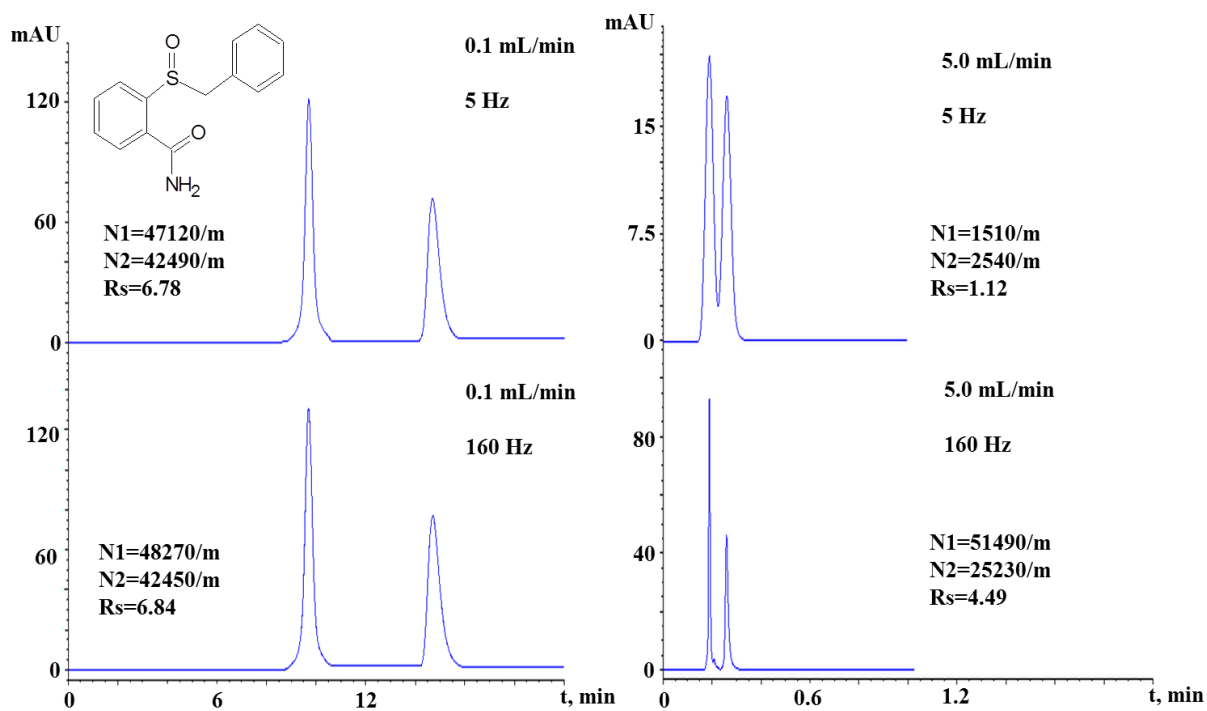
ნახ. (16) ნიმუშის ინიცირების მოცულობის გავლენა დაყოფის ეფექტურობაზე.

იგივე ქირალური ნივთიერებისთვის (ტრანს-სტილბენის ოქსიდი), 1.0 და 5.0 მლ/წთ ნაკადის სიჩქარეზე გავზომეთ შედეგები ხელსაწყოს ყველა შესაძლო დეტექტირების სიხშირეზე, კონკრეტულად, 5, 10, 20, 40, 80 და 160 ჰერცებზე. 1.0 მლ/წთ-ის შემთხვევაში, შედეგების 5 ჰერცზე გაზომვაც მისაღებია. რაც შეეხება ექსპერიმენტებს ნაკადის მაღალ სიჩქარეზე, 5 მლ/წთ-ზე, თუკი შევადარებთ 5 და 160 ან 80 ჰერცზე გაზომილ შედეგებს, ფაქტიურად, 5 ჰერცზე ჩაწერილი ქრომატოგრამით შეიძლება შევიდეთ შეცდომაში. მასზე მცირედაც კი არ ჩანს დაყოფა, მაშინ როდესაც 80 და 160 ჰერცებზე გაზომილ შედეგებში არის ფუძისეულად დაყოფილი პიკები და საკმაოდ მაღალი თეორიული თეფშების რიცხვი ნახ. (17).



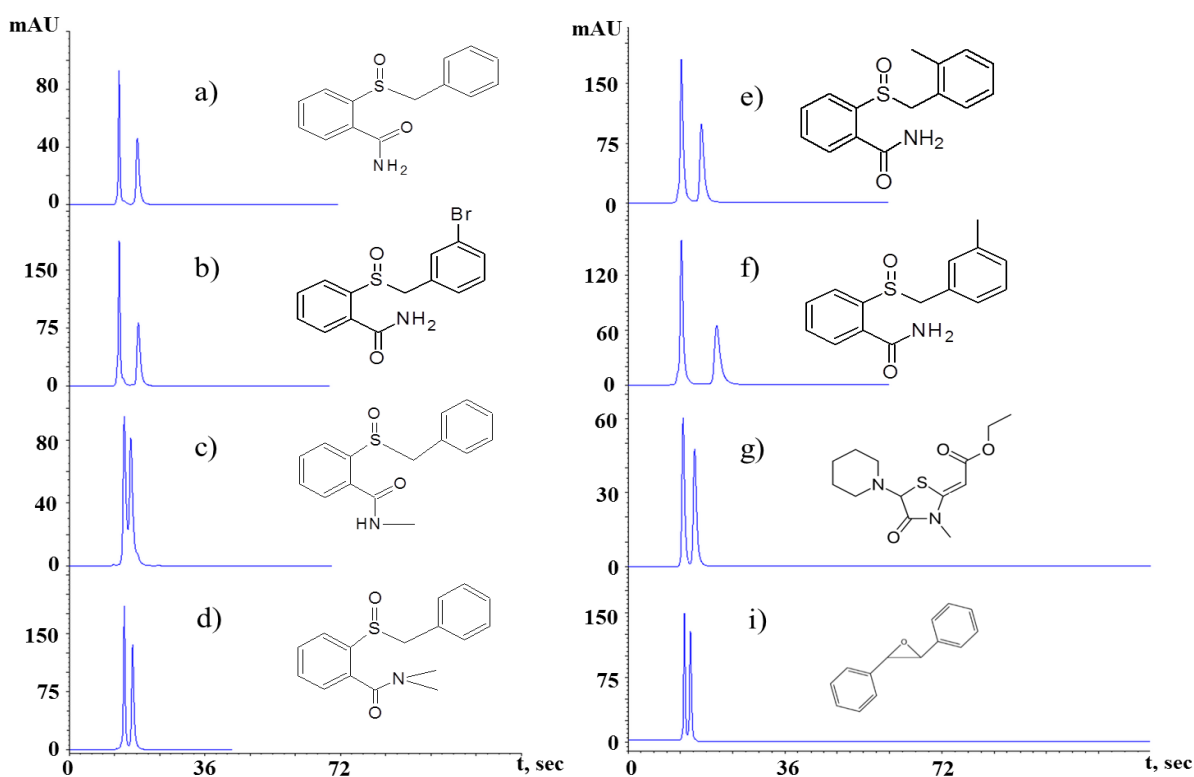
ნახ. (17) ტრანს-სტილბენის ოქსიდის ენანტიომერების დაყოფა ჰექსან/იზოპროპანოლი 98/2-ში, ნაკადის სიჩქარე 1.0 და 5.0 მლ/წთ, დეტექტირების სიხშირე 5 და 160 ჰერცი.

მოდრავი ფაზის ნაკადის დაბალ სიჩქარეებზე მუშაობისას, დიდი მნიშვნელობა არ აქვს დეტექტირება დაბალ თუ მაღალ სიხშირეზე მოხდება. რაც შეეხება ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე მუშაობის შემთხვევას, აქ აუცილებელია შედეგები გაიზომოს მაღალ სიხშირეებზე (სურ. 12). შეიძლება ითქვას, რომ ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე მუშაობისას დაბალ ჰერცებზე გაზომილი პარამეტრები, ჩაწერილი ქრომატოგრამა და მათ შორის ვან დეემტერის კოეფიციენტების მნიშვნელობები არ შეესაბამება რეალურს. როგორც სურათზე ჩანს, დაბალ ჰერცებზე გაზომილ თეორიული თეფშების რიცხვებსა და გარჩევითობებს შორის დიდია განსხვავება, ხოლო რაც მეტია დეტექტირების სიხშირე მით მცირდება ეს განსხვავება ნახ. (18).



ნახ. (18) 0.1 და 5.0 მლ/წთ ნაკადის სიჩქარეზე 5 და 160 ჰერცებზე გაზომილი შედეგების შედარება.
(საანალიზო ნივთიერება 2-ბენზილსულფინილ ბენზამიდი)

სუპერსწრაფი დაყოფები: სუპერსწრაფი დაყოფების ჩატარება ყოველთვის დიდ ინტერესს იწვევდა ენანტიომერების დაყოფის სფეროში. როგორც წესი, მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარის გაზრდა იწვევს დაყოფის ეფექტურობის შემცირებას. ვან დეემტერის მრუდზე ეს ასახულია მრუდის მკაფიო აღმავალი სახით. ჩატარებულ ექსპერიმენტებზე დაყრდნობით შეიძლება ითქვას, რომ ზედაპირულად ფოროვან სილიკაგელზე იმობილიზებული ცელულოზა-(3,5-დიქლოროფენილკარბამატი)-ს შემთხვევაში, შესაძლებელია ერთდროულად სუპერსწრაფი და მაღალეფექტური დაყოფების ჩატარება. როგორც ნახ. (19) -ზე ჩანს, ანალიზის დრო ყველა შემთხვევაში შეადგენს 25 წამზე ნაკლებს და ამის პარალელურად, ხილვადია ფუძისეული დაყოფები. ეს, ზედაპირულად ფოროვან სილიკაგელზე იმობილიზებული პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის კონცეფციის კიდევ ერთი მნიშვნელოვანი უპირატესობაა.



ნახ. (19) სუპერსწრაფი დაყოფების მაგალითები. ნაკადის სიჩქარე 5.0 მლ/წთ, დეტექტორების სიხშირე 160 ჰერცი.

5. დასკვნები

ექსპერიმენტის შედეგებმა ცხადყო, რომ ზედაპირულად ფოროვან 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 მაღალეფექტური დაყოფების შესრულება შესაძლებელია 10 წამზე მცირე დროში.

- ❖ თეორიული თეფშების რიცხვი (N) მნიშვნელოვნად არ მცირდება ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე.
 - შედარებით მცირე თეთს - H ;
 - მცირე C კოეფიციენტი;
- ❖ ფუძისეული დაყოფები მიღებულ იქნა როგორც ე.წ ნორმალურ ფაზიან (ნ-ჰექსან-იზოპროპანოლში), ასევე პოლარულ ორგანულ გამხსნელებში (მეთანოლსა და აცეტონიტრილში) მუშაობისას.
- ❖ ანალიზების ჩატარებისას ნაკადის საშუალო და განსაკუთრებით მაღალ სიჩქარეებზე აუცილებელია დეტექტორების მაღალი სიხშირეების გამოყენება.
- ❖ იმობილიზებული ქირალური სტაციონარული ფაზის კონცეფციის მნიშვნელოვანი უპირატესობაა მოძრავი ფაზების შერჩევისას შეზღუდვის არ არსებობა.
- ❖ სუპერსწრაფი დაყოფები;

6 . გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] მ. რუხაძის სალექციო კურსი (ნარევთა დაყოფის ინსტრუმენტალური მეთოდები, 2014 წელი)
- [2] გ. ჯიბუტის სადისერტაციო ნაშრომი :
(ქირალური ნივთიერებების დაყოფის ოპტიმიზაცია მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით, თსუ 2014 წელი)
- [3] G. Guichon, F. Gritti, Shell particles, trials, tribulations and triumphs, J. Chromatogr. A, 1218 (2011) 1915–1938;
- [4] K. Lomsadze, G. Jibuti, T. Farkas, B. Chankvetadze, Comparative high-performance liquid chromatography enantioseparations on polysaccharide based chiral stationary phases prepared by coating totally porous and core-shell silica particles, J. Chromatogr. A, 1234 (2012) 50-55.
- [5] Q. Kharashvili, G. Jibuti, T. Farkas, B. Chankvetadze, Further proof to the utility of polysaccharide-based chiral selectors in combination with superficially porous silica particles as effective chiral stationary phases for separation of enantiomers in high-performance liquid chromatography J. Chromatogr. A, 1467 (2016) 163-168 (PDF). DOI: 10.1016/j.chroma.2016.08.046
- [6] L. Bezhitashvili, A. Bardavelidze, T. Ordjonikidze, T. Farkas, M. Chitty, B. Chankvetadze, Effect of pore-size optimization on the performance of polysaccharide-based superficially porous chiral stationary phases for separation of enantiomers in high-performance liquid chromatography, J. Chromatogr. A, 1482 (2017) 32–38. (PDF). DOI: 10.1016/j.chroma.2016.12.055
- [7] L. Bezhitashvili, A. Bardavelidze, A. Mskhiladze, A. Volonterio, M. Gumustas, S. Ozkan, T. Farkas, B. Chankvetadze, Application of cellulose 3,5-dichlorophenylcarbamate covalently immobilized on superficially porous silica for separation of enantiomers in ultra high-performance liquid chromatography, J. Chromatogr. A, 1571 (2018) 132-139. DOI: 10.1016/j.chroma.2018.08.011

[8] N. Khundadze, S. Pantsulaia, C. Fanali, T. Farkas, B. Chankvetadze, On our way to sub-second separations of enantiomers in high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 1572 (2018) 37–43. DOI: 10.1016/j.chroma.2018.08.027

[9] Y. Okamoto, R. Aburatani, S. Miura, K. Hatada, Chiral stationary phases for HPLC: Cellulose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) and tris(3,5-dichlorophenylcarbamate) chemically bonded to silica gel, *J. Liq. Chromatogr.* 10 (1987) 1613-1628.

[10] B. Chankvetadze, T. Ikai, C. Yamamoto, Y. Okamoto, High-performance liquid chromatographic enantioseparations on monolithic silica column containing covalently attached 3,5-dimethylphenylcarbamate derivative of cellulose, *J. Chromatogr. A* 1042 (2004) 55-60.