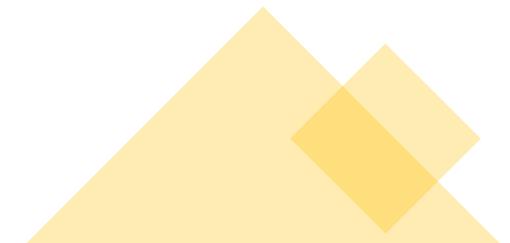


# Высокоэффективная жидкостная хроматография

**PhD, асс. Профессор Тургумбаева  
А.А.**



Современная высокоэффективная жидкостная хроматография высокого давления, скоростная жидкостная хроматография начала развиваться в начале 70-х годов XX века. Разработка нового метода обуславливалась следующими обстоятельствами:

- необходимостью анализа высококипящих ( $200^{\circ}\text{C}$ ) или неустойчивых соединений, которые не разделяются методом газовой хроматографии;
- необходимостью увеличения скорости разделения и повышения эффективности метода колоночной жидкостной хроматографии.

ВЭЖХ в настоящее время не только в значительной степени вытеснила классические КХ, ТСХ, БХ, но и обогнала по темпам развития ГХ.

Это обусловлено рядом присущих ей преимуществ.

## **Преимущества ВЭЖХ:**

1. Возможность исследования практически любых объектов без каких либо ограничений по их физико-химическим свойствам.
2. Большой диапазон молекулярных масс веществ, с которыми можно работать (от нескольких единиц до десятков миллионов), что существенно шире, чем в ГХ.
3. Мягкость условий ВЭЖХ, когда разделение можно проводить при температурах близких к комнатной, при отсутствии контакта с воздухом, делает ее особенно пригодной, а иногда единственным методом исследования лабильных соединений (БАВ и биополимеров).
4. Высокая эффективность разделения (которая составляет 200 000 т.т. на 1 м) существенно превосходит таковую в ГХ.
5. Экспрессность анализа: обычно разделение сложной смеси в ВЭЖХ занимает несколько минут.
6. Высокая чувствительность ВЭЖХ в ряде случаев превосходит чувствительность в ГХ, а высокоселективные детекторы позволяют определять микроколичества веществ в сложных смесях.
7. Возможность автоматизации разделения и анализа сложных смесей органических и неорганических веществ. В настоящее время в лабораториях имеются полностью автоматизированные хроматографы, которые дают возможность не только автоматически дозировать и проводить хроматографическое разделение целой серии образцов, но и оценивать хроматограммы с помощью предварительной градуировки.

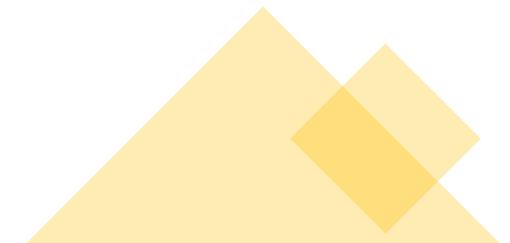


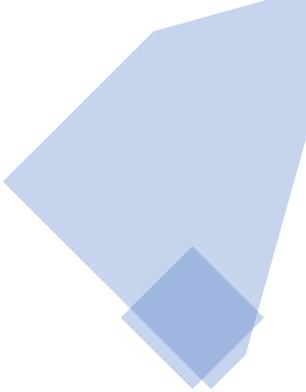
ВЭЖХ – серийный метод определения органических соединений многих классов; его широко используют при анализе смесей аминокислот, белков, различных лекарственных средств с целью установления их подлинности, чистоты и количественного содержания.

Высокоэффективная жидкостная хроматография выполняется под повышенным давлением жидкости до 666,5 кПа (500 атм.).

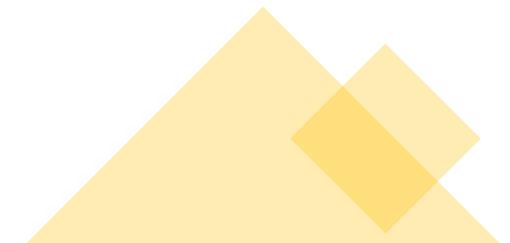
Разделение смеси происходит в колонке, заполненной сорбентом с очень малым размером зерен (3-5 мк), и это является основной особенностью ВЭЖХ, поскольку обеспечивает быстрый перенос при высокой эффективности разделения.

Важной особенностью ВЭЖХ (в отличие от ГЖХ) является возможность проведения процесса при комнатной температуре, что ценно при исследовании белков, аминокислот и других неустойчивых соединений.





Высокоэффективная жидкостная хроматография  
Высокоэффективная жидкостная  
хроматография - Высокоэффективная  
жидкостная хроматография - YouTube



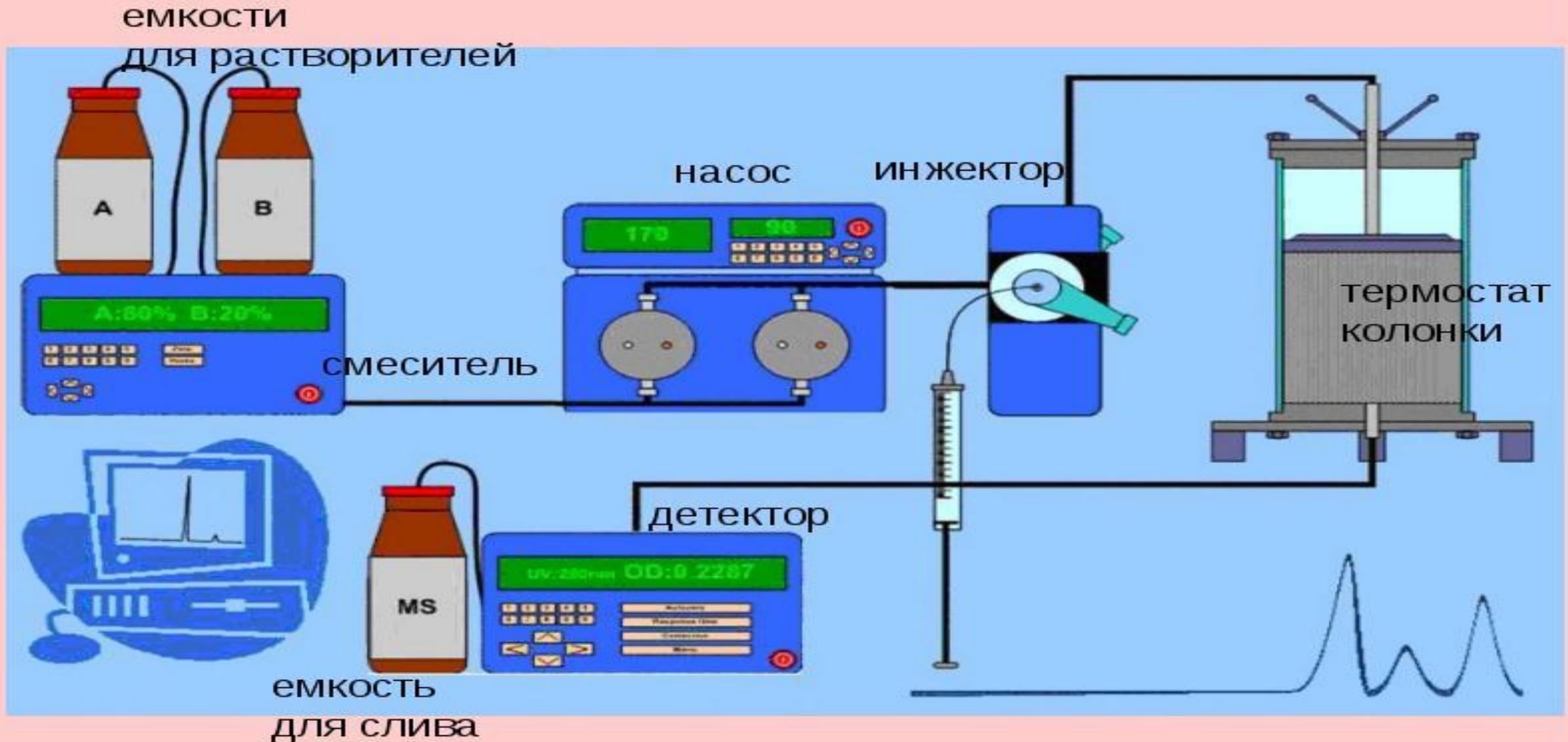
# Высокоэффективная жидкостная хроматография

## КАКИЕ БЫВАЮТ ХРОМАТОГРАФЫ?

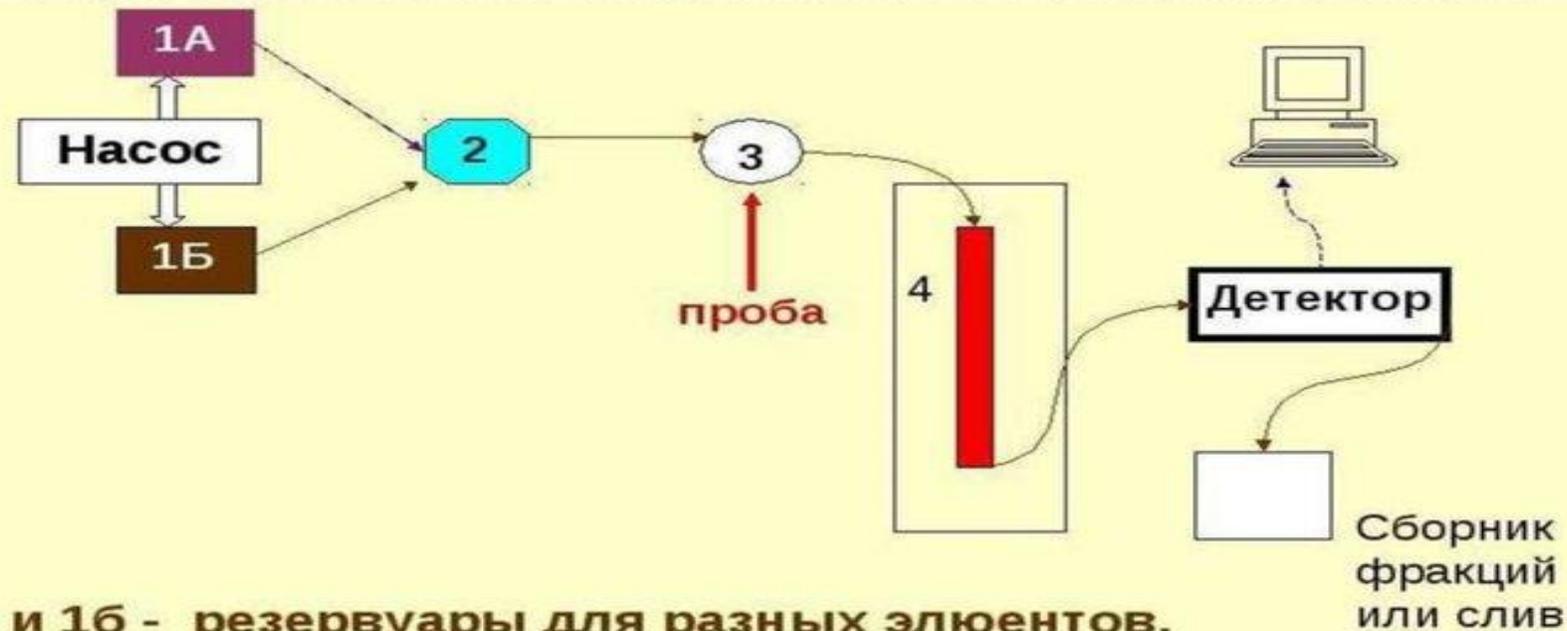
ПРЕПАРАТИВНЫЕ ХРОМАТОГРАФЫ



# Схема хроматографов для ВЭЖХ



## Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)



- 1а и 1б - резервуары для разных элюентов,
- 2 - смеситель для градиентного элюирования,
- 3 - кран-дозатор,
- 4 - микроколонка с сорбентом

## \* Нормально-фазовая ВЭЖХ

В качестве элюента в НФВЭЖХ используются неполярные растворители, такие как:

- \* n-гексан,
- \* n-гептан
- \* этиловый эфир уксусной кислоты.

Содержание влаги в элюенте имеет большое значение, так как даже незначительное колебание содержания воды вызывает существенные изменения в значении времен удерживания.

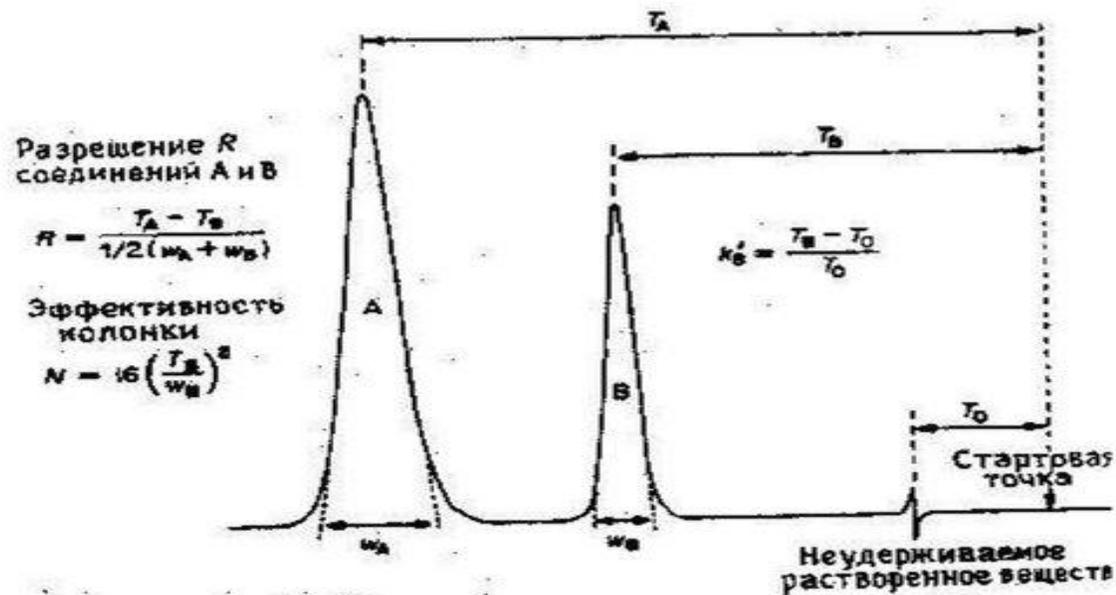
*В качестве элюента в НФВЭЖХ применяют неполярные растворители.*

Хроматографируют (пропускают через высокоэффективную колонку) исследуемое вещество. Затем через эту же колонку пропускают **стандартное вещество**. Получают хроматограммы исследуемого вещества и **стандартного вещества**.



## Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

Высокоэффективная жидкостная хроматография - универсальный метод количественного и качественного анализа смесей соединений всех классов веществ (летучих и нелетучих, термически стабильных и нестабильных, полярных и неполярных)



Каждое соединение при данном наборе рабочих условий имеет определенное время удерживания (объем удерживания)