ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

ნანა ხუნდაძე

ზოგიერთი ახალი ქირალური სულფოქსიდების ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში კორშელის ტიპის 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,

2017 წელი

ანოტაცია

ზედაპირულად ფოროვანი გლუვი სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებული პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორებით შევსებული ქრომატოგრაფიული სვეტები ეფექტურობის გაზრდის მიზნით შეიქმნა. დღეისთვის ზედაპირულად ფოროვანი სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებული სელექტორები აღიარეს როგორც საუკეთესო ქრომატოგრაფიაში. ისინი შევსებულია ერთგვაროვანი ნაწილაკებით და გამოირჩევიან დიფუზიის მოკლე გზით.

ჩვენი ექსპერიმენტის ძირითადი მიზანი იყო, რომ მიგვეღწია დაყოფა რაც შეიძლება მცირე დროში. ექსპერიმენტში მიღებული მასალა ამტკიცებს, რომ შესაძლებელია ენანტიომერების დაყოფა რამოდენიმე წამში.

რადგან ჩვენი ექსპერიმენტი მოითხოვდა მოძრავი ფაზის მაღალ სიჩქარეებზე მუშაობას, აუცილებელი იყო დავკვირვებოდით სვეტის ეფექტურობას. კორშელის ტიპის სვეტები ნაწილაკთა სტრუქტურის თავისებურებიდან გამომდინარე ამ პრობლემის გადაჭრის საშუალებას იძლევა.

Summary

The rational behind the concept of shell particles was to improve column efficiency by shortening the pathways that analyte molecules must travel and so doing, to improve their mass transfer kinetics.

Chromatographic chiral adsorbents coated on superficially porous particles, also called core-shell are rapidly developing material for chiral and achiral separations in high performance liquid chromatography.

The results of our study indicate that enantiomeric separations in few seconds are now feasible.

In of our experiment the flow rate of mobile phase was very high and we need to observe efficiency of chiral columns. At high mobile phase flow rates superficially porous particles are advantageous for ultrafast separation. The morphology of core-shell particles gives us an opportunity to solve this problem.

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……..13

2.6 ზედაპირულად ფოროვანი სილიკაგელის ბაზაზე მომზადებული პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზის უპირატესობები…...……....14

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 მოძრავი ფაზები ……17

3.2 საკვლევი ნივთიერებები …….17

3.3 გამოყენებული ქირალური სტაციონარული ფაზები.....17

3.4 გამოყენებული აპარატურა 18

3.5 ანალიზის პირობები 18

4 შედეგები და განსჯა 19

5. დასკვნები 22
6 . გამოყენებული ლიტერატურა 22

1. შესავალი

ენანტიომერული ნარევების დაყოფა წარმოადგენს ქიმიის ერთ-ერთ აქტუალურ პრობლემას როგორც პრაქტიკული , ისე თეორიული თვალსაზრისით. აქტუალობას კი ის განაპირობებს რომ ქიმიური ნივთიერებების ენანტიომერები ხშირ შემთხვევაში განსხვავებდებიან ერთმანეთისგან ბიოლოგიური მოქმედებით , ამიტომ მნიშვნელოვანია ასეთი ნივთიერებების ანალიზი ან ქირალურად სუფთა სახით მიღება. ქირალურ ნივთიერებებს განეკუთვნება ქირალური სამკურნალო საშუალებები, საკვები დანამატები , სასოფლო-სამეურნეო შხამქიმიკატები, და სხვა. გარდა ამისა , ენდოგენური ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერული შედგენილობის შესწავლის საფუძველზე შეიძლება გაკეთდეს დიაგნოსტიკური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი დასკვნები.

ენანტიომერები არიან სივრცულ იზომერები - ისინი იდენტურები არიან ქიმიური და ფიზიკური თვისებებით. გამონაკლისს წარმოადგენს ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის კუთხის ნიშანი. ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდებიან მხოლოდ ატომთა ჯგუფების განლაგებით სივრცეში.

იმის გამო რომ ენანტიომერების ქიმიური და ფიზიკური თვისებები ერთნაირია, ენანტიომერული ნივთიერებების დაყოფა აქირალურ გარემოში შეუძლებელია. მხოლოდ მე-20 საუკუნის 60-იანი წლებიდან მოხერხდა ენანტიომერების პირველი ინსტრუმენტული დაყოფა გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდის გამოყენებით. 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 ფართო არჩევანი, სიმარტივე, და მათი ხელმისაწვდომობა.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა:

2.1 ქრომატოგრაფია

ქრომატოგრაფია არის ნარევების კომპონენტებად დაყოფის მეთოდი, [1] რომელიც დაფუძნებულია კომპონენტების წონასწორულ განაწილებებს შორის განსხვავებაზე ორ ერთმანეთთან შეურევად ფაზაში . 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.ნიმუშის კომპონენტები მოძრაობენქრომატოგრაფიულ სისტემაში მხოლოდ მაშინ როდესაც ისინი არიან მოძრავ ფაზაში.

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

ენანტიომერული დაყოფის ძირითად საშუალებას წარმოადგენს მათი განსხვავებული შეკავება ქრომატოგრაფიულ სვეტზე , რომელიც შევსებულია ქირალური სტაციონალური ფაზით. 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). მას გააჩნია მთელი რიგი უპირატესობები:

1) ქირალური უძრავი ფაზები და ქირალური სვეტები, რომლებიც ამ მეთოდში გამოიყენება , ხელმისაწვდომია;
2) გაზურ ქრომატოგრაფიისგან განსხვავებით , მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია არააქროლადი და თერმოლაბილური ნივთიერებების ანალიზის საშუალებას იძლევა
3) დეტექტორები, რომლებიც უზრუნველყოფენ მეთოდის მგრძნობიარობას, ხელმისაწვდომია.

მიუხედავად იმ ფაქტისა, რომ ცნობილია საკმაოდ ბევრი ქირალური სელექტორი, რომელიც შეიძლება გამოყენებულ იქნას ენანტიომერების დასაყოფად მესქ-ში, კვლავაც რთულია ისეთი ქირალური სელექტორის შერჩევა და მათ მიერ ენანტიომერების დაყოფის უნარის შეფასება, 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.

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. გრიგალისებური დიფუზიის კოეფიციენტი 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, სვეტის 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 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 k არის შეკავების კოეფიციენტი ანუ შეკავების ფაქტორი. თუ კომპონენტებს განსხვავებული k არ აქვთ, ორკომპონენტიანი ნარევი ვერ დაიყოფა. თუ $\alpha = 1$ 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:

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

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

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

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

$$H=L/N$$

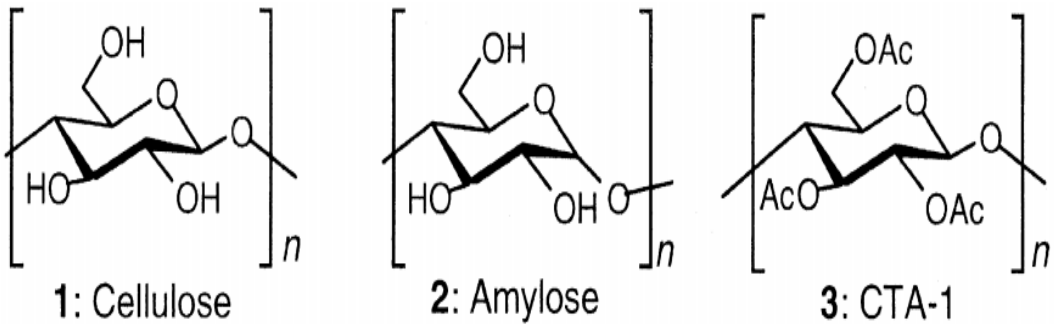
სადაც L არის სვეტის სიგრძე.

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 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 წარმოადგენენ ყველაზე ფართოდ გამოყენებულ ქირალურ სტაციონალურ ფაზებს ენანტიომერების დასაყოფად მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში. ისინი გამოიყენება არა მხოლოდ ჩვეულებრივი ზომის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის სვეტებში, არამედ მინიატურულ მეთოდებშიც , როგორიცაა კაპილარული სითხური ქრომატოგრაფია და კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია.

პოლისაქარიდები , როგორებიცაა ცელულოზა (1) და ამილოზა (2) წარმოადგენენ ბუნებაში ყველაზე ფართოდ გავრცელებულ ქირალურ პოლიმერებს , რომელთაც გააჩნიათ კარგად შესწავლილი სქტრუქტურები ,თუმცა მათი ქირალური გამოცნობის უნარი ნაწარმებში გადაყვანის გარეშე არ არის მაღალი.



 რაც შეეხება მე-3 სტრუქტურას ის წარმოადგენს მიკროკრისტალურ ცელულოზას ტრიაცეტატს, რომელიც იყო პრაქტიკაში პირველად გამოყენებული მაღალეფექტური პოლისაქარიდული ქირალური ფაზა დასინთეზებული ჰესეს და ჰაგელის მიერ 1973 წელს.

  მოგვიანებით ოკამოტოსა და თანამშრომლების მიერ შემუშავებული იქნა პოლისაქარიდების ტრისბენოზატები და ტრისფენილკარბამატები.

  ამ ტიპის ქირალურ სტაციონალურ ფაზებზე მოხერხდა სხვადასხვა ფუნქციონალური ჯგუფების შემცველი რაცემატების ფართო ჯგუფის დაყოფა, რომელიც დამოკიდებული იყო ფენილის ჯგიფში არსებულ ჩამნაცვლებელზე.

პოლისაქარიდების ფენილკარბამატების მიერ ენანტიომერების დაყოფის გაუმჯობესების მიზნით , ჭანკვეტაძისა და თანამშრომლების მიერ შემუშავებული იქნა პოლისაქარიდების ისეთი ფენილკარბამატები , რომლებიც ერთდროულად შეიცავენს როგორც ელექტრონოდონორულ , ასევე ელექტრონოაქცეპტორულ ჩამნაცვლებლებს. პოლისაქარიდების ასეთ ახალ ნაწარმებს ენანტიომერული ნარევების დაყოფის განსაკუთრებით მაღალი უნარი გააჩნიათ .

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 თ ეორიული 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.

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 ექსპერიმენტში გამოყენებული მოძრავი ფაზები

1) ჰექსან/იზოპროპანოლი - 90/10

2) აცეტონიტრილი

3.2 საკვლევი ნივთიერებები

1) 2-(ბენზილსულფინილ)-ბენზამიდი
2) 2-(ბენზილსულფინილ)-ნ-ნ-დიმეთილბენზამიდი
3) 2-(3-ბრომბენზილსულფინილ)-ბენზამიდი
4) 2-(4-მეთილბენზილსულფინილ)-ბენზამიდი
5) 2-(2-მეთილბენზილსულფინილ)-ბენზამიდი

3.3 ექპსერიმენტში გამოყენებული ქირალური სტაციონალური ფაზები

1) 0.1 % SP-4 on CS-2.6-100 30x2.1
2) 1% SP-4 on CS-2.6-100 30x2.1
3) 0.1% CC4 on CS-2.6-100-P6 10x2

SP-4 სვეტი წარმოადგენს ცელულოზას ნაწარმს (ცელულოზა ტრის-(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატი). ექსპერიმენტში გამოყენებული სვეტები , როგორც უკვე აღვნიშნეთ არის ზედაპირულად ფოროვანი, რომლებიც სტანდარტული სვეტებისგან განსხვავებით შეიცავენ მკვრივ ბირთვს ,რომელიც გარშემორტყმულია ფორებით სადაც მოძრავი ფაზა და საანალიზო ნიმუში განიცდის დიფუზიას. სვეტების სიგრძე საკმაოდ მოკლეა ,გვაქვს როგორც 3 სანტიმეტრიანი ასევე 1 სანტიმეტრიანი ტიპის ახალი სვეტები, სადაც ქირალურ ი სელექტორის შემცველობაც საკმაოდ მცირეა (ჩვენს შემთხვევაში 0.1% და 1%) თუ შევადარებთ სტანდარტულ სვეტებს სადაც ქირალური სელექტორის შემცველობა 20-25 %-ია.

ასევე ექსპერიმენტში გამოვიყენეთ სრულიად ახალი ტიპის ქირალური სტაციონალური ფაზები სვეტის სიგრძით 20მმ. თუმცა აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ ქირალური სელექტორი

მხოლოდ 5მმ-ზეა დაფენილი, დანარჩენი 15მმ აქირალურია.რეალურად სვეტი უკვე გამოდი 5მმ სიგრძის, რადგან 1სმ-იან სვეტზე უფრო მოკლე სვეტის დამზადება პრაქტიკულად შეუძლებელია.

3.4 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,რაც გამოარჩევს მას სხვა ტიპის სითხური ქრომატოგრაფიისგან. ტალღის სიგრძე 250ნმ. უნდა აღინიშნოს რომ მოხდა ხელსაწყოს ოპტიმიზაცია ექსპერიმენტის განხორციელებისას, კერძოდ, შემცირდა კაპილარის სიგრძე .გამოვიყენეთ ტუმბო , რომელიც მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარის გაზრდას 10 მლ/წთ-მდე გვაძლევდა.

3.5 ანალიზის პირობები

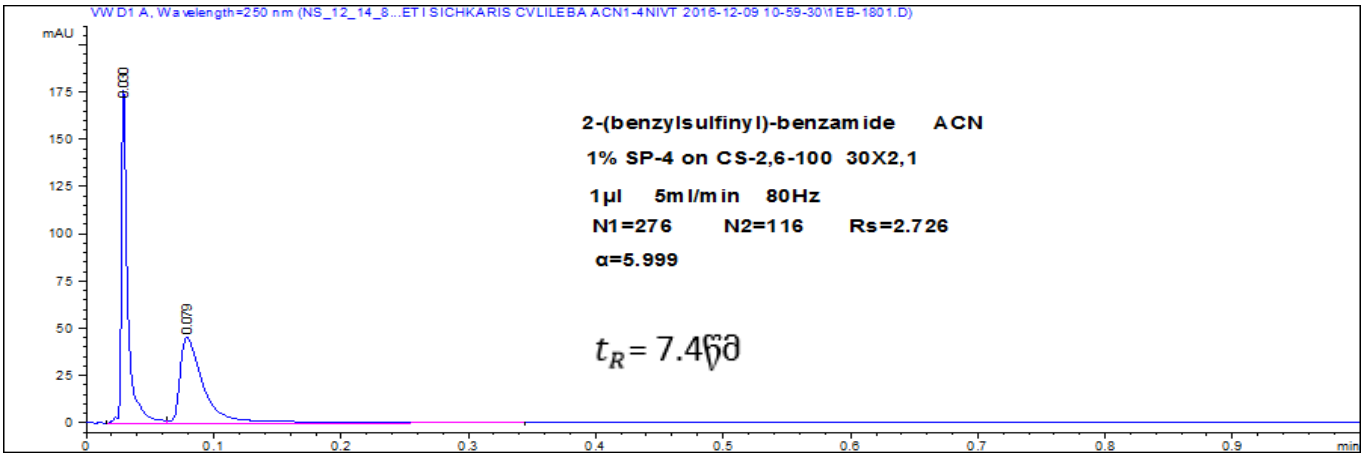
ანალიზების მსვლელობისას მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარეს ვზრდიდით: 0.1; 0.2; 0.5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 9.5 მლ/წთ, შემდეგ სიხშირეებზე : 80 და 160 ჰერცებზე. გამოყენებული ტალღის სიგრძე იყო 250 ნმ. ანალიზები ტარდებოდა ოთახის ტემპერატურაზე .

4. შედეგები და განსჯა

სანამ უშუალოდ შედეგების განსჯაზე გადავიდოდეთ , გავიხსენოთ თუ რა წარმოადგენდა ჩვენი სამუშაოს მიზანს? როგორც უკვე აღვნიშნე ჩვენი სამუშაოს მთავარი მიზანი იყო მიგვეღო ენანტიომერების დაყოფა რაც შეიძლება მოკლე დროში, თუმცა ამის პარალელურად არ უნდა დაგვეკარგა სვეტის ეფექტურობა .

ახლა კი შედეგების განსჯა დავიწყოთ უშუალოდ სწრაფი დაყოფების დემონსტრირებით.

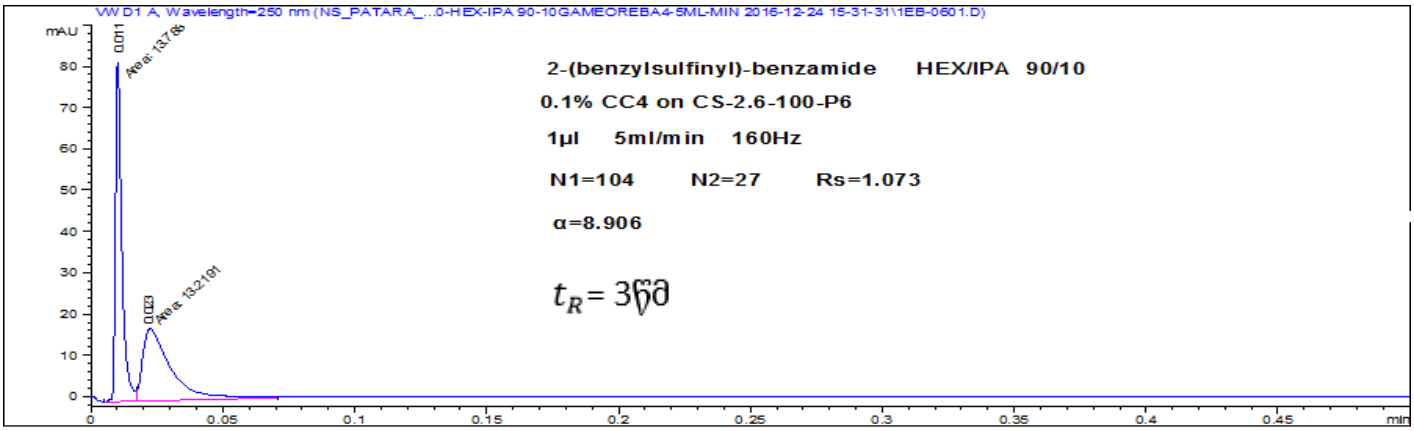
სურ.1 ქრომატოგრამაზე ნაჩვენებია 2-(ბენზილსულფინილ)-ბენზამიდის ენანტიომერების დაყოფა , მოძრავი ფაზა აცეტონიტრილი, 1% SP-4 on CS-2.6-100 30x2.1 , ნაკადის სიჩქარე 5მლ/წთ . ინიცირებული ნიმუშის რაოდენობა 1მკლ.



როგორც მოცემულ ქრომატოგრამაზე ჩანს , 7.4 წამი დაგვჭირდა 2-(ბენზილსულფინილ)-ბენზამიდის ენანტიომერების დასაყოფად , რაც თავისთავად ძალიან კარგი შედეგია , მაგრამ ჩვენი მიზანი იყო ეს დრო კიდევ უფრო შეგვემცირებინა . თუ სურ.1-ზე წარმოდგენილ სვეტის შემადგენლობაში შევამცირებდით ქირალური სელექტორის შემცველობას ბუნებრივია ენანტიომერების ელუირების დროც უნდა შემცირებულიყო.

ამის საფუძველზე მომზადდა სრულიად ახალი ტიპის ქირალური სტაციონალური ფაზები სადაც შემცირდა არამარტო ქირალური სელექტორის შემცველობა 1%-დან 0.1%-მდე, არამედ სვეტის სიგრძე უკვე 1 სმ გახდა. შესაბამისად დრო 2-(ბენზილსულფინილ)-ბენზამიდის ენანტიომერების დასაყოფად უკვე 3 წმ-მდე შემცირდა.

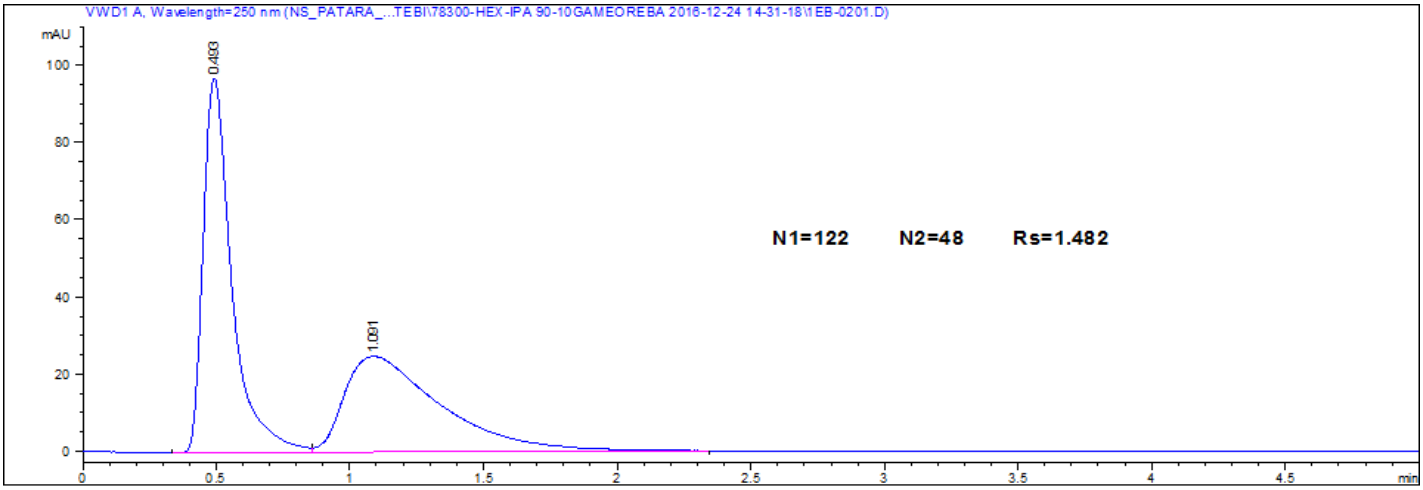
სურ. N2 ასახავს 2-(ბენზილსულფინილ)-ბენზამიდის ენანტიომერების დაყოფას 0.1% CC4 /on CS-2.6-100-P6. მოძრავი ფაზა ჰექსან/იზოპროპანოლი 90/10 . ნაკადის სიჩქარე 5მლ/წთ.



თუმცა სწრაფ დაყოფებთან ერთად არ უნდა დაგვეკარგა სვეტის ეფექტურობაც. სვეტის ეფექტურობას კი როგორც ვიცით თეორიული თეფშების მაღალი რიცხვი(თთრ) განსაზღვრავს. გარდა ამისა სვეტის ეფექტურობას ასევე განსაზღვავს, რამდენად შენარჩუნებულია თეორიული თეფშების მოცემული რიცხვი მოძრავი ფაზის ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე, სწორედ ამიტომ ჩვენ ანალიზებს ვატარებდით, როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, ელუენტის სხვადასხვა სიჩქარეებზე. მოცემულ ქრომატოგრამაზე თთრ 1 მეტრზე გაანგარიშებით პირველი პიკისთვის არის 10400 (104x100). თუ ამ შედეგს შევადარებთ სურ. 3-ზე წარმოდგენილ შედეგს, ვნახავთ რომ მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარის გაზრდით N(თთრ)-ის მნიშვნელობა მნიშვნელოვნად არ მცირდება ნაკადის მაღალ სიჩქარეზე.

სურათი 3

2-(ბენზილსულფინილ)-ბენზამიდის ენანტიომერების დაყოფა 0.1% CC4 on CS-2.6-100-P6 სვეტზე. მოძრავი ფაზა ჰექსან/იზოპროპანოლის მოცულობითი ნარევი 90/10 . ნაკადის სიჩქარე 0.1მლ/წთ.

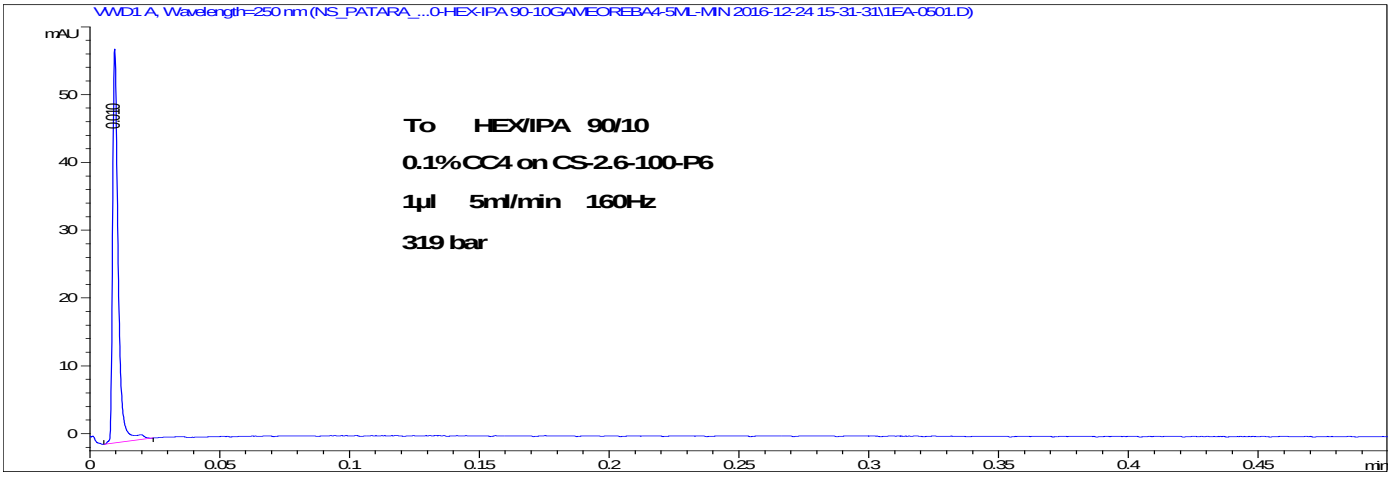


როგორც ვხედავთ , როდესაც მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარე 0.1მლ/წთ-ია ამ შემთხვევაში N=12200 (1 მეტრზე გაანგარიშებით). როგორც ვხედავთ სხვაობა მათ შორის დიდი არაა. შესაბამისად შეგვიძლია ვთქვათ, რომ სწრაფი დაყოდის პარალელურად სვეტი ეფექტურობას არ კარგავს, მაღალ სიჩქარეებზე მუშაობისას.

ასევე უნდა აღინიშნოს მოცემული სვეტის კიდევ ერთი უპირატესობა.ეს არის უკუწნევის დაბალი მნიშვნელობა ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე სტანდარტული სვეტებისგან განსხვავებით. (მათ შორის ჩვენს ექსპერიმენტში გამოყენებული მოკლე სვეტების შემთხვევაშიც).

სურ. 4

1სმ-იან სვეტზე გავაანალიზეთ მესამეული ბუტილბენზოლი .



როგორც მოცემულ ქრომატოგრამაზე ჩანს , 5მლ/წთზე სვეტში შექმნილი უკუწნევა 319 ბარია. რატომ არის ეს მნიშვნელოვანი ? ჩვენი ექსპერიმენტის მთავარი მიზანი, მივიღოთ უსწრაფესი დაყოფები, რა თქ მა უნდა მოითხოვს მაღალ სიჩქარეებზე მუშაობას. თავდაპირველად მაქსიმალური სიჩქარე რომელსაც ჩენი ხელსაწყოს ბინალური ტუმბო ავითარებდა იყო 5მლ/წთ. მას შემდეგ რაც მოხდა ხელსაწყოს ოპტიმიზაცია და უკვე შეგვეძლო მუშაობა სრულიად ახალ ტუმბოზე, რომლის მაქსიმალური ლიმიტი 10 მლ/წთ იყო უკვე გასათვალისწინებელი ხდებოდა წნევის ფაქტორი, იმდენად რამდენადაც აღნიშნული ტუმბო 600 ბარ წნევას უძლებდა. რადგან ეს სვეტი გამოირჩეოდა უკუწნევის დაბალი მნიშვნელობით შესაბამისად შესაძლებლობას მოგვცემდა ენანტიომერული დაყოფები შეგვესრულებინა მაღალ სიჩქარეებზე უპრობლემოდ.

ახლა განვიხილოთ კიდევ ერთი ახალი ტიპის სვეტი , რომელიც ჩვენი ექსპერიმენტის მსველობისას გამოვიყენეთ :

5mm 2% Cell-4 CS-2,6-100 + 15 mm 3-1000-APS

სიახლეს წარმოადგენს ის ფაქტი, რომ სვეტის სიგრძე არის 2 სმ. მაგრამ ქირალური სელექტორი მხოლოდ 5მმ-ზეა დაფენილი , დანარჩენი 15მმ აქირალურია. რადგან ჩვენთვის სწორედ ეს 5 მმ-ია მნიშვნელოვანი, გამოდის რომ სვეტის სიგრძე რეალურად არის 5მმ . აღსანიშნავია ის ფაქტიც რომ 1 სმ-ზე მოკლე სვეტის (რომელიც ზემოთ უკვე განვიხილეთ)დამზადება ძალიან დიდ სირთულეეთან არის დაკავშირებული, ხოლო აღნიშნული სვეტი, როგორც უკვე აღვნიშნე, 2-ჯერ უფრო პატარაა.

5. დასკვნა

ექსპერიმენტის შედეგებმა ცხადყო, რომ სილიკაგელზე დაფენილი პოლისაქარიდული სელექტორი საშუალებას გვაძლევს ჩავატაროთ ანალიზები და მივიღოთ დაყოფები რეკორდულად მცირე დროში (t=3წმ) ,სვეტის ეფექტურობის შენარჩუნების პარალელურად. ჩვენს სამომავლო მიზანს წარმოადგენს ეს დრო კიდევ უფრო შევამციროთ და ენანტიომერები 1 წამში ნაკლებ დროში დავყოთ.

ზედაპირულად ფოროვანი სვეტი („კორშელი“) ინარჩუნებს ეფექტურობას ნაკადის მაღალ სიჩქარეებზე.

აღსანიშნავია ის ფაქტიც, რომ ანალიზის ასეთი მცირე დრო საშუალებას გვაძლევს გამოვიყენოთ გამხსნელების მცირე რაოდენობა.

6. 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] Maressa Dolsan , Daniel Spudiet
(Comparison of superficially porous and fully porous silica supports used for a cyclofructan 6 hydrophilic interaction liquid chromatographic stationary phase)

[4] Georges Guiochon
(Shell particles , trials, tribulations and triumphs).

[5] Ketevan Lomsadze, George Gibuti, Tivadar Farkas ,Bezhan Chankvetadze
(Comparative hig-performace liquid chromatography enantioseperations on polysaccharide based chiral stationary phases prepared by coating totally porous and core-shell silica particles).

[6] Lia Bezhitashvili , Ana Bardavelidze , Teona orjonikidze ,Mike Chity, Tavadar Farkas, Bezhan Chankvetadze
(Effect of pore-size optimization on the performance of polysaccharide-based superficially porous chiral stationary phases for the separation of the enantiomers in high performance liquid chromatography)

[7] Darshan Patel, Zachary Breitbach
(Gone in seconds : Praxis, performance, and peculiarities pf ultrafast chiral liquid chromatography with superficially porous particles .)