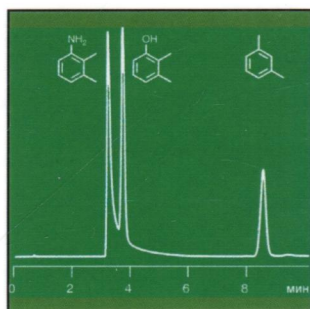


Х И М И И

Вероника Р. Майер

Практическая
высокоэффективная
жидкостная хроматография
Издание 5-е



ТЕХНОСФЕРА



М И И И И

Вероника Р. Майер

**Практическая высокоэффективная
жидкостная хроматография**
Издание 5-е

Перевод с английского
к.х.н. И.А. Петухова,
О.А. Петуховой,
к.б.н. С.Б. Гомбоевой,
А.А. Богомолова,
В.М. Бару,
к.т.н. М.Б. Бару
под общей редакцией
к.т.н. М.Б. Бару

ТЕХНОСФЕРА
Москва
2019

УДК 543.544.5

ББК 24.58

M14

M14 Майер Вероника Р.

Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография.

Издание 5-е.

Москва: ТЕХНОСФЕРА, 2019. – 408 с. + 2 с. цв. вкл.

ISBN 978-5-94836-480-3

Представляем читателю 5-е издание книги, которое расширено за счет современных методов и оборудования. В книге многое доработано, добавлено большое количество ссылок. Те места в тексте, где не хватало информации о современном положении дел в ВЭЖХ или нужны были дополнительные ссылки на соответствующую литературу. В издание включена новая тема – контроль качества. Два раздела в приложениях были обновлены и расширены Бруно И. Ленди – раздел о тестировании хроматографической системы и раздел о выявлении и устранении неисправностей. Были написаны некоторые новые разделы.

Книга отличается простотой изложения и, что не менее важно, такими же простыми и понятными иллюстрациями, значительно облегчающими понимание излагаемого материала. Несомненное достоинство книги — множество практических задач, которые автор предлагает решить начинающему хроматографисту в ходе обучения.

Издание рекомендовано начинающим изучать высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ).

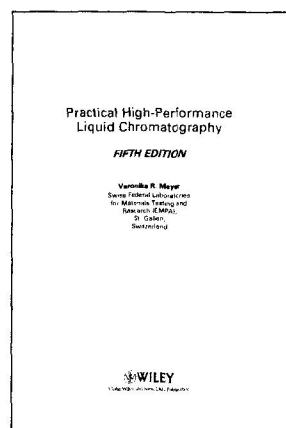
УДК 543.544.5

ББК 24.58

© 2010 by John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Все права защищены. Авторизованный перевод с английского издания «Джон Вайли энд Санс Лимитед». АО РИЦ «ТЕХНОСФЕРА» несет полную ответственность за правильность перевода. «Джон Вайли энд Санс Лимитед» освобождается от этой ответственности. Ни одна часть книги не может быть воспроизведена в какой-либо форме без письменного разрешения правообладателя оригинала «Джон Вайли энд Санс Лимитед».

© 2019, АО «РИЦ «ТЕХНОСФЕРА», перевод на русский язык, оригинал-макет, оформление



ISBN 978-5-94836-480-3

ISBN 978-0-470-68218-0 (англ.)

Содержание

Предисловие к пятому изданию	11
Предисловие редактора перевода	12
Важные и полезные формулы в ВЭЖХ	13
Глава 1. Введение	16
1.1. ВЭЖХ: эффективный метод разделения	16
1.2. Первый эксперимент с ВЭЖХ	16
1.3. Виды разделений в жидкостной хроматографии	18
1.4. Хроматографическая система для ВЭЖХ	20
1.5. Безопасность в хроматографической лаборатории	21
1.6. Сравнение высокоэффективной жидкостной и газовой хроматографии	22
1.7. Сравнение высокоэффективной жидкостной хроматографии и капиллярного электрофореза	23
1.8. Единицы измерения давления, длины и вязкости	24
1.9. Научные журналы	25
1.10. Рекомендованные книги	25
Глава 2. Теоретические принципы	27
2.1. Хроматографический процесс	27
2.2. Размывание зоны	29
2.3. Хроматограмма и ее суть	33
2.4. Графическое изображение пар пиков с разной степенью разрешения	39
2.5. Факторы, влияющие на разрешение	43
2.6. Внеколоночные объемы (мертвые объемы)	48
2.7. Размывание заднего фронта пика	49
2.8. Пиковая емкость и статистическая вероятность разрешения	53
2.9. Влияние температуры на ВЭЖХ-разделение	56
2.10. Возможности ВЭЖХ	58
2.11. Как определить пиковую емкость	62
Глава 3. Насосы	64
3.1. Общие требования	64
3.2. Короткоходовый плунжерный насос	64
3.3. Обслуживание и ремонт	67
3.4. Другие конструкции насосов	69
Глава 4. Подготовка оборудования к нанесению образца	70
4.1. Выбор подвижной фазы	70
4.2. Приготовление подвижной фазы	72

4.3. Градиентные системы	74
4.4. Капилляры	75
4.5. Фитинги (соединительные муфты)	78
4.6. Инжекторы для введения пробы	79
4.7. Раствор образца и его объем	82
Глава 5. Свойства растворителей	85
5.1. Таблица органических растворителей	85
5.2. Селективность растворителя	88
5.3. Смешиваемость	89
5.4. Буферы	89
5.5. Срок годности элюентов	92
5.6. Калькулятор смесей элюентов	93
Глава 6. Детекторы	95
6.1. Общие положения	95
6.2. УФ-детекторы	100
6.3. Рефрактометрические детекторы	102
6.4. Флуоресцентные детекторы	104
6.5. Электрохимические (амперометрические) детекторы	106
6.6. Детекторы светорассеяния	107
6.7. Другие детекторы	109
6.8. Комплексное детектирование	110
6.9. Непрямое (косвенное) детектирование	112
6.10. Сочетание ВЭЖХ со спектроскопией	112
Глава 7. Колонки и сорбенты	119
7.1. Колонки для ВЭЖХ	119
7.2. Предколонки	121
7.3. Основные свойства сорбентов	122
7.4. Силикагель	127
7.5. Химически модифицированные силикагели	129
7.6. Сополимеры стирола и дивинилбензола	133
7.7. Другие стационарные фазы	135
7.8. Хранение и регенерация колонки	139
Глава 8. Тестирование ВЭЖХ-колонок	143
8.1. Простое тестирование ВЭЖХ-колонок	143
8.2. Определение размера частиц	145
8.3. Определение времени пророскока	146
8.4. Тестовая смесь	148
8.5. Безразмерные параметры, характеризующие колонку ВЭЖХ	150

8.6. Уравнение Ван-Деемтера с приведенными параметрами и его использование в диагностике колонок	152
8.7. Кривые Ван-Деемтера и другие зависимости	154
8.8. Коэффициенты диффузии	156
Глава 9. Адсорбционная хроматография: нормально-фазовая хроматография	159
9.1. Что такое адсорбция?	159
9.2. Элюотропный ряд	162
9.3. Селективные свойства подвижной фазы	162
9.4. Выбор и оптимизация состава подвижной фазы	165
9.5. Приложения	168
Глава 10. Обращенно-фазовая хроматография	171
10.1. Основы	171
10.2. Подвижная фаза в обращенно-фазовой хроматографии	173
10.3. Селективность и сила растворителей	175
10.4. Обращенно-фазовые неподвижные сорбенты	178
10.5. Разработка методики в обращенно-фазовой хроматографии	183
10.6. Приложения	184
10.7. Хроматография гидрофобных взаимодействий	187
Глава 11. Хроматография на химически привитых фазах	190
11.1. Введение	190
11.2. Свойства некоторых стационарных фаз	190
11.3. Хроматография гидрофильных взаимодействий	194
Глава 12. Ионообменная хроматография	196
12.1. Введение	196
12.2. Принцип ионообменной хроматографии	196
12.3. Свойства ионообменников	197
12.4. Влияние подвижной фазы	199
12.5. Особые возможности ионного обмена	201
12.6. Практическое применение	203
12.7. Практические приложения	205
Глава 13. Ион-парная хроматография	208
13.1. Введение	208
13.2. Практическая ион-парная хроматография	209
13.3. Другие области применения	211
13.4. Приложение: УФ-детектирование при помощи ИПА	212

Глава 14. Ионная хроматография	214
14.1. Основы	214
14.2. Способы подавления	214
14.3. Элюенты	216
14.4. Область применения	218
Глава 15. Эксклюзионная хроматография	219
15.1. Принцип	219
15.2. Калибровочная хроматограмма	222
15.3. Определение молекулярной массы с помощью эксклюзионной хроматографии	225
15.4. Соединение нескольких колонок для эксклюзионной хроматографии	228
15.5. Фазовые системы	229
15.6. Приложения	230
Глава 16. Аффинная хроматография	234
16.1. Механизм	234
16.2. Аффинная хроматография как частный случай ВЭЖХ	235
16.3. Применение	237
Глава 17. Выбор метода	240
17.1. Различные варианты и возможности	240
17.2. Перенос методики	244
Глава 18. Проблемы разделения	247
18.1. Проблема элюирования	247
18.2. Градиенты	248
18.3. Переключение колонок	253
18.4. Комплексная двумерная ВЭЖХ	256
18.5. Оптимизация изократического разделения с помощью четырех растворителей	258
18.6. Оптимизация других параметров	261
18.7. Смешанные сорбенты	266
Глава 19. Аналитическая ВЭЖХ	268
19.1. Качественный анализ	268
19.2. Анализ следовых количеств вещества	270
19.3. Количественный анализ	274
19.4. Извлечение	279
19.5. Определение высоты и площади пика для количественного анализа	281

19.6. Ошибки интегрирования	285
19.7. Длина волны детектирования	286
19.8. Дериватизация	288
19.9. Неожиданные пики: пики-призраки и системные пики	290
Глава 20. Обеспечение качества	293
20.1. Стоит ли тратить на это силы?	293
20.2. Подтверждение вторым методом	294
20.3. Метод валидации	294
20.4. Стандартные операционные процедуры	296
20.5. Погрешность измерения	297
20.6. Аттестация, тестирование прибора и тест на пригодность системы	298
20.7. Задача определения качества	300
Глава 21. Препаративная ВЭЖХ	303
21.1. Задачи	303
21.2. Препаративная ВЭЖХ на практике	304
21.3. Перегрузка	307
21.4. Сбор фракций	310
21.5. Рехроматография	311
21.6. Вытеснительная хроматография	312
Глава 22. Разделение энантимеров	314
22.1. Введение	314
22.2. Хиральные подвижные фазы	316
22.3. Твердый носитель, покрытый хиральной жидкой неподвижной фазой	317
22.4. Хиральные твердые неподвижные фазы	318
22.5. Непрямой метод разделения энантимеров	325
Глава 23. Особые возможности	328
23.1. Капиллярная ВЭЖХ, микро-ВЭЖХ и ВЭЖХ на чипе	328
23.2. Высокоскоростная и сверхскоростная ВЭЖХ	331
23.3. Экспресс-разделения при 1000 бар: УВЭЖХ	334
23.4. ВЭЖХ со сверхкритическими подвижными фазами	335
23.5. ВЭЖХ с перегретой водой	338
23.6. Электрохроматография	339

Глава 24. Приложение 1: прикладная теория ВЭЖХ	341
Глава 25. Приложение 2: как провести тестирование системы	351
25.1. Введение	351
25.2. Порядок проведения тестирования	351
25.3. Подготовка	352
25.4. Тестирование насоса	355
25.5. Тестирование УФ-детектора	359
25.6. Тестирование автосамплера	361
25.7. Тестирование термостата	361
25.8. Уравнения и вычисления	362
25.9. Протоколирование	363
Глава 26. Приложение 3: неисправности	364
26.1. Проблемы, связанные с давлением	364
26.2. Утечка в системе подачи подвижной фазы	366
26.3. Изменения/отклонения времен удерживания	366
26.4. Проблемы ввода образца	367
26.5. Проблемы, связанные с базовой линией	368
26.6. Проблемы, связанные с формой пика	369
26.7. Неисправности при работе с детекторами светорассеивания	371
26.8. Другие случаи	372
26.9. Проверка хроматографической системы	373
Глава 27. Приложение 4: упаковка колонки	374
Указатель разделений	378
Предметный указатель	380
О группе компаний «АНАЛИТ»	393
Аттестованные и внесенные в Госреестр методики, а также методические указания, разработанные группой компаний «АНАЛИТ» для анализа в пищевой и технологической сферах	398