

http://apps.usp.org/app/USPNF/columnsDB.html

USP Database

About USP approach

To find an alternative column for your column of interest, please select this column in the list of columns already evaluated. If your column is not listed, it means that the data from the manufacturer has not been received yet.

Luna 5 μ C18(2) (Phenomenex) ▼

Then select which parameters are more important for your chromatographic procedure:

CTF: CFA: TFA: BD:

The database will automatically display the first 10 columns that, theoretically, could be equivalent to your column. The column with rank 0 is your column. The smaller the F value more similar are the columns, at least theoretically.

Rank	F	Column	Hy	CTF	CFA	TFA	BD	USP Designation	Manufacturer
0	0	Luna 5 μ C18(2)	2.2	1.2	5.3	1.1	3.4	L1	Phenomenex
1	0.28	PurospherSTAR RP-18e 3 μ m	2.1	1.2	5.7	1.5	3.3	L1	Merck KGaA (EMD Millipore)
2	0.39	Acclaim 120 C18	2.3	1.2	5.6	1.6	3.2	L1	Dionex
3	0.42	Prevail Select C18	2	1.1	4	1.1	3.2	L1	Grace/Davison
4	0.52	SepaxHP-C18	2	1.2	6.8	1.81	3.3	L1	Sepax Technologies
5	0.52	Monitor C18	2.1	1.438	5.71	1.966	3.34	L1	Orochem Technologies
6	0.59	Symmetry C18	2.2	1.7	5.1	1.7	3.2	L1	Waters
7	0.61	Discovery HS C18	2.4	1	5.4	1.3	3.8	L1	Supelco
8	0.72	Prestige C18	2.21	1.194	6.61	2.176	3.084	L1	Orochem Technologies
9	0.73	Ascentis C18	2.7	1	6.2	1.3	3.6	L1	Supelco

PQRI Database

About the PQRI approach

Select the column that is under evaluation in the list of columns already evaluated. If your column is not listed, it means that the column manufacturer has not sent it for evaluation yet.

Luna C18(2) (Phenomenex)

You have the option to see the columns that are the most similar to the column of your interest, or the columns that are the most different (for applications in orthogonal methods), by selecting View Different or View Similar.

You are viewing similar columns.

View Different

Select the option Acids present, if there are acids present in the sample, or Bases present, if there are bases present in the sample. Select the pH of the mobile phase. The default is from 2.8 up to 7.0. pH values outside this range are not going to be accepted.

Acids present:

Bases present:

pH of mobile phase: 2.8

Update

The database will automatically display the first 10 columns that, theoretically, could be equivalent or very different to/from your column, depending on the option you selected. The column with rank 0 is your column. The smaller the F value more similar are the columns, at least theoretically. The higher the F value more different

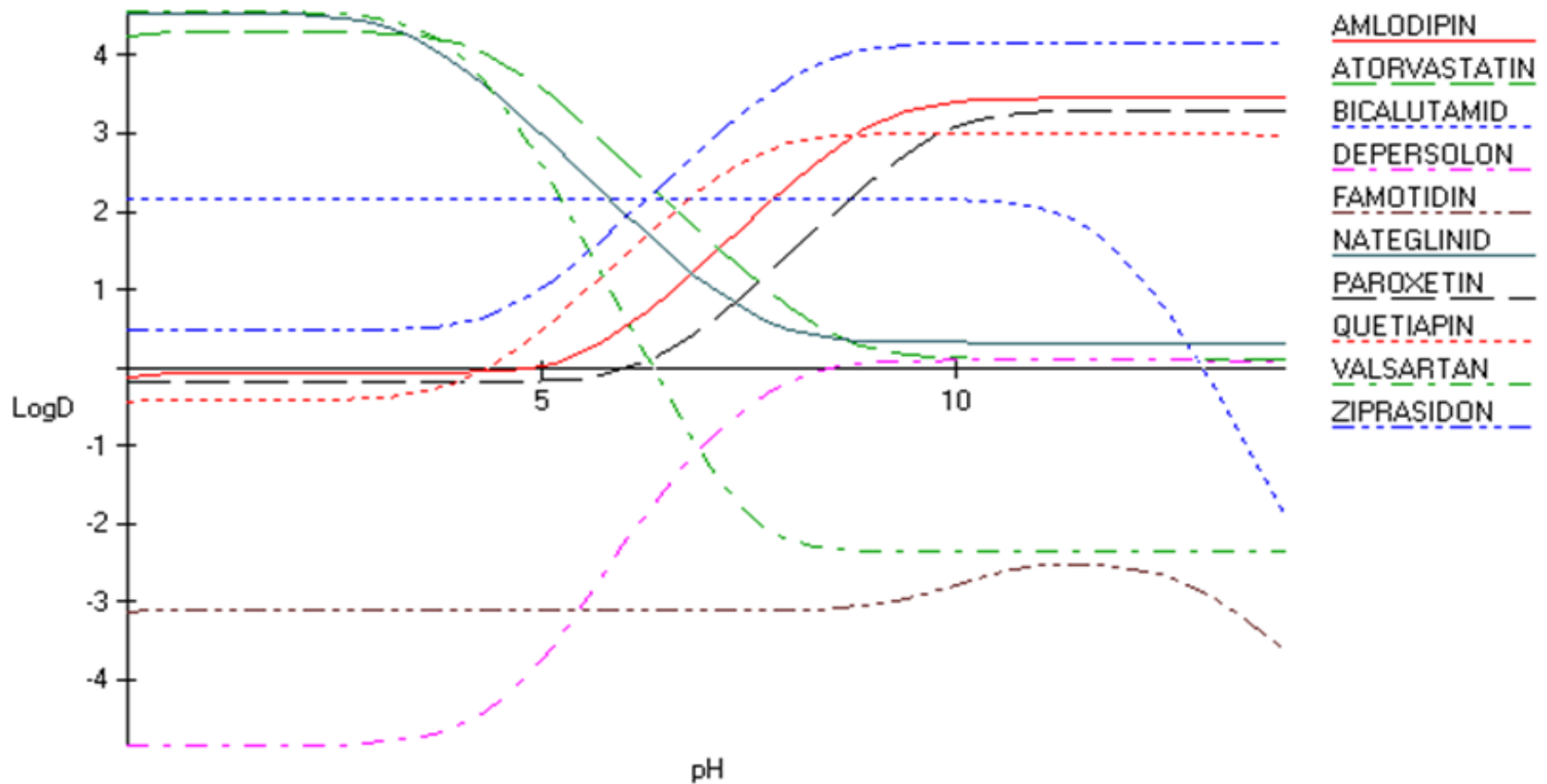
Rank	F	Column	H	S	A	B	C(2.8)	C(7.0)	Type	USP Designation	Manufacturer
0	0	Luna C18(2)	1.002	0.024	-0.124	-0.007	-0.269	-0.174	B	L1	Phenomenex
1	42.11	Inertsil ODS-EP	0.8	0.06	-1.52	0.05	-0.62	-0.07	EP	L60	GL Sciences
2	41.97	Flare C18+	1.137	-0.308	0.73	0.966	-0.507	1.178	Other		Diamond Analyticals
3	35.27	Microsorb-MV 100 CN	0.357	-0.241	-0.852	-0.029	0.148	0.785	CN	L10	Agilent/Varian
4	31.15	BioBasic Phenyl	0.493	-0.233	-0.671	0.217	0.014	0.39	phenyl	L11	Thermo/Hypersil
5	30.17	Cosmosil 5PYE	0.671	-0.271	-0.283	0.092	0.521	1.318	Other		Nacal Tesque
6	29.73	apHera C18 Polymer	0.838	-0.01	-1.106	0.001	-0.554	7.511	B	L67	Supelco
7	29.45	Allure PFP Propyl	0.833	-0.265	0.051	0.348	1.109	1.659	F	L43	Restek
8	29.2	Zorbax Bonus RP	0.654	0.107	-1.046	0.373	-2.971	-1.103	EP	L60	Agilent Technologies
9	28.58	Cogent UDC Cholesterol	0.625	0.227	0.528	0.069	0.745	1.212	other		MicroSolv
10	28.18	ZirChrom-PS	0.589	-0.232	-0.477	0.062	1.75	1.75	other		ZirChrom

Miben segít a IgD – pH diagram?

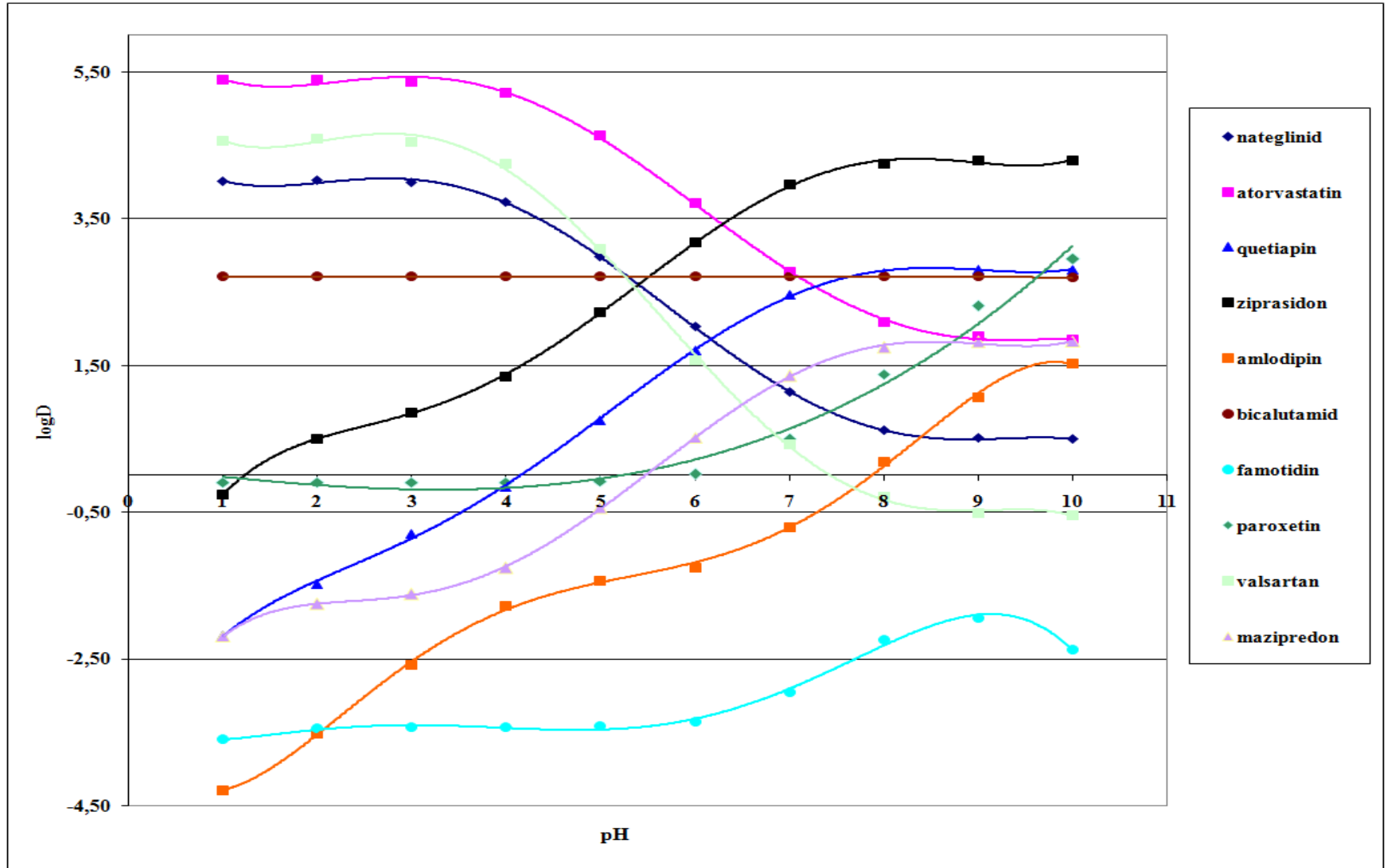
Mi olvasható le a diagramról?

- Szükséges-e pH kontrol (ha igen milyen pH-n dolgozzunk)?
- Milyen kromatográfiás technikát alkalmazzunk (RP-HPLC, HILIC)?
- Kell-e gradiens elúciót alkalmaznunk ($\Delta \text{lg}P \geq 2$)?
- Mi lesz a retenciós sorrend?

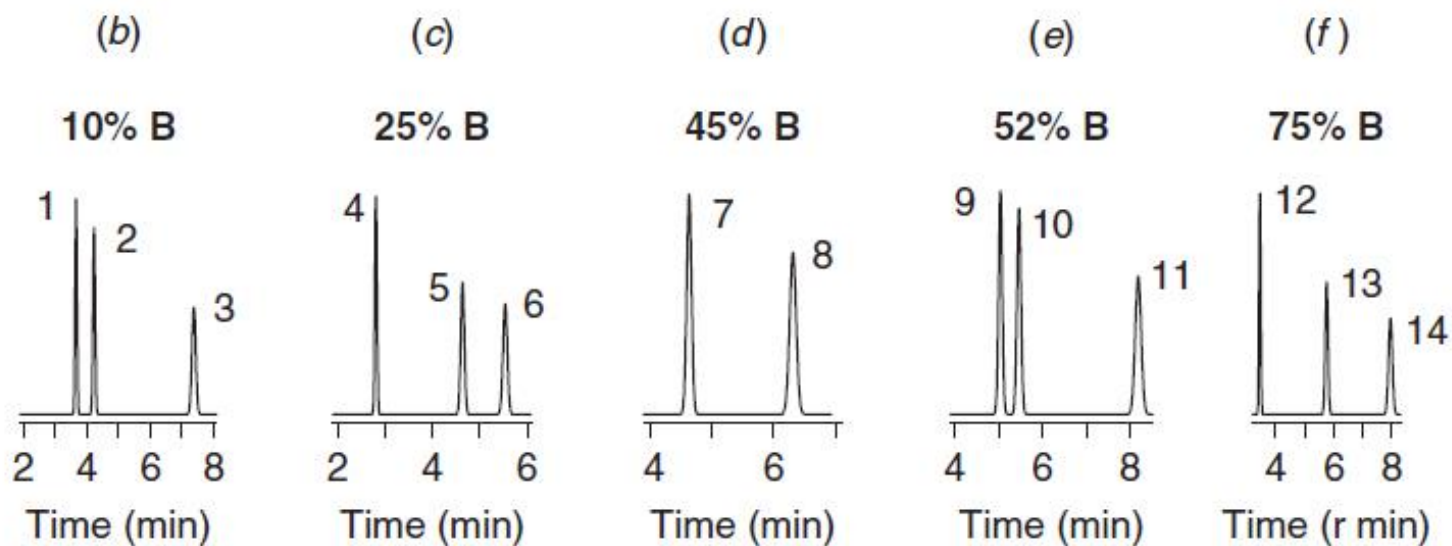
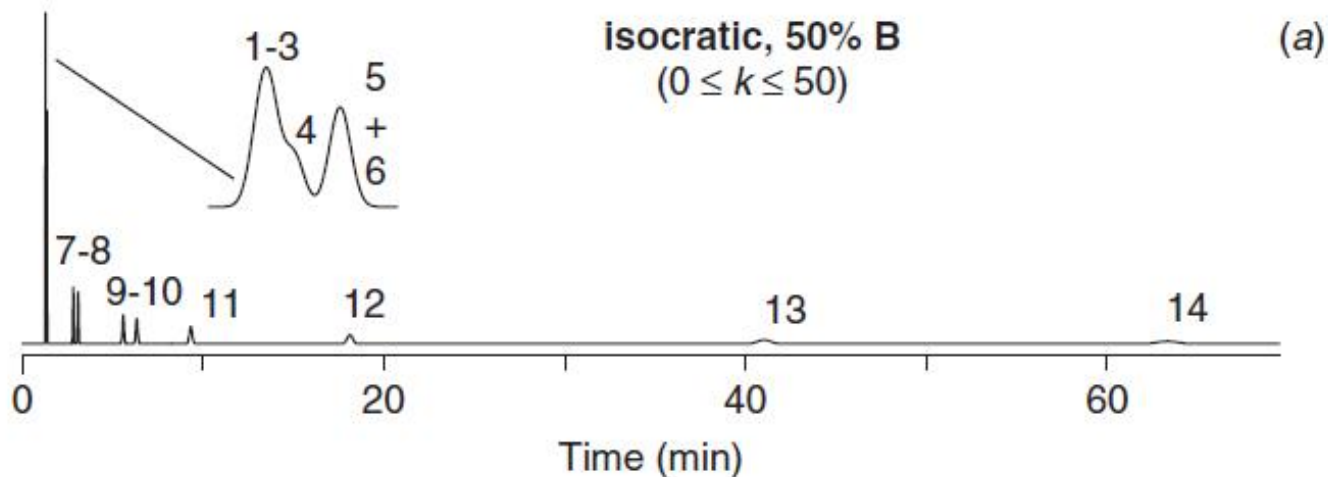
Pallas szoftver – IgD-pH függvény



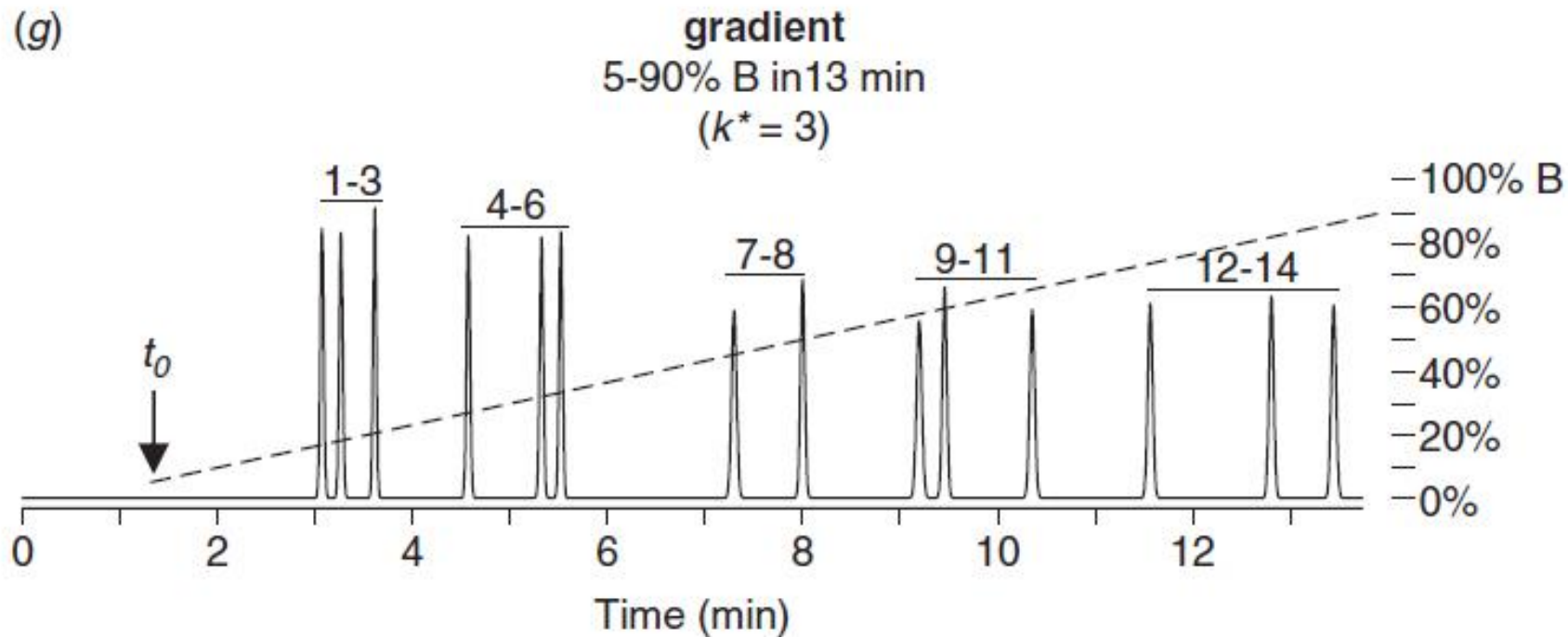
Chemdesk szoftver – IgD-pH függvény



Gradiens elúció



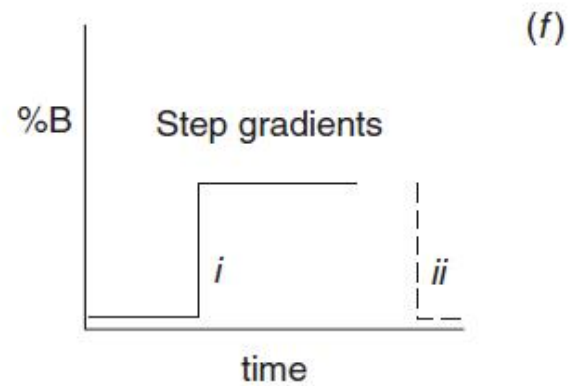
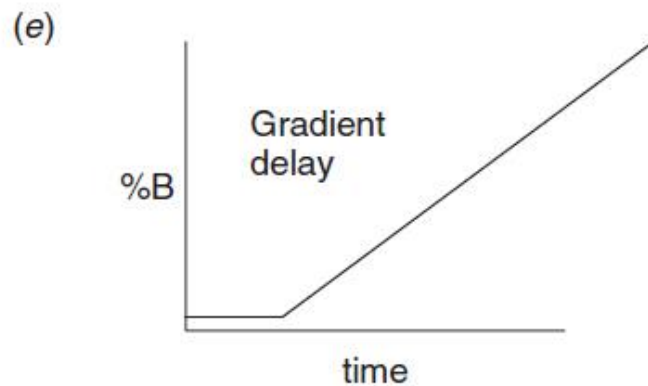
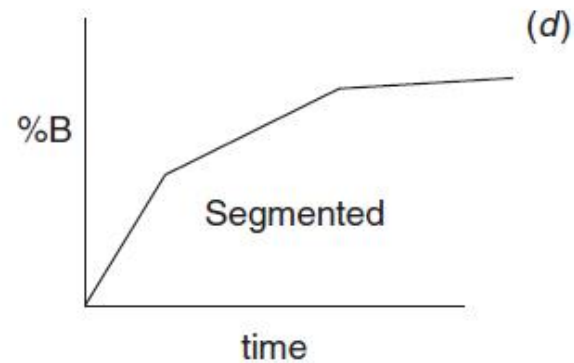
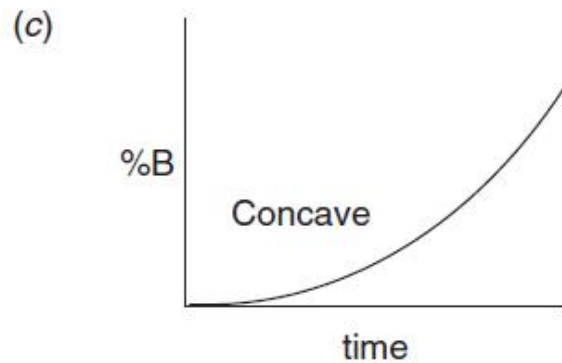
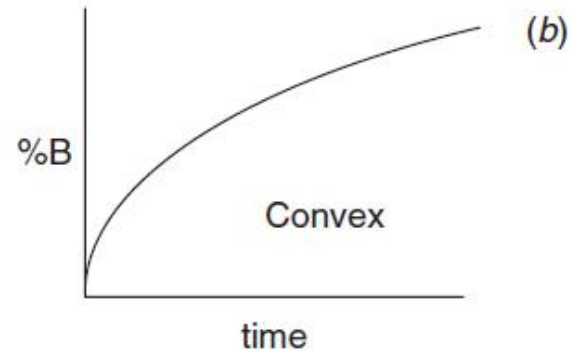
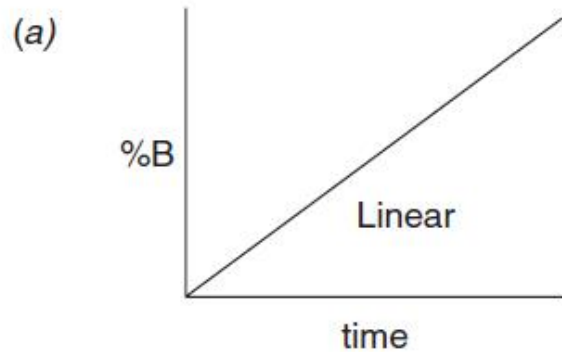
(g)



1-3 csúcs keresztülhalad a kolonnán $k \approx 3$ értékkel, amíg a 4-14 anyag a kolonna elején marad

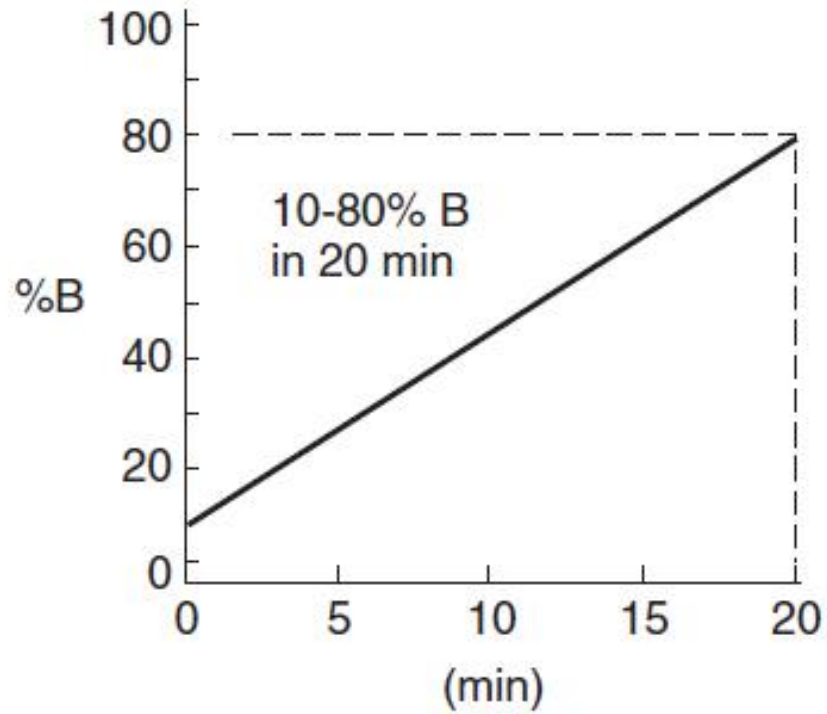
A körülmények megfelelő megválasztásával elérhető, hogy a többi anyag is $k \approx 3$ értékkel eluálódjon -> azonos szélességű csúcsok

Különböző lefutású gradiensek

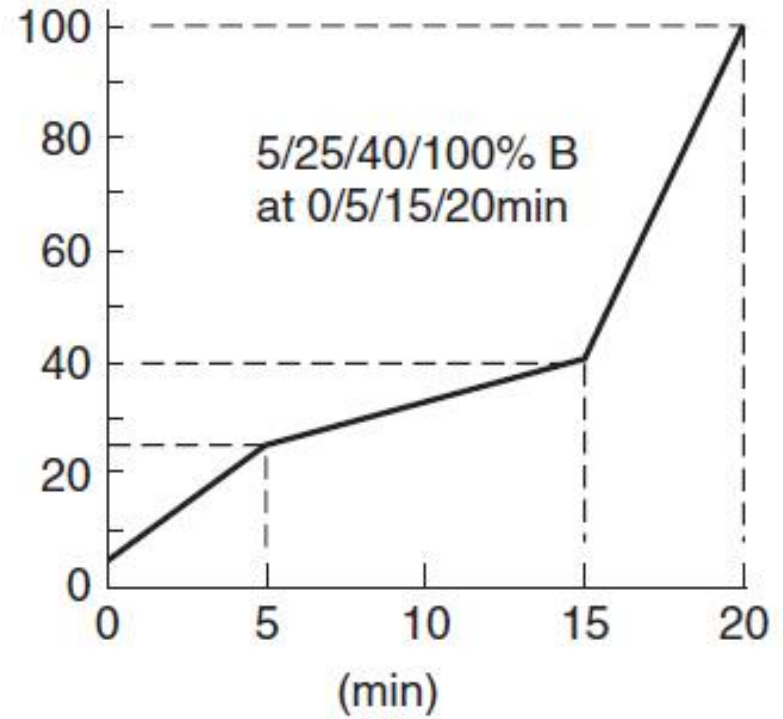


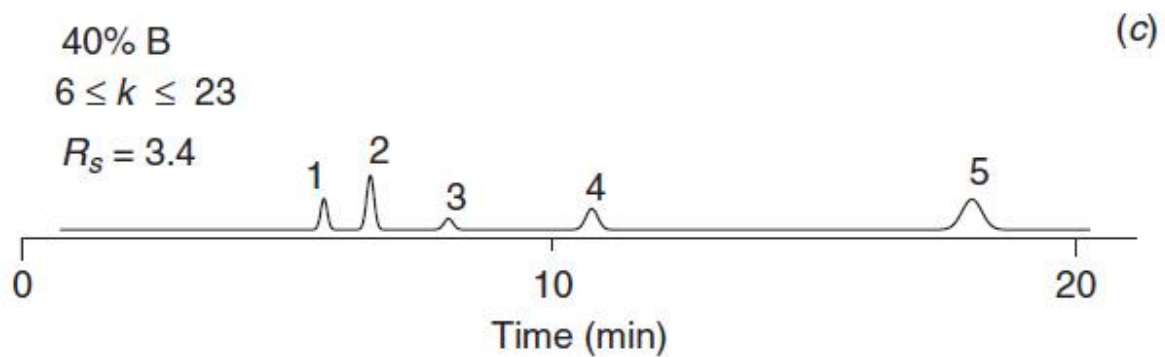
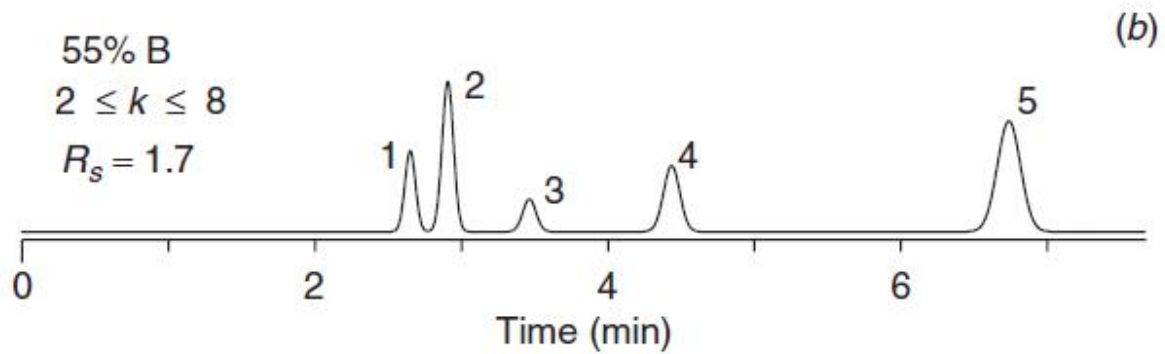
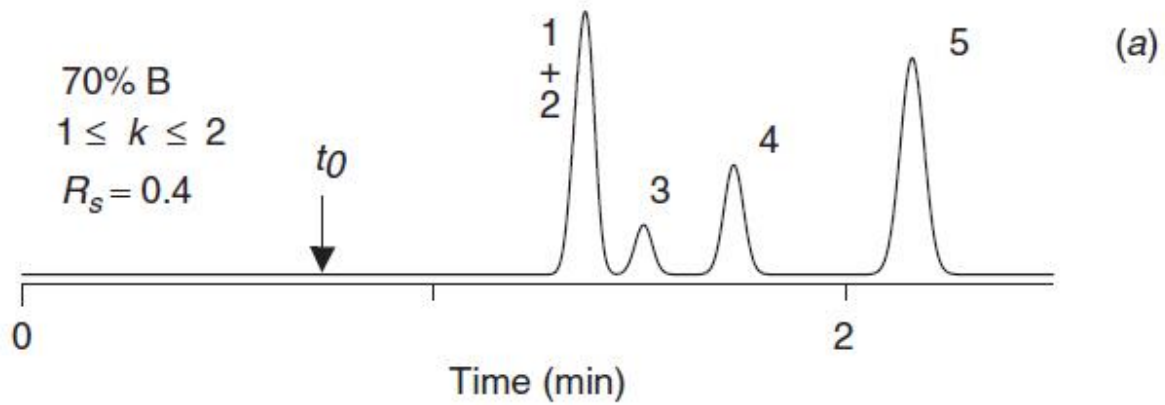
Általánosan használt gradiensprogramok

(g)

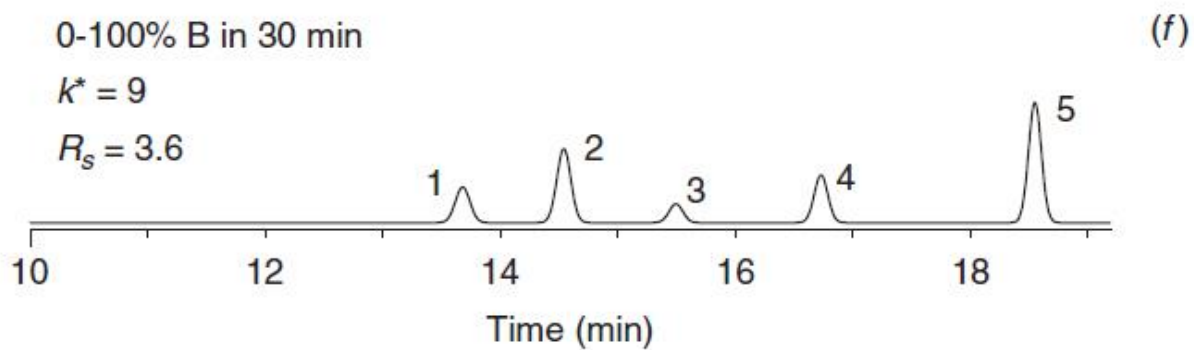
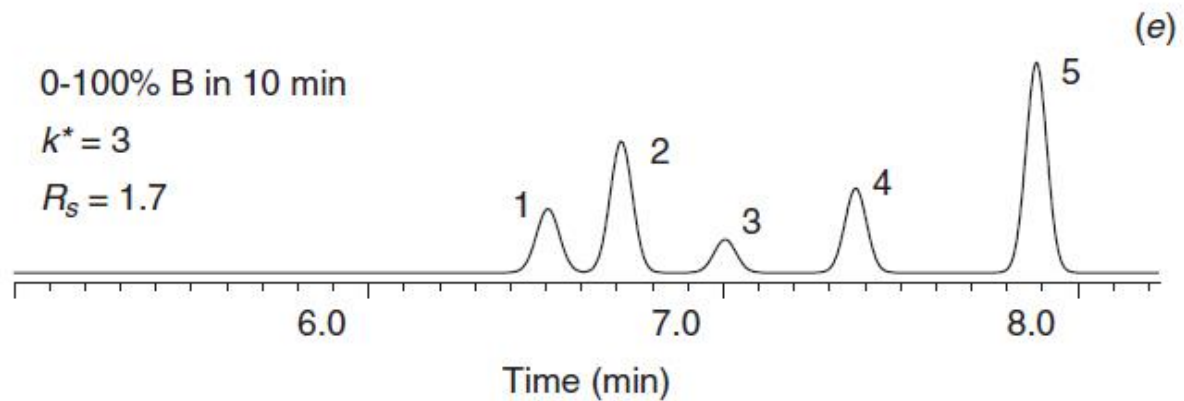
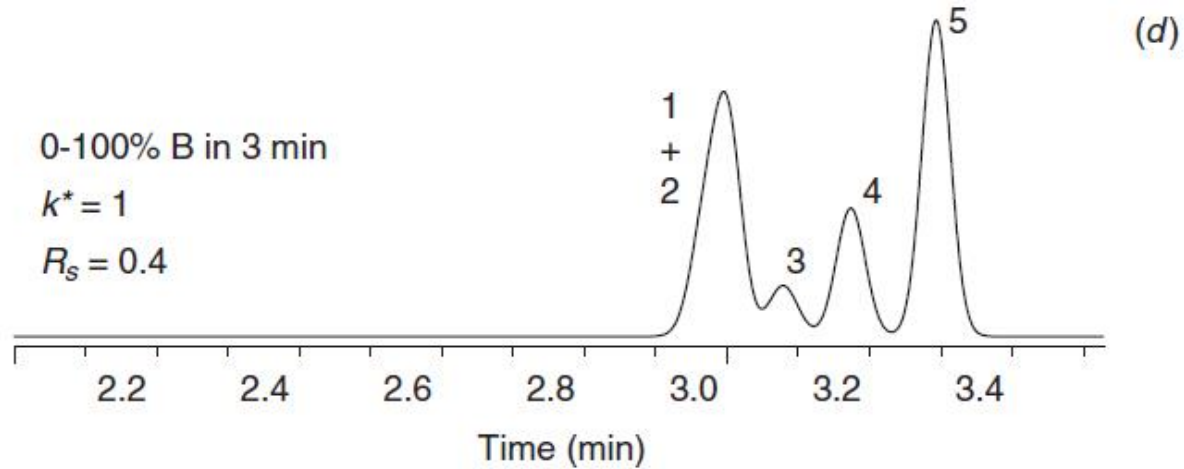


(h)

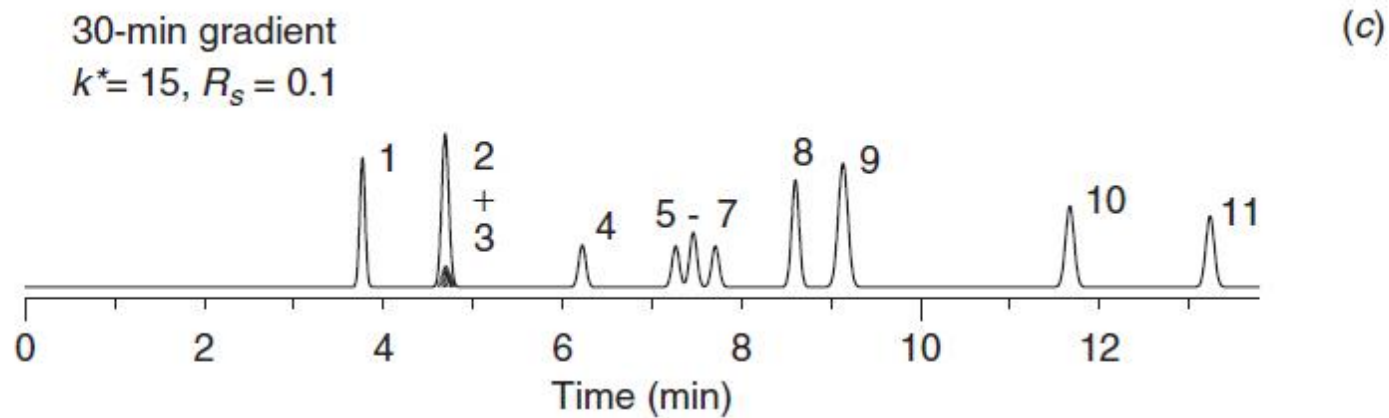
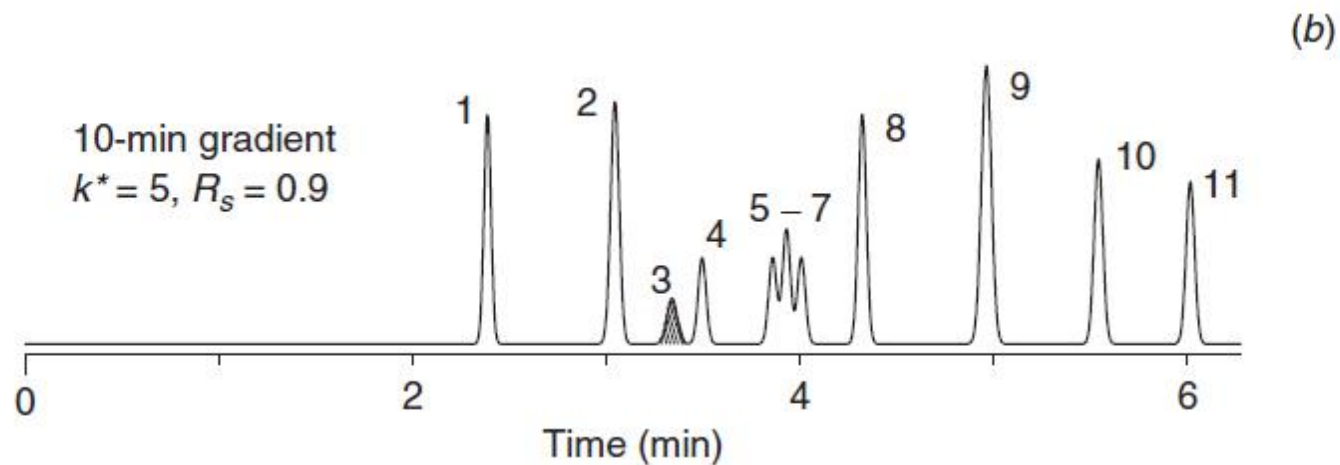
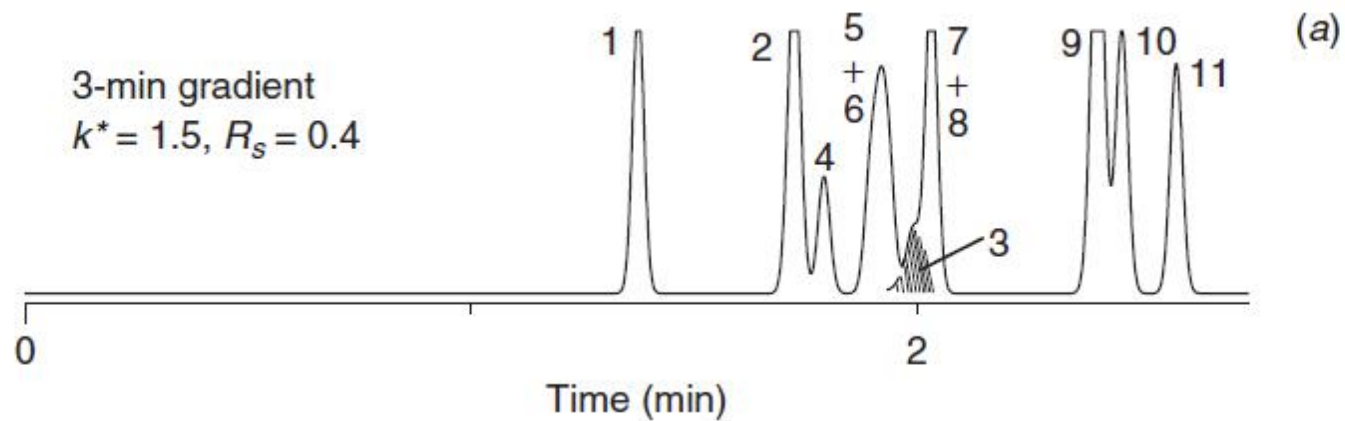




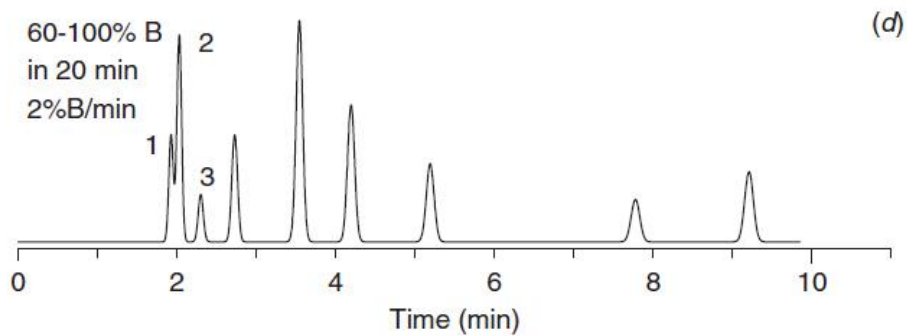
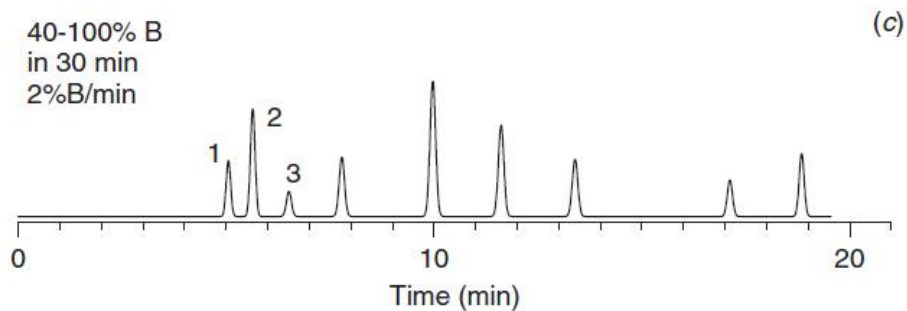
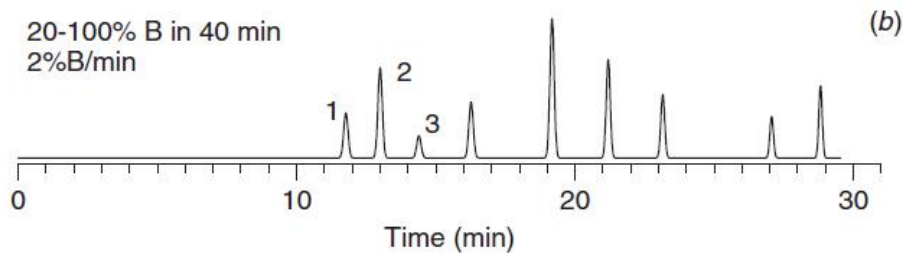
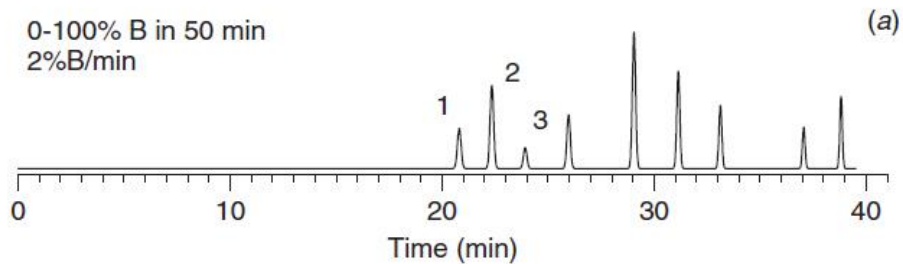
Izokratikus elválasztás különböző erősségű eluensekkel



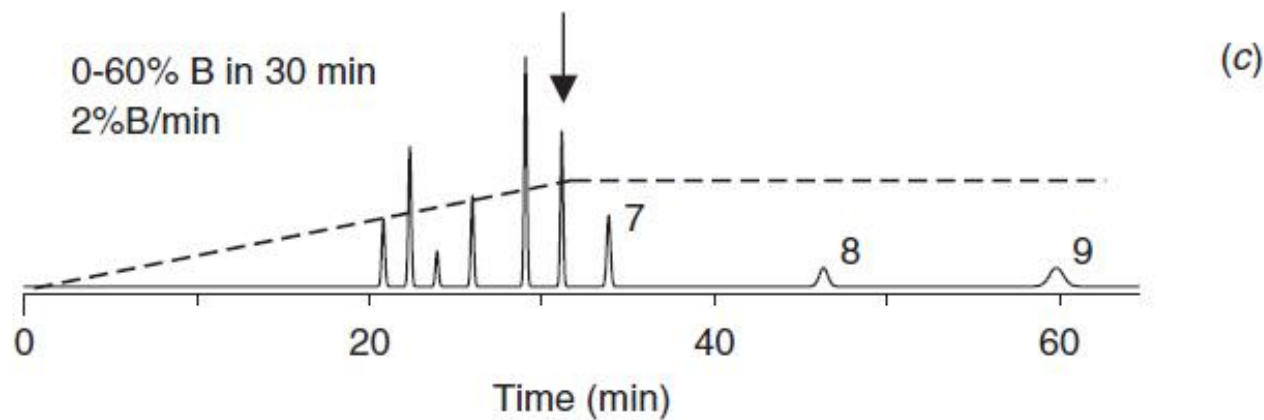
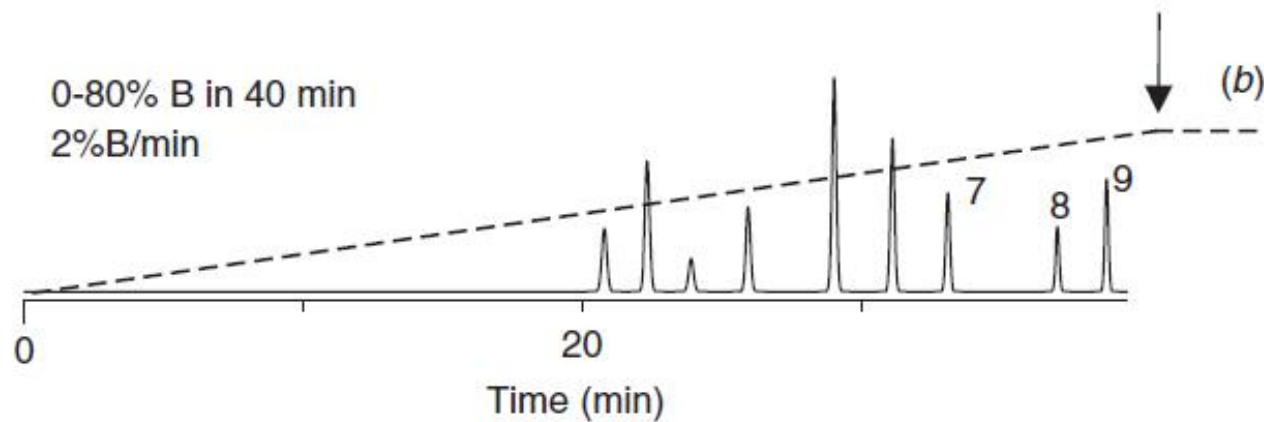
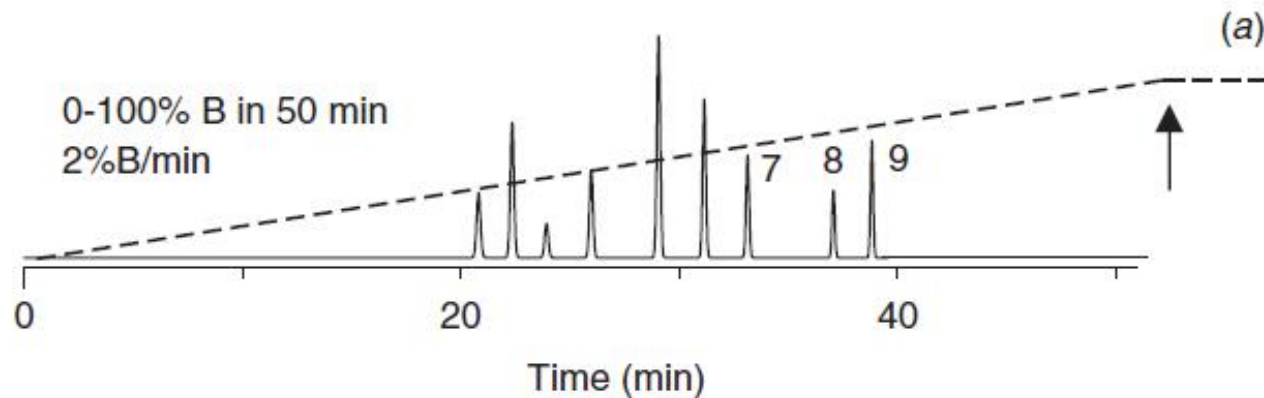
Gradiens elválasztás különböző gradiensidőkkel



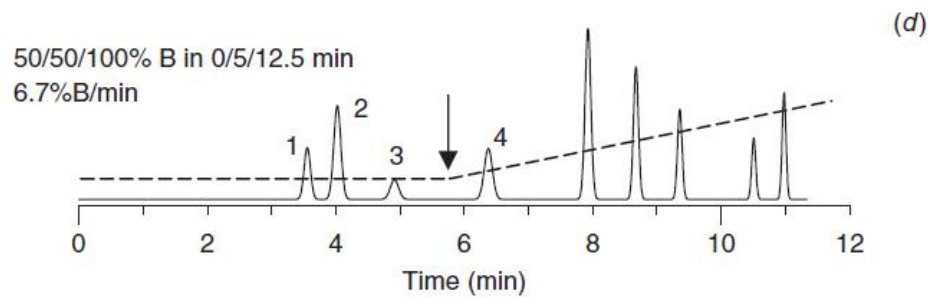
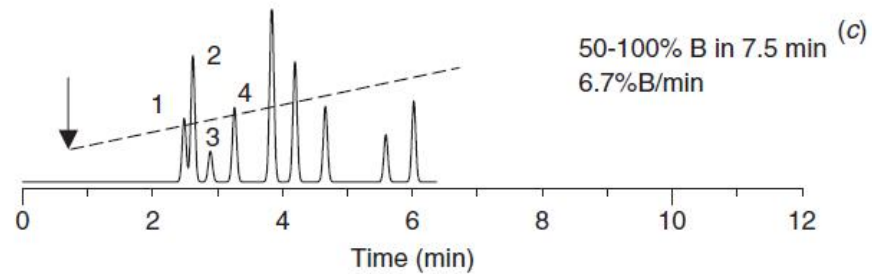
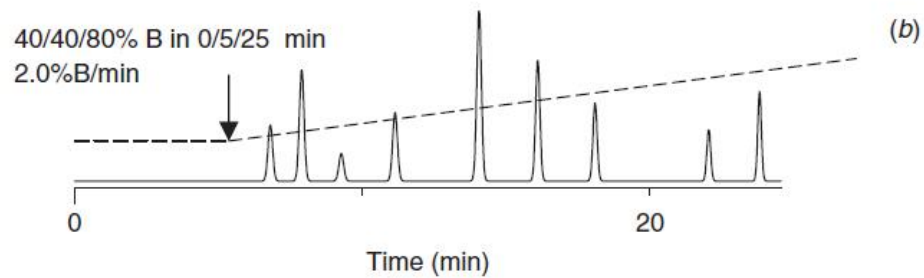
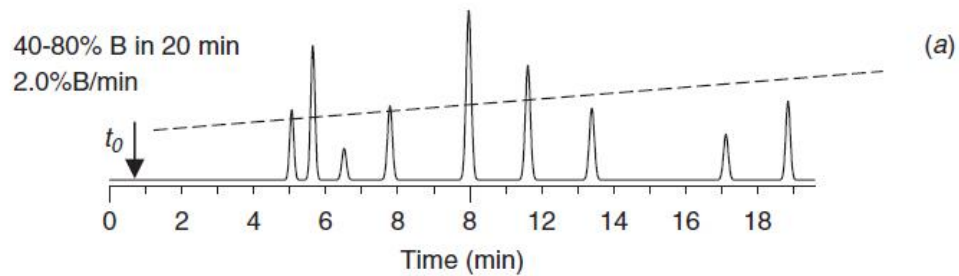
Kiindulási B% változtatása (minta herbicidek)



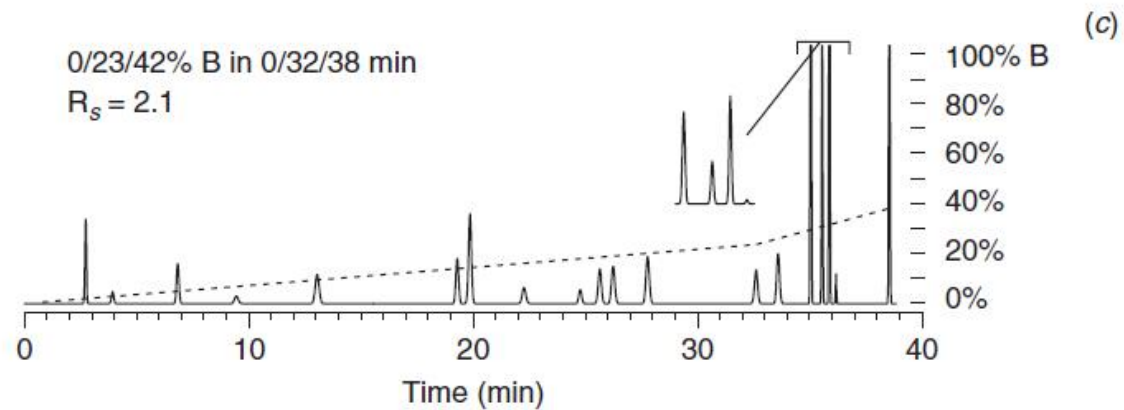
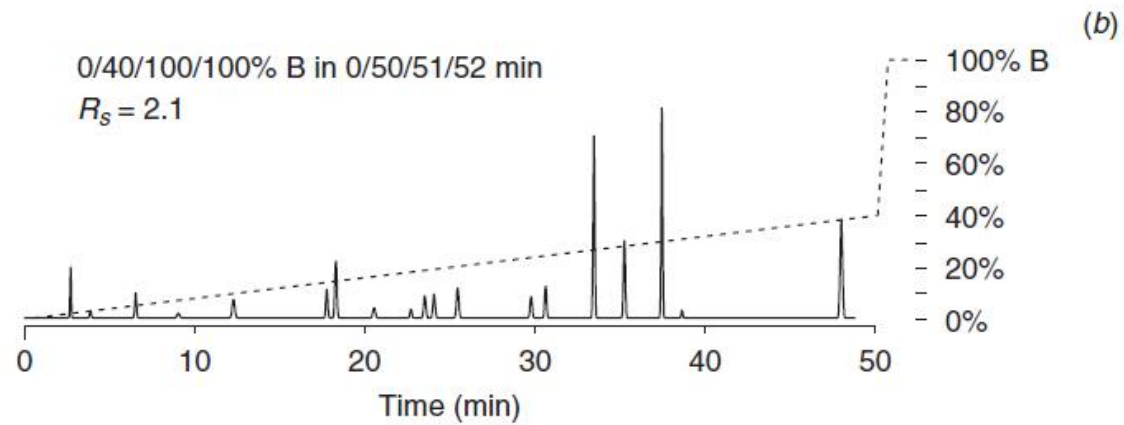
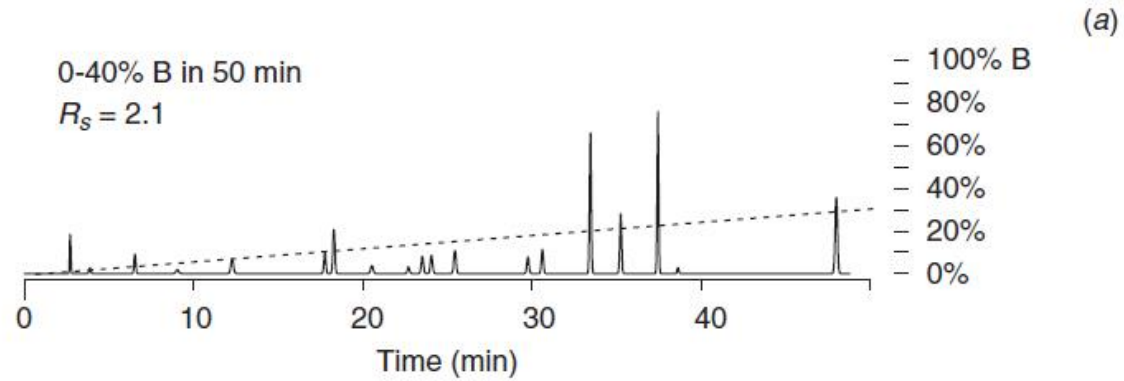
Végső B% változtatása

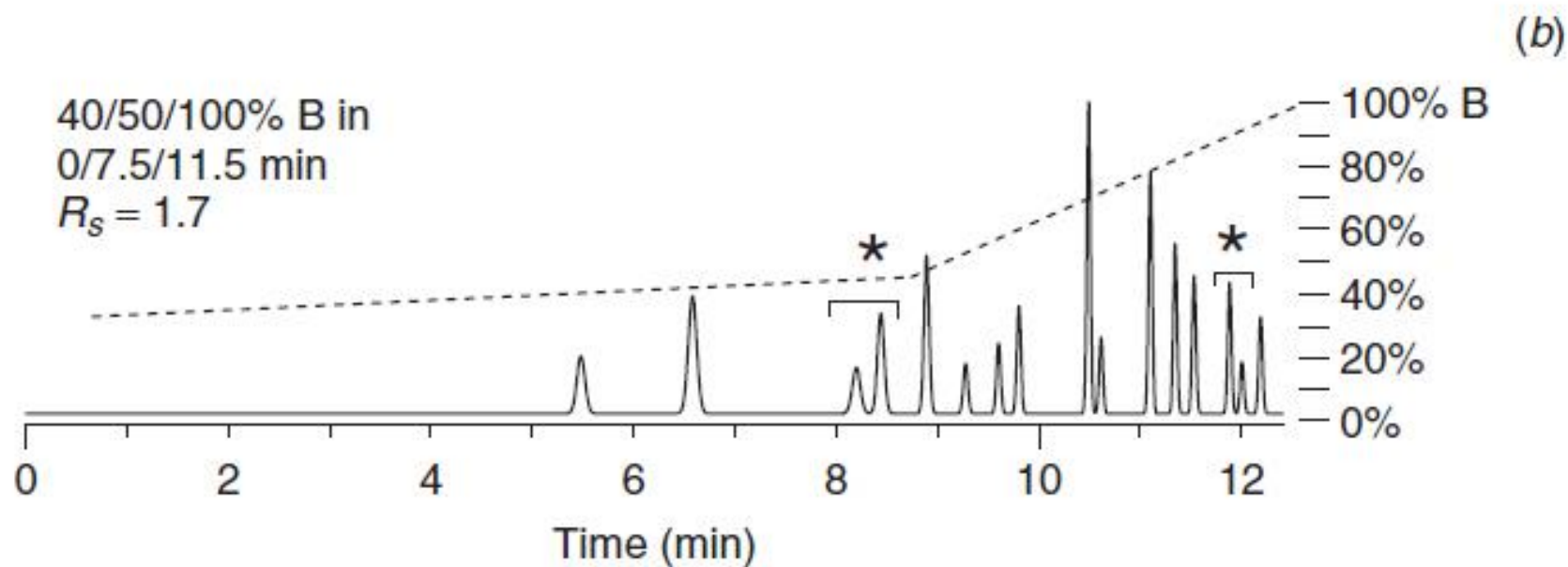
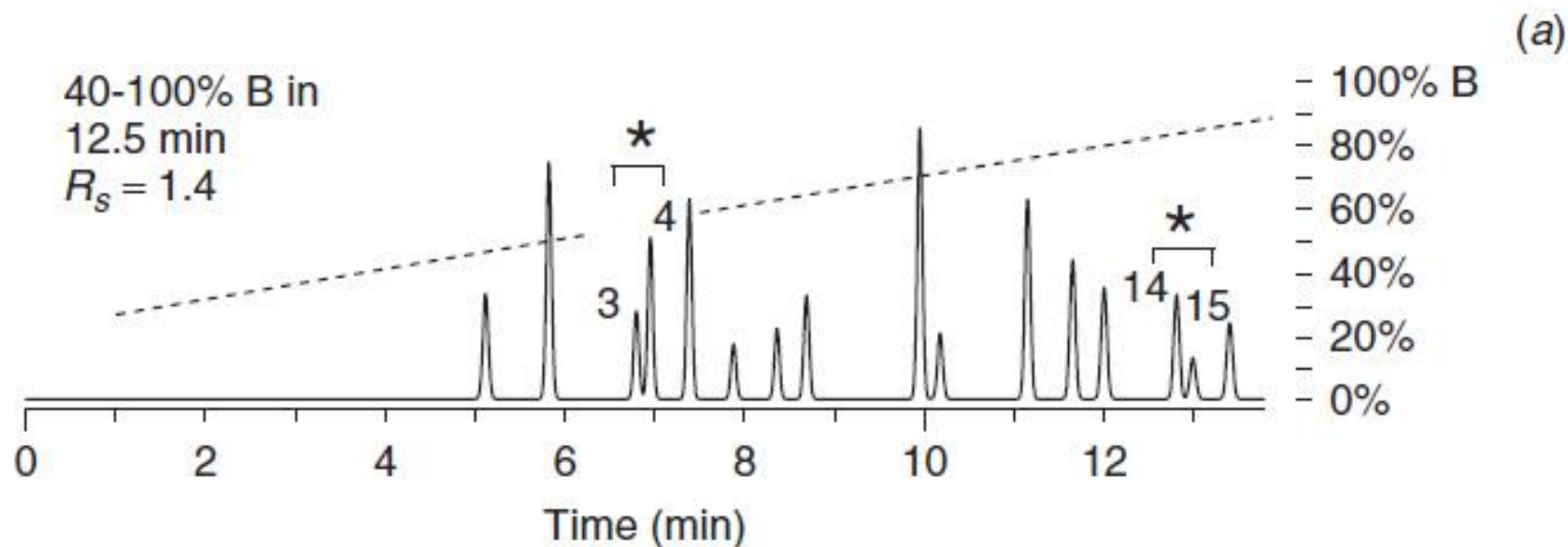


Gradienskésés változtatása



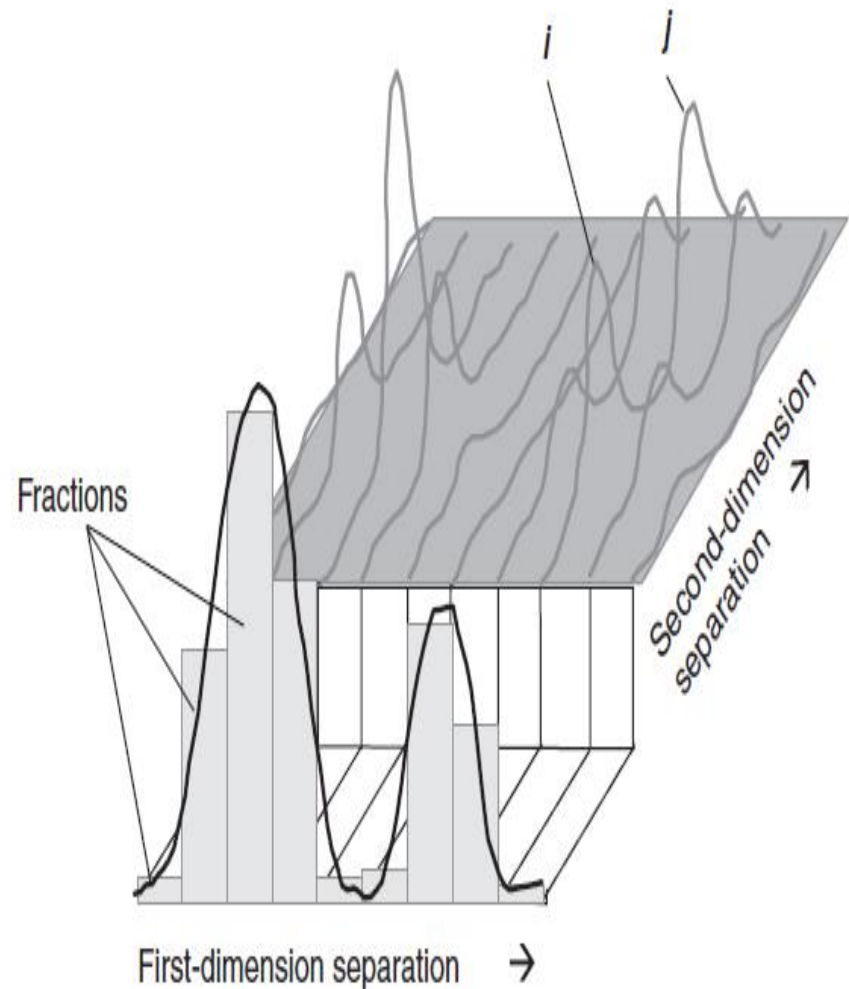
Szakaszos gradiensek





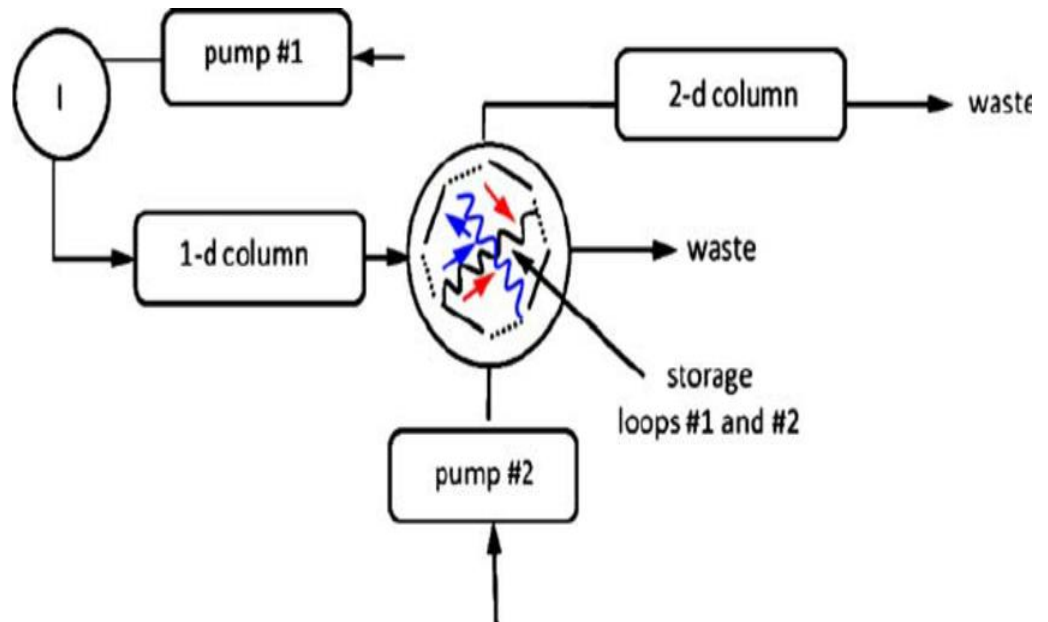
Kétdimenziós kromatográfia

- A hagyományos egydimenziós rendszerekkel nagyszámú komponenset tartalmazó oldatok analízise nehezen kivitelezhető köszönhetően az egyes komponensek koelúciójának
- A 40-es években már alkalmaztak két dimenziós koncepciót: papírkromatográfiai módszert dolgoztak ki Martin és munkatársai aminosavak meghatározására, melynek során két külön elválasztási ciklust alkalmaztak úgy, hogy a második fejlesztést az elsőhöz képest 90° -ban elforgatva hajtották végre.
- A mai technikák ugyanezt az elvet követik, csak az elválasztás nem síkban, hanem két, egymással megfelelően összekapcsolt folyadékkromatográfiai rendszerben történik
- Ha egy elegy komponensei nem választhatók el sem „A”, sem „B” módszerrel, és a két módszer retenciós mechanizmusát tekintve meglehetősen különbözik egymástól, akkor jó eséllyel megfelelő felbontás érhető el, ha a két módszert kombináljuk.



On-line 2D LC

Az elválasztás két dimenziója közvetlenül össze van kötve. Az első oszlopról gyűjtött frakciók azonnal elemzésre kerülnek a második oszlopon. Két mintavételi hurok van. Amíg az egyik hurok tartalma elemzésre kerül, addig az első oszlopból kifolyó oldat feltölti a másik hurkot. Az összekötő szelep folyamatosan oda-vissza vált, így minden, ami az első oszlopot elhagyja elemzésre kerül a második oszlopon.



On-line 2D LC

- Előnyei:
 - Gyors: az első dimenziós elválasztás ideje alatt mindkét dimenziós elválasztás végbemegy, mivel a második dimenzión nagyon kevés időt tölt a minta (gyakran a második dimenziós elválasztás rövidebb egy percnél, 2-5 cm-es oszlopon történik)
 - Könnyen automatizálható: növeli a megbízhatóságot és rövidíti az analízisidőt, valamint minimalizálja a mintaveszteséget vagy változást, mivel zárt rendszerben folyik az elemzés
- Hátrányai:
 - Korlátozott idejű a második dimenziós analízis: a frakciószedés ideje alatt kell elemezni a második dimenzióban
 - Korlátozott hatékonyságú
 - Két kromatográfiás rendszer és megfelelő szeleprendszer szükséges a működéséhez
 - A használt mozgófázisoknak kompatibilisnek kell lenniük (1. eluens a 2. mintaoldószere)
 - Korlátozott mintaelőkészítés a két dimenzió között
 - Bonyolult a kivitelezhetősége

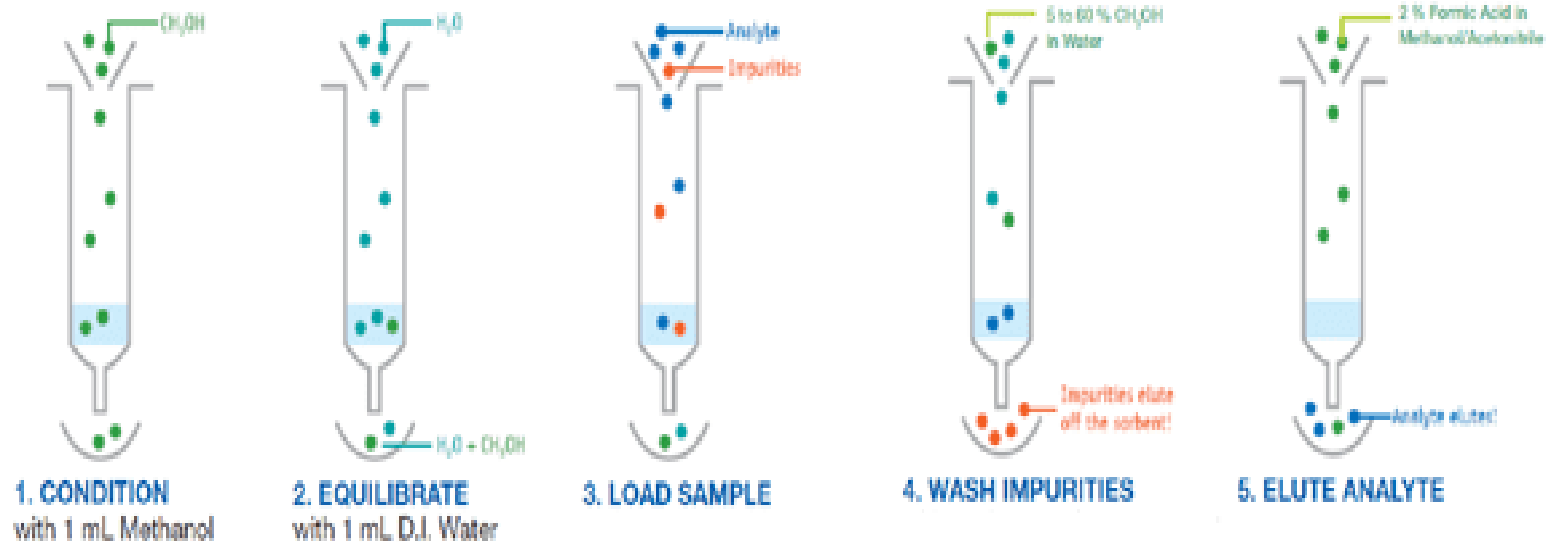
Off-line 2D LC

- Az elválasztás két dimenziója nincs közvetlen kapcsolatban, az első oszlopról frakciószedővel előre beállított időközönként frakciókat gyűjtünk, melyek tartalmát egy későbbi időpontban egy másik kromatográfiás módszerrel analizáljuk.
 - Előnyei:
 - Megvalósításához egy hagyományos kromatográfiás rendszeren kívül csak egy frakciószedőre van szükség
 - Egyszerűen kivitelezhető bármilyen mintaelőkészítés a két dimenzió között
 - Nincs korlátozás a második dimenzió idejére vonatkozóan: komplexebb minták vizsgálhatók
 - Flexibilisebb: a különböző frakciók vizsgálhatók akár különböző módszerekkel is
- Hátrányai:
- Gyakran hosszú időt vesznek igénybe
 - Nehezen automatizálható, munkaigényes

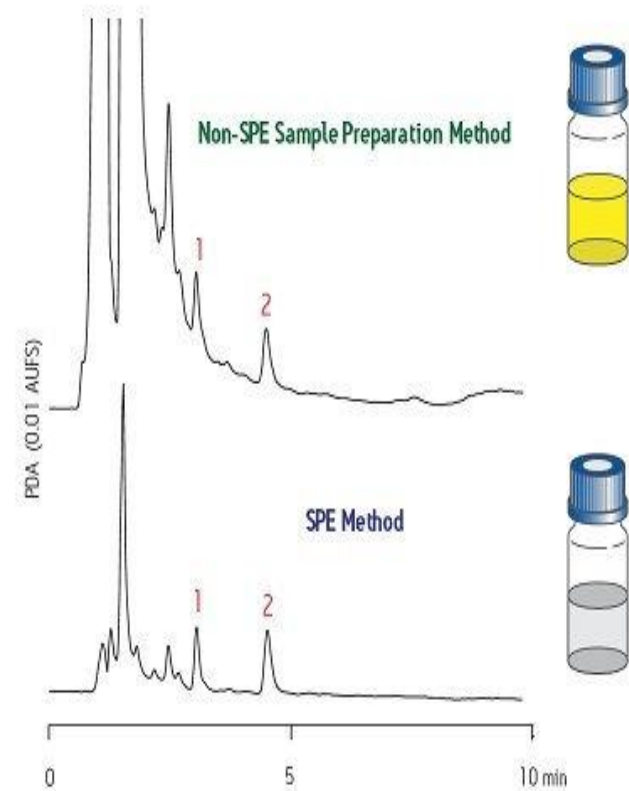
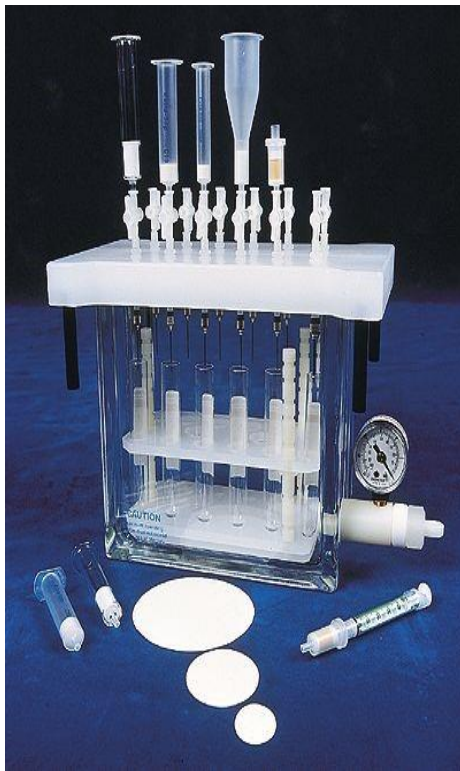
Szakaszos on-line elválasztások

- Annyiban különböznek az on-line elválasztásoktól, hogy az első dimenzió addig áll, míg a második dimenziós analízis zajlik. Így a második dimenziós analízis időre nincs olyan mértékű korlátozás, mint az on-line elrendezés esetén. Hátránya, hogy extra sávszélesedésre kell számítani az első dimenziós diffúzió miatt.
- Kivitelezése hasonló, mint az on-line esetben. Emelett 6 nyílású szeleppel is összeköthető a két dimenzió.
- Az analízis idejét a második dimenzió analízis idejeinek összege adja, ugyanis a második dimenziós analízis során lehetőség van a mintahurok feltöltésére.

Szilárd fázisú extrakció (SPE)



SPE a gyakorlatban



Mitől gyors az elválasztás?

$$t_r = t_0(1 + k)$$

Ahol

t_r – retenciós idő

t_0 – holtidő

k – visszatartási tényező

$$t_0 = \frac{L}{u}$$

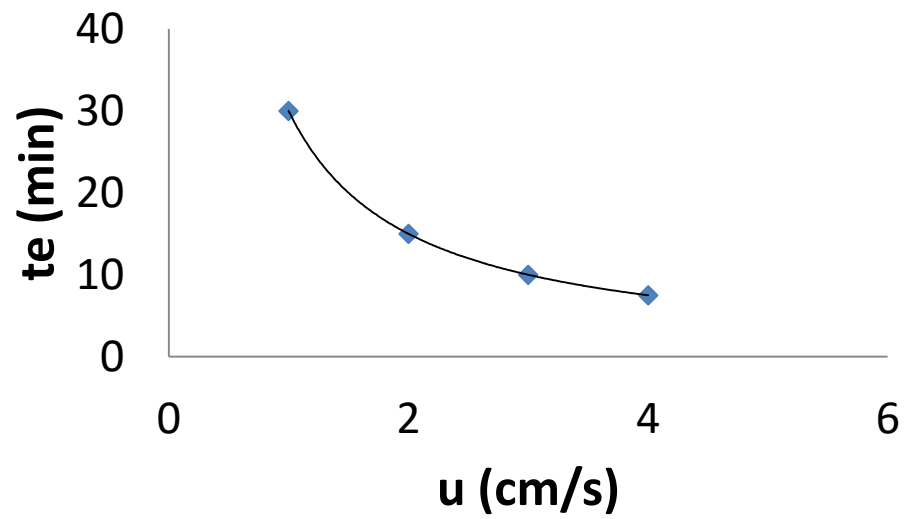
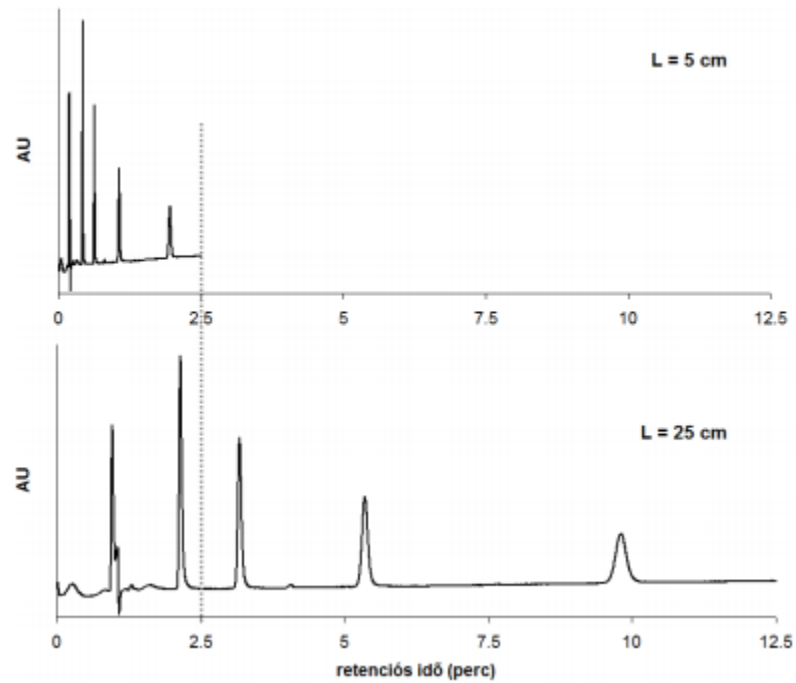
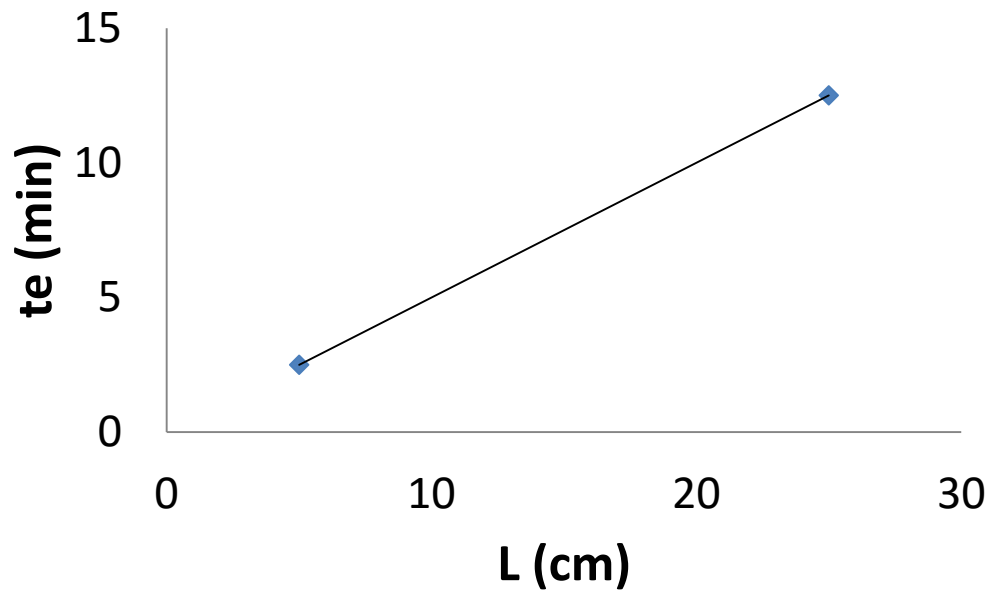
Ahol

L – oszlop hossza

u – lineáris áramlási sebesség

(cm/s)

$$t_r = \frac{L}{u}(1 + k)$$



Darcy egyenlet:

$$\Delta p = \frac{\Phi \eta L u}{d_p^2}$$

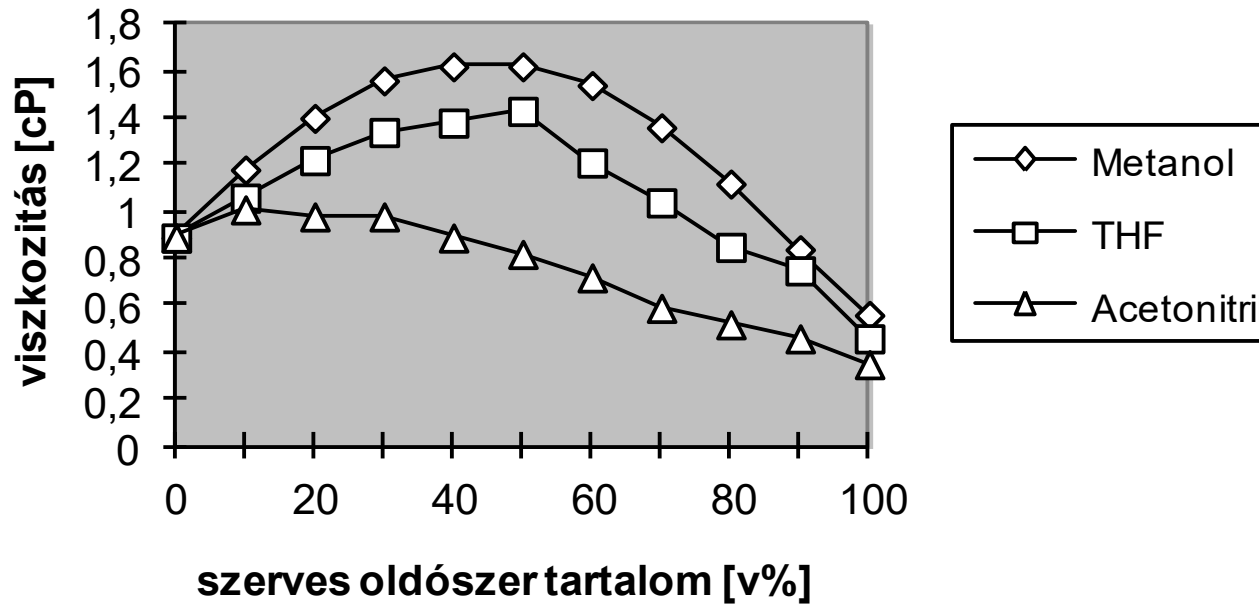
Ahol:

Φ – kolonna áramlási ellenállása

η – mozgófázis viszkozitása

d_p – töltet szemcseátmérője

Biner oldószerkelegyek viszkozitásának változása az összetétel függvényében (25°C-on)



Gyors elválasztás megvalósításának lehetőségei I.

$$t_r = \frac{L}{u} (1 + k)$$

1.) megoldás:

- L – csökken
- $d_p \sim 3 \mu\text{m}$
- d_c – HPLC-s tartomány  HPLC (400 bar)

Korlátok:

A kolonnán kívüli zónaszélesítő hatások miatt a teoretikus elméleti tányérszám fele – harmada érhető el.


$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} \frac{\alpha - 1}{\alpha} \frac{k}{k + 1}$$

Gyors elválasztás megvalósításának lehetőségei II.

$$t_r = \frac{L}{u} (1 + k)$$

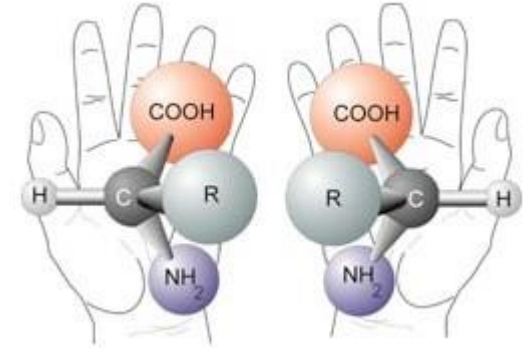
2.) megoldás:

- Δp – nő
- d_p – szub-2 μm
- d_c – 2 mm alatt

 UHPLC (1000 – 1400 bar)

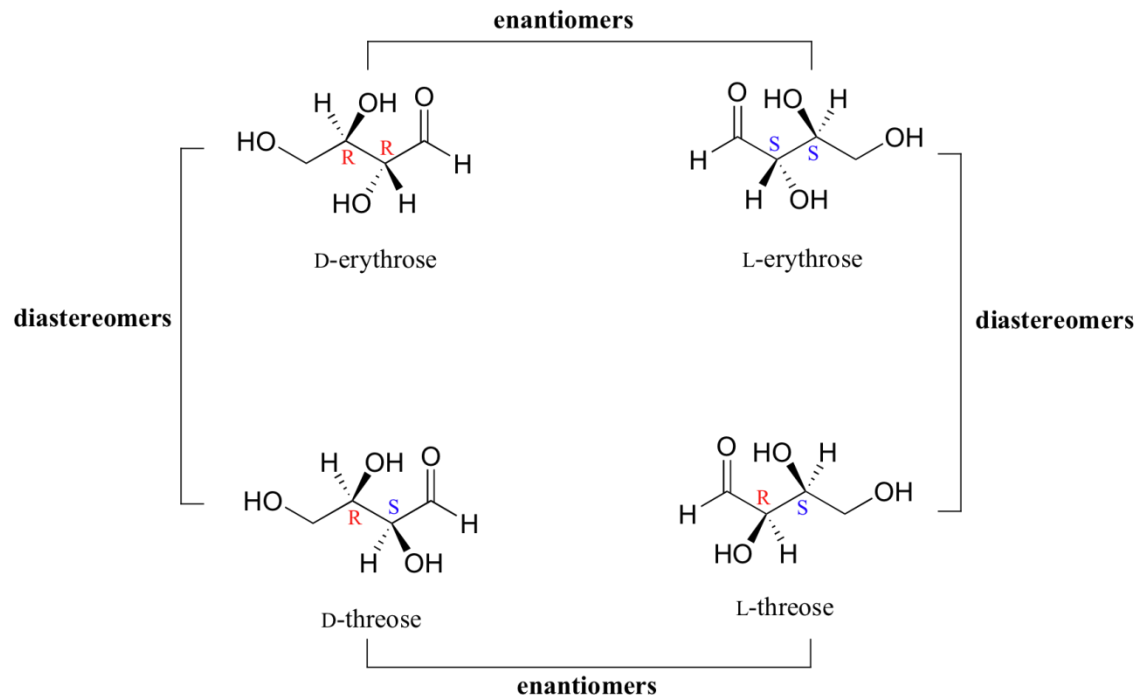
Királis kromatográfia

- Királis vegyületek
- Enantiomerek (tükörképi párok)
- Diasztereomerek (nem tükörképi párok)



Sztereoisomerek csoportosítása

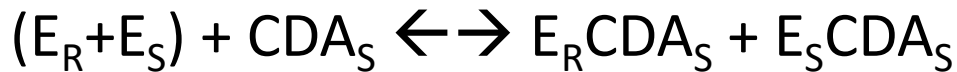
- Enantiomer: az optikai forgatóképesség irányán kívül minden fizikai és akirális környezetben minden kémiai tulajdonságukban megegyeznek
- Diasztereomer: fizikai-kémiai tulajdonságaik különböznek



Királis kromatográfia

- HPLC:
 - Közvetett meghatározás (származékképzés)
 - Közvetlen meghatározás (királis álló- vagy mozgófázis)
- GC: optikailag aktív állófázis (valin származék vagy ciklodextrin alapú)
- Szuperkritikus illetve CEC illetve VRK királis állófázisok is léteznek

- Közvetett módszer:



CDA: Chiral Derivatizing Agent – úgy választjuk meg, hogy az elválasztandó enantimerek egyik funkciós csoportjával (pl. amin, hidroxil, karboxil, stb.) reakcióba lépjen, diasztereomer párt képezve.

Használható normál-, fordított fázisú valamint ioncserés kromatográfiában is.

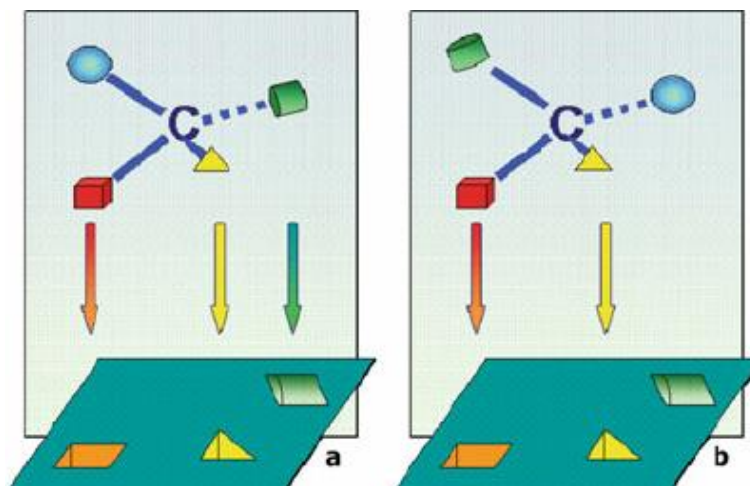
A királis kolonnák elterjedésével háttérbe szorult, de nyomanalitikában használják, különösen kromofor vagy fluorofor csoportot tartalmazó származékképzők alkalmazásával.

Előnyök/hátrányok

- Az elválasztás általában egyszerűbb
- Az elúciós sorrend következtethető illetve megfordítható
- A detektálás alsó határa csökkenthető
- Akirális kolonna olcsóbb
- A módszerfejlesztés kevésbé időigényes
- A szelektivitás növelhető (előtisztítás)
- A származékképző enantiomer tisztasága kritikus
- A képződött diasztereomerek moláris abszorbanciája különbözhet
- A származékképzés során racemizáció léphet fel
- A reagens feleslege és a melléktermékek zavaró csúcsként jelentkezhetnek
- Az enantiomerek visszanyerése további műveleteket igényel
- A származékképzés időigényes lehet

- A hárompontos kötődés modellje

A szelektor és az elválasztandó vegyület között akkor jön létre stabil kapcsolat, ha az elválasztandó molekula legalább 3 ponton tud kötődni (Dalgliesh, 1952). A három kölcsönhatás közül legalább egynek sztereoszelektívnek kell lennie (Pirkle és Pochapsky, 80-as évek)



- Közvetlen meghatározás

Királis mozgófázis

A mozgófázisba bevitt optikailag aktív adalékanyag tulajdonságaitól függően adszorbeálódik az állófázison, így lehet egyszerre az álló- és a mozgófázis is optikailag aktív. Ezesetben az állófázis-hatás nagy. Ahány állófázis, annyi eltérő adszorpciós tulajdonság -> változik az állófázis borítottsága és enantiomer szelektivitása.



Gyógyszeriparban nem jellemző a használata

Királis állófázisok

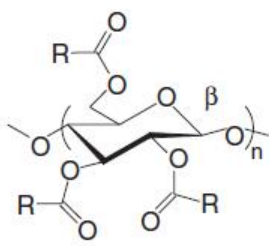
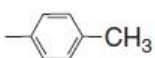
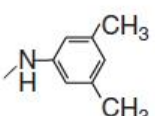
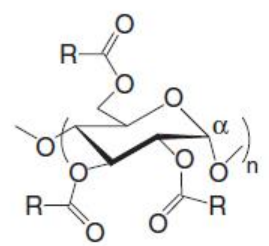
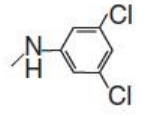
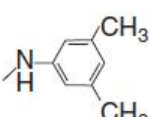
- A királis szelektor kovalens kötéssel kötött vagy esetleg fizikailag erősen adszorbeálva van állófázisra (legtöbbször szilika állófázisra)
- A mozgófázis akirális, mentes bármilyen királis összetevőtől
- Ahogy a minta keresztülhalad az oszlopon az egyes enantiomerek úgy tartódnak vissza, hogy asszociátumokat képeznek a királis szelektorról. Így diasztereomer komplexek képződnek az állófázison
- Sikeres elválasztáshoz olyan királis állófázisra van szükség, ami az egyik enantiomerrel erősebben kölcsönhat, mint a másikkal
- Előnye, hogy a királis szelektor tisztasága nem kritikus
- Hátrány: drága oszlop, jellemzően rövidebb élettartammal, mint egy fordított fázisú; kis szelektivitás strukturális analógokra
- Hatékonyság rossz – nem is javítható, mert a lassú kinetikából, és sokszor a nemlineáris adszorpciós izotermából adódik

Poliszacharid alapú CSP-k

1973 Hesse és Hagel – cellulóz triacetát, hordozó nélkül -> jó enantioszelektívás, kapacitás, de rossz nyomástűrés, hatékonyság
 1984 Okamoto – szilika hordozóra vitte fel 20 %-ban a poliszacharid réteget -> jó mechanikai stabilitás, hatékonyság

A legelterjedtebb manapság az észter és karbamát származék

Általában normál fázisú rendszerekben használják, de léteznek olyan változatok, amik használhatók RP körülmények közt.

Polymer backbone	Residue	Name	Tradename
 <p>Cellulose</p>		Cellulose tris (4-methylbenzoate)	a
		Cellulose tris (3,5-dimethylphenyl-carbamate)	b
 <p>Amylose</p>		Cellulose tris (3,5-dichlorophenyl-carbamate)	c
		Amylose tris (3,5-dimethylphenyl-carbamate)	d
Tradenames	Coated	Immobilized	
a	Chiracel OJ	not available	
b	Chiracel OD	Chiralpak IB	
c	not available	Chiralpak IC	
d	Chiralpak AD	Chiralpak IA	
	Restricted solvent range	Full solvent range	

Bár széles körben alkalmazzák őket, a királis felismerés mechanizmusának leírása nem pontos.

3 okra vezetik vissza:

- királis centrumok a monoszacharidban
- konformációs kiralitása a polimer váznak
- különféle polimerláncok egymáshoz viszonyított elhelyezkedése miatt kialakuló királis üregek

Különféle származékképzéssel a szelektivitás növelhető.

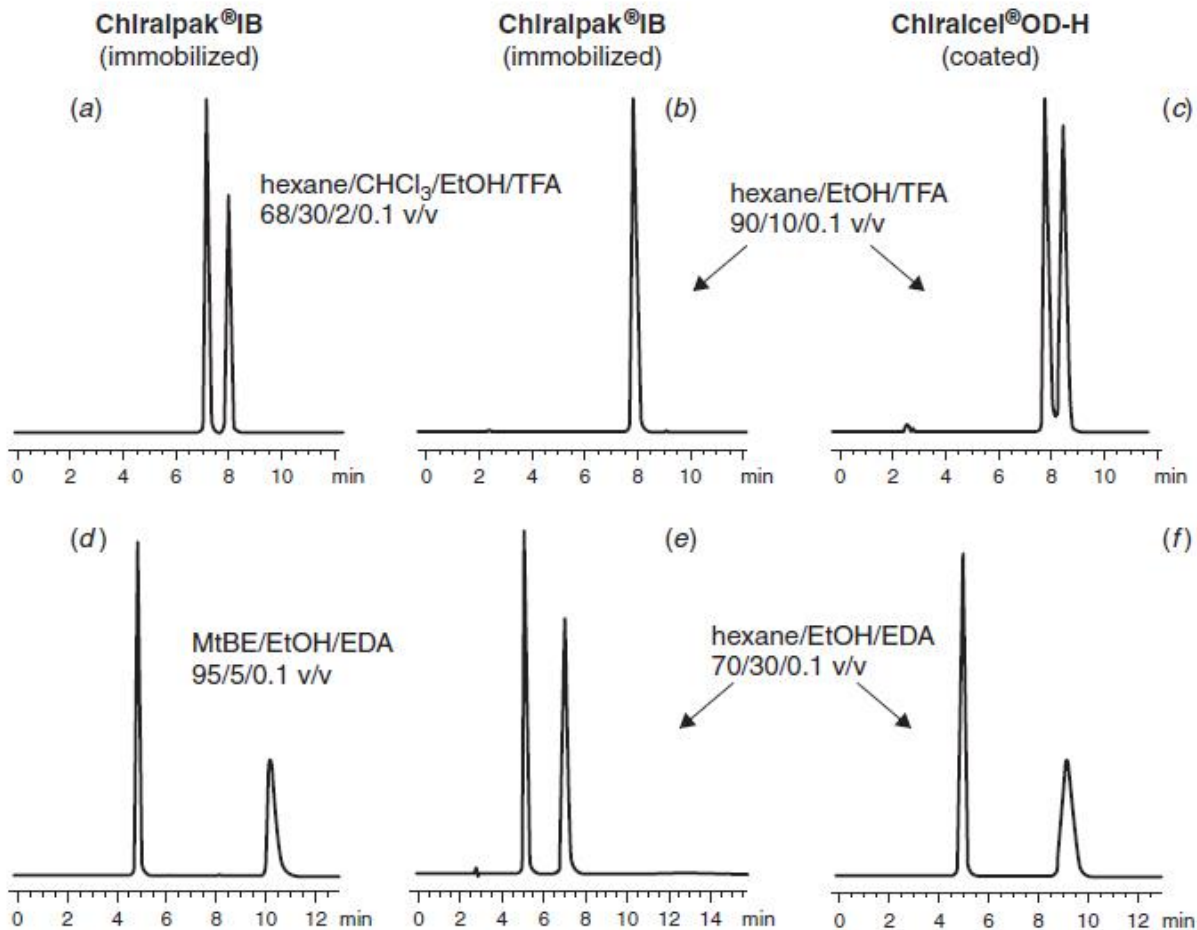
Előállítás körülményei (hőmérséklet, feloldás-újra kicsapás) jelentősen befolyásolják a szelektivitást.

A mechanizmus bonyolultsága megnehezíti a módszerfejlesztést. Javaslat:

Chiralpak AD>Chiralcel OD>Chiralcel OJ

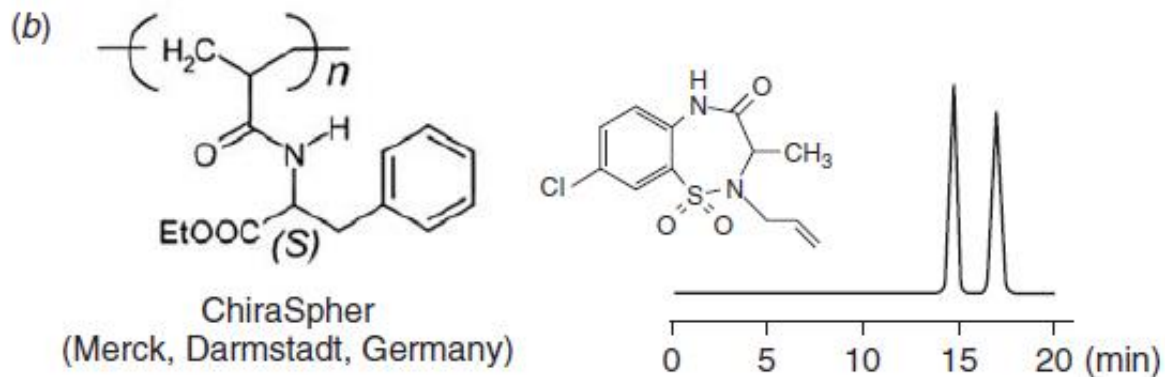
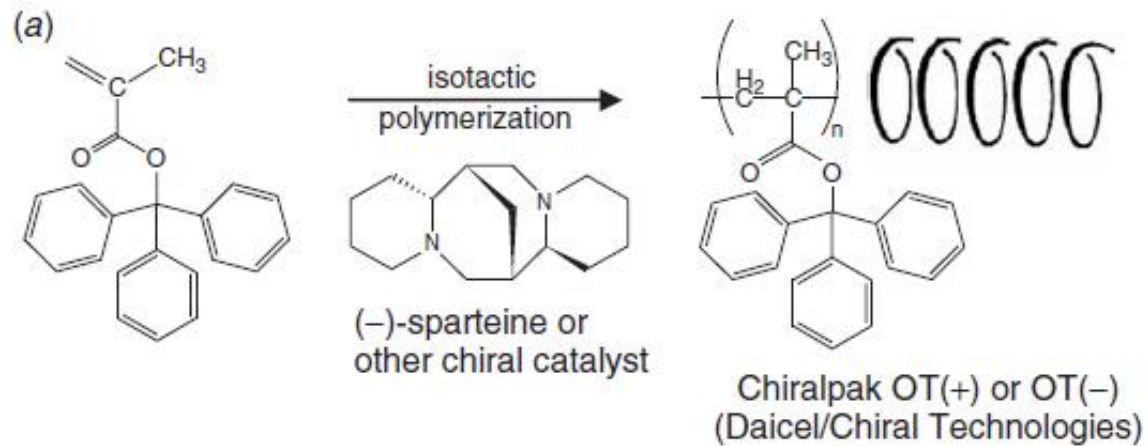
Normál fázisban használják; hexán vagy heptán eluenssel, izopropanol vagy etanol „B” mozgó fázissal

Kolonna típusának hatása az elválasztásra

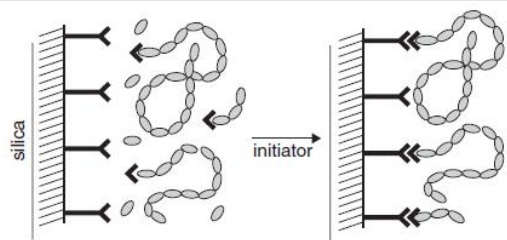


N-benzyloxycarbonyl-phenylalanine (a–c) and laudanosine (d–f)

Szintetikus polimer típusú CSP-k

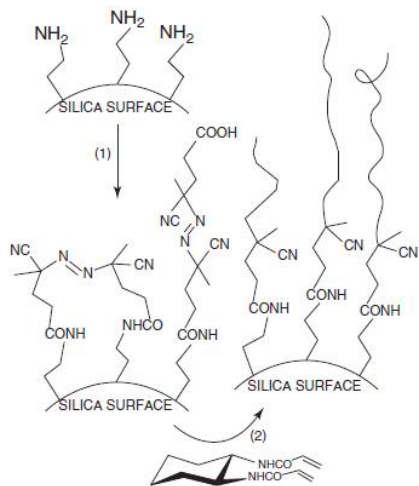
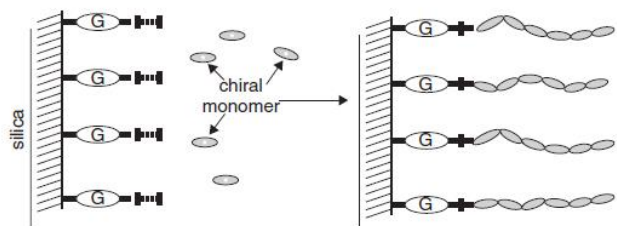


Gyengébb enantioszelektivitás, mint a természetes alapú fázisoknak, kevésbé rendezett polimerláncaik miatt

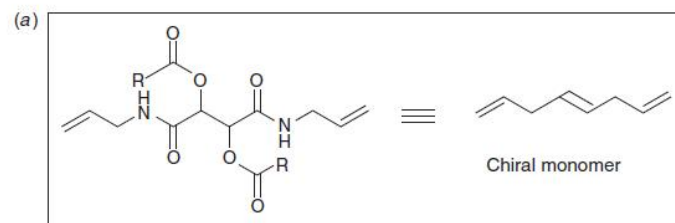


Grafting-from

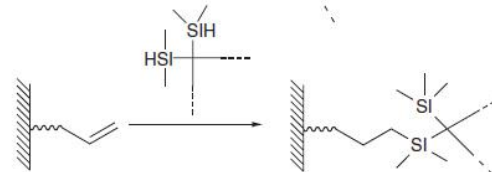
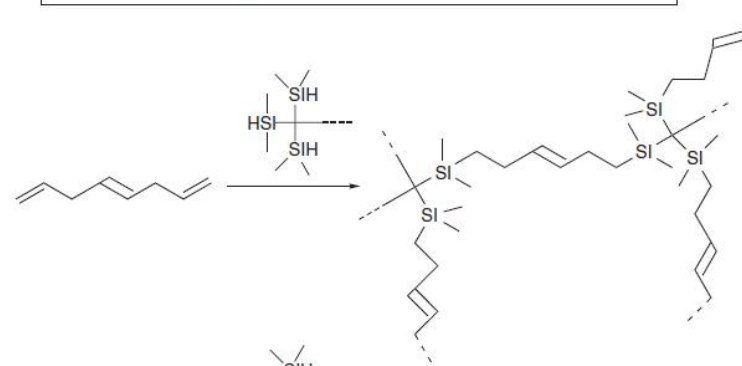
(b)



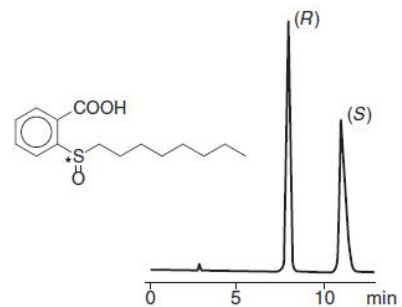
(c)



Chiral monomer



(b)



Protein fázisok

A királis komponensek szelektív kötődése különböző proteinekhez ismert a biokémiából

Sok protein alapú CSP-t írtak le, de kereskedelmi forgalomban csak néhány típus kapható.

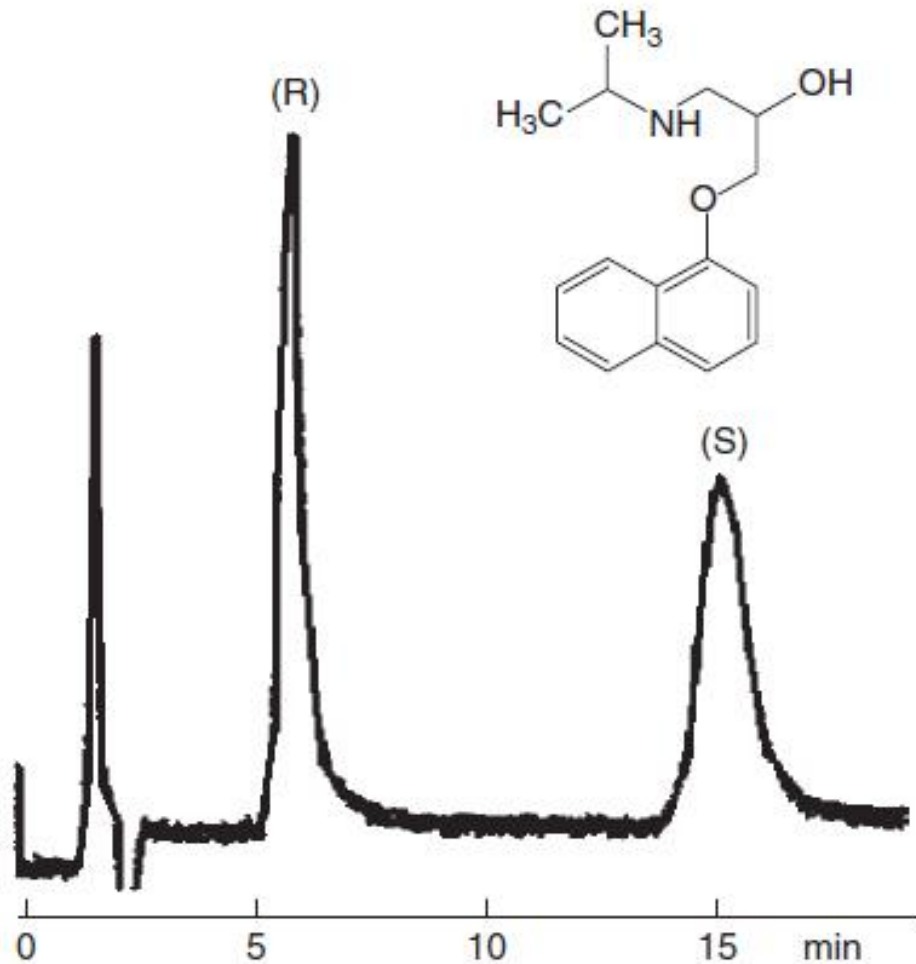
Mindig vizes közegben használják (vagy vizes-szerves közegben) -> optimálás a pH állításával, puffer típusával, koncentrációjával és a szerves fázis minőségével, mennyiségével lehetséges.

Szerves fázis hozzáadása csökkenti a retenciót. Az enantioszelektivitás nőhet és csökkenhet is, attól függően, hogy a hidrofób kölcsönhatások csökkentése befolyásolja-e a királis helyekhez való kötődést

Table 14.2

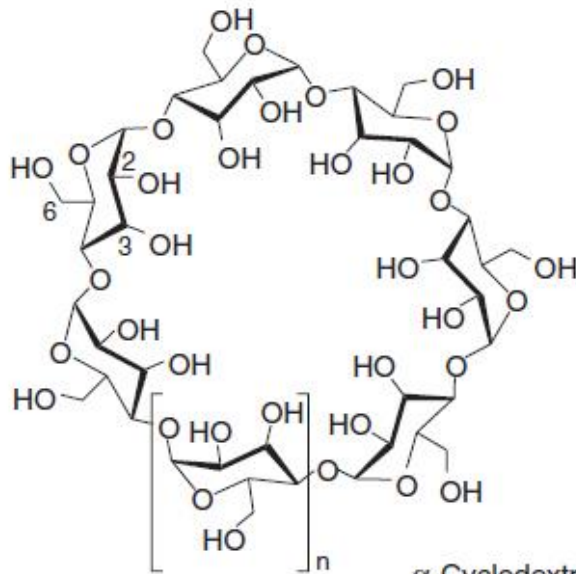
Important Protein-Type CSPs and Column Trade Names, with Some Characteristics of the Protein Selectors

Protein	Molecular Weight (kDa)	Carbohydrate (%)	Isoelectric Point	Column Trade Name (Supplier)
Serum albumin				
Human (HSA)	67	0	4.7	Chiral HSA (ChromTech)
Bovine (BSA)	68	0	4.7	Resolvosil BSA (Macherey Nagel)
α_1 -Acid glycoprotein (AGP)	44	45	2.7	Chiral AGP (ChromTech)
Ovomucoid (OVM)	28	17-34	4.5	Ultron ES-OVM (Shinwa Chemical)
Cellobiohydrolase I (CBH)	60–70	6	3.6	Chiral CBH (ChromTech)
Avidin	66	20.5	9.5–10	Bioptic AV-1 (GL Sciences)
Pepsin	70–78	-	6.1–6.6	Ultron ES-Pepsin (Shinwa Chemical)

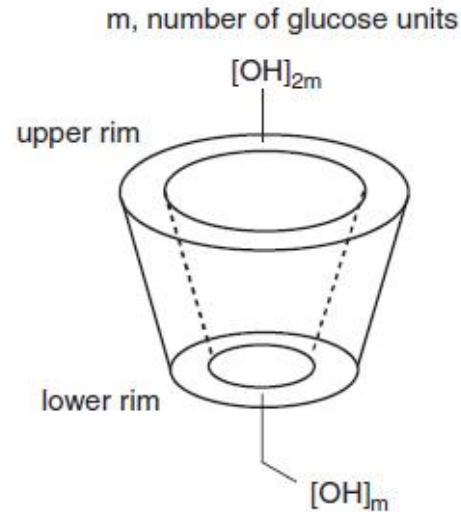


propranolol enantiomerek elválasztása protein kolonnán (cellobiohydrolase I; Chiral CBH I, ChromTech). Eluens: 0,01M acetate puffer, pH 5.

Ciklodextrin alapú CSP-k



α -Cyclodextrin	$n = 0, m = 6$
β -Cyclodextrin	$n = 1, m = 7$
γ -Cyclodextrin	$n = 2, m = 8$



Commercial columns:

Cyclobond I (native β -CD), *II* (native γ -CD), and *III* (native α -CD) (from ASTEC)

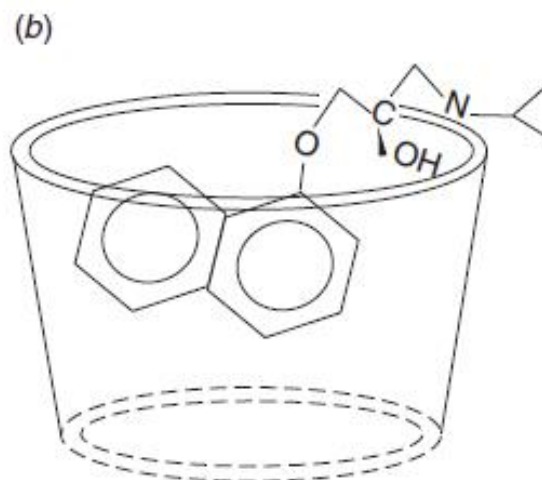
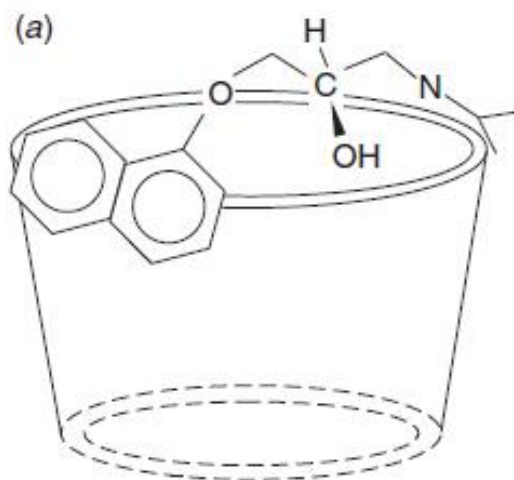
Cyclobond I SP or *RSP* [(*S*)- or (*RS*)-2-hydroxypropylether- β -CD] (ASTEC)

Cyclobond I RN or *SN* [(*R*)- or (*S*)-1-(1-naphthyl)ethylcarbamate- β -CD] (ASTEC)

ChiraDex (native β -CD) and *ChiraDex Gamma* (native γ -CD) (from Merck)

Ultron ES-CD (native β -CD) and *Ultron ES-PhCD* (phenylcarbamoylated β -CD)
(from Shinwa)

Felismerés mechanizmusa

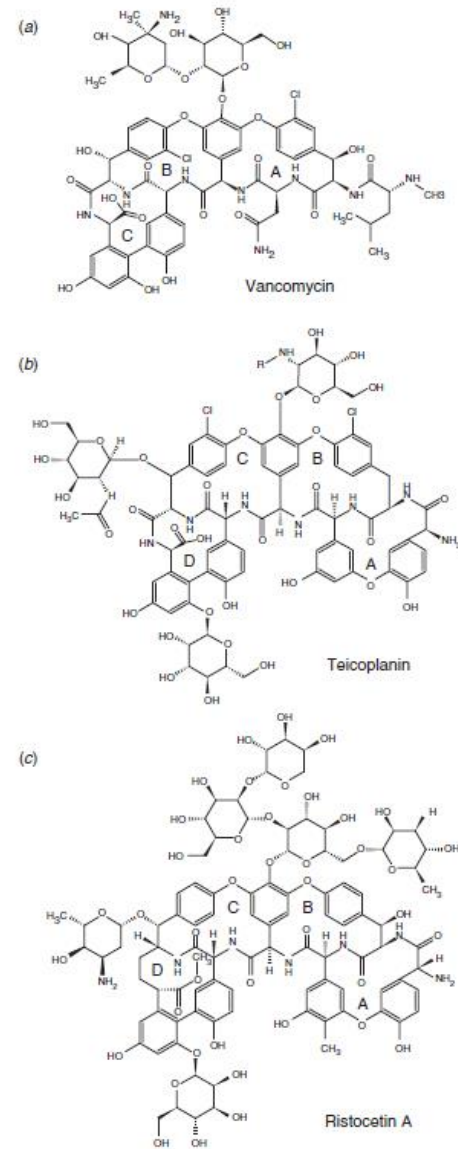
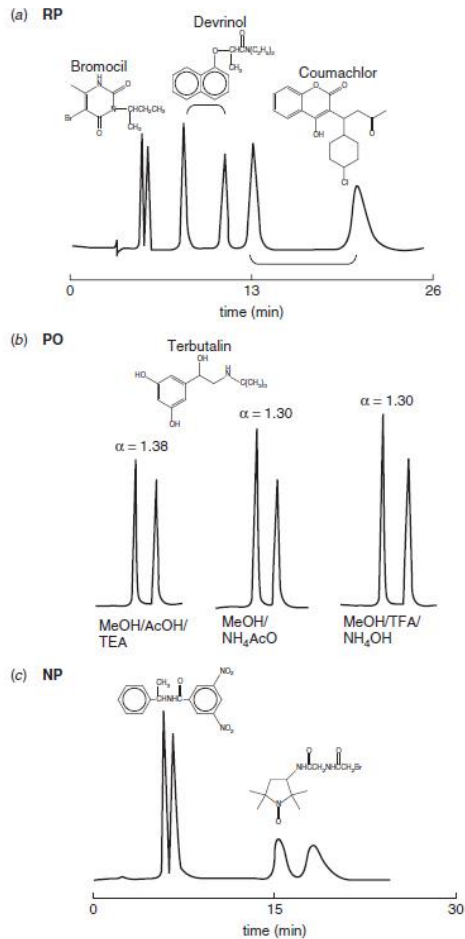


A CD belseje blokkolva van az oldószermolekulákkal, hidrofil csoportok a poláris részhez kötődnek

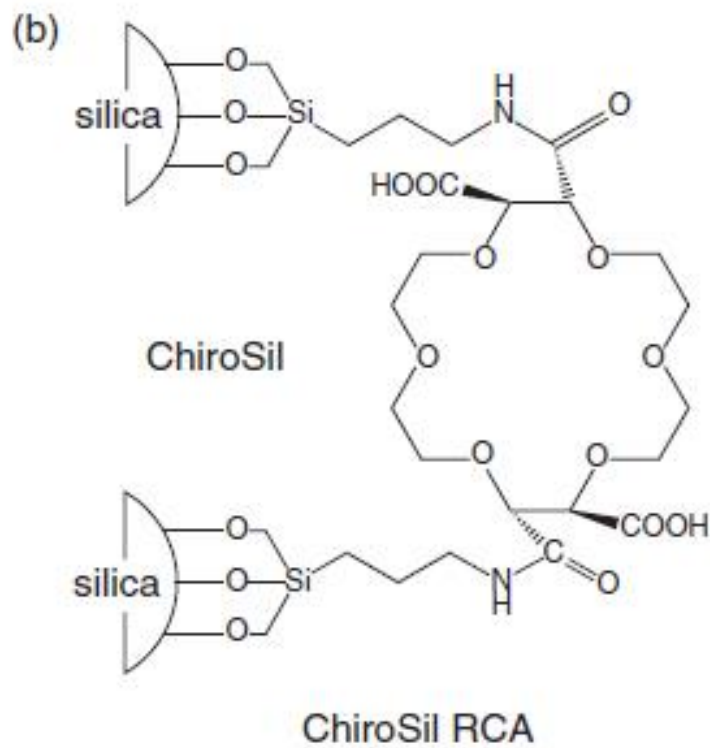
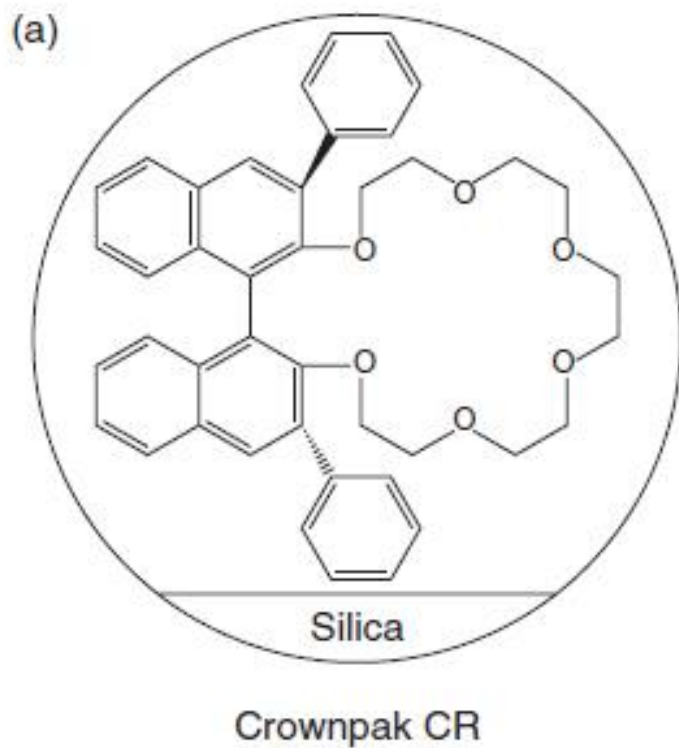
Molekula hidrofób része a a CD belsejében, hidrofil csoportok a poláris részhez kötődnek

Makrociklusos antibiotikum alapú CSP-k

Használhatók RP, PO és NP módban, de a polár/organic módban értek el legjobb szelektivitásokat

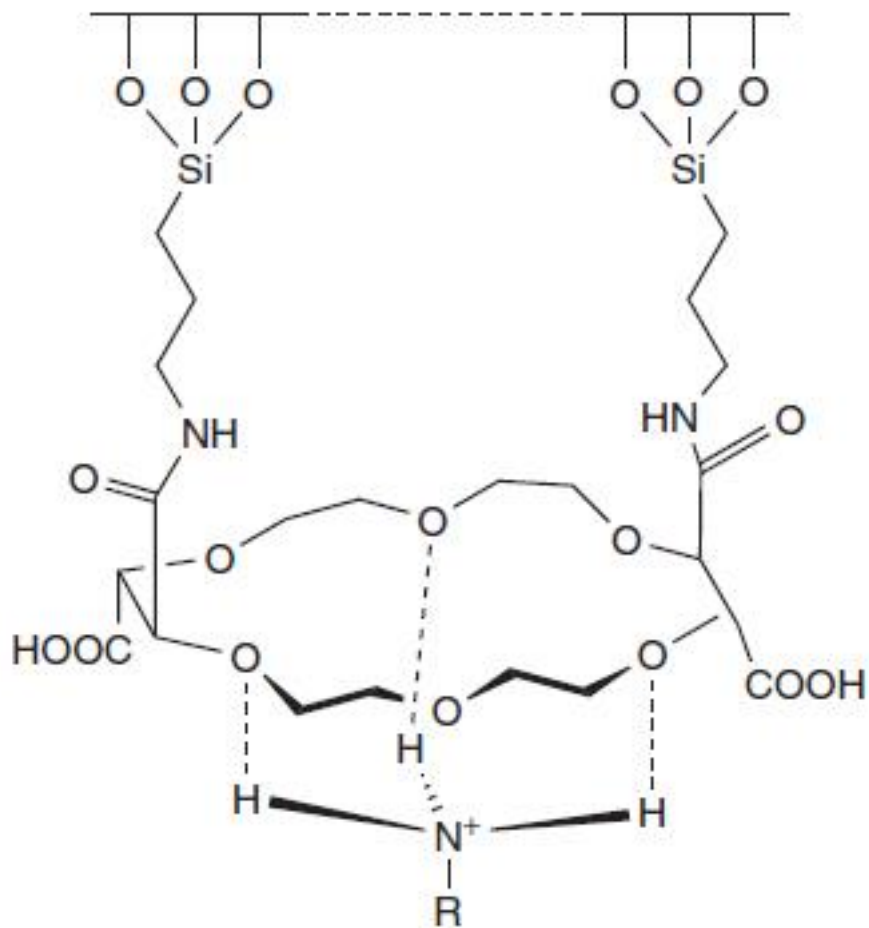


Királis koronaéter típusú CSP-k



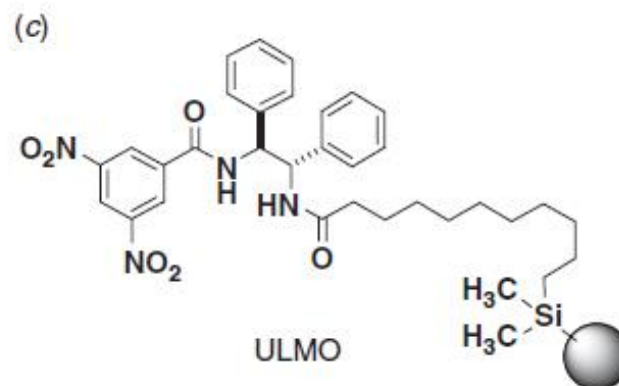
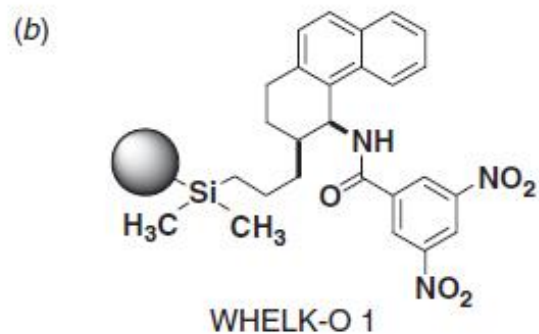
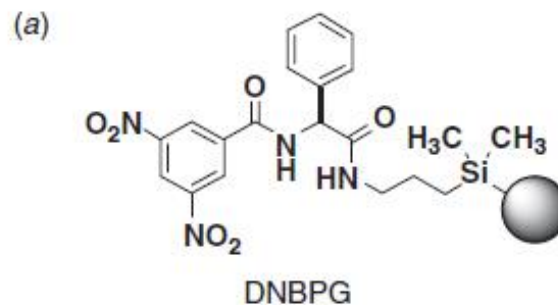
Elsősorban primer aminok elválasztásához (aminosavak, aminosav-észterek, amino alkoholok)
Vizes közegben pH=1-3,5, a teljes protonálódáshoz

Mechanizmus: a királis ammónium ionok meg tudnak kötődni 3 H kötéssel a koronaéter 3 oxigén atomjához. Az enantioszelektivitás szterikus okokra vezethető vissza

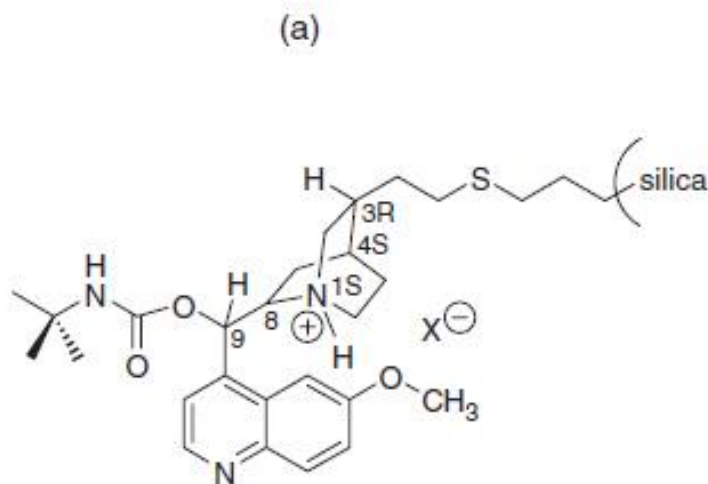


Donor-akceptor típusú CSP-k

Alapja: királis, kis molekulatömegű szelektorok, amik semlegesek, szintetikusak és NP módban használhatósak.



Királis ioncserélők

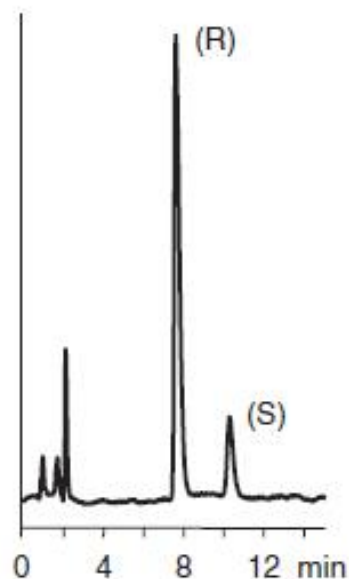
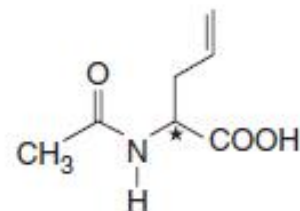


CHIRALPAK[®] QN-AX: (8S,9R)

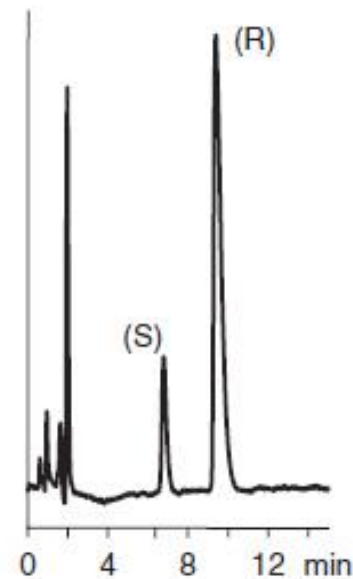
CHIRALPAK[®] QD-AX: (8R,9S)

Ionizálható szelektorok- ionos kölcsönhatás a szelektor és analát között.

A szelektor nagy enantioszelektivitással rendelkezik.

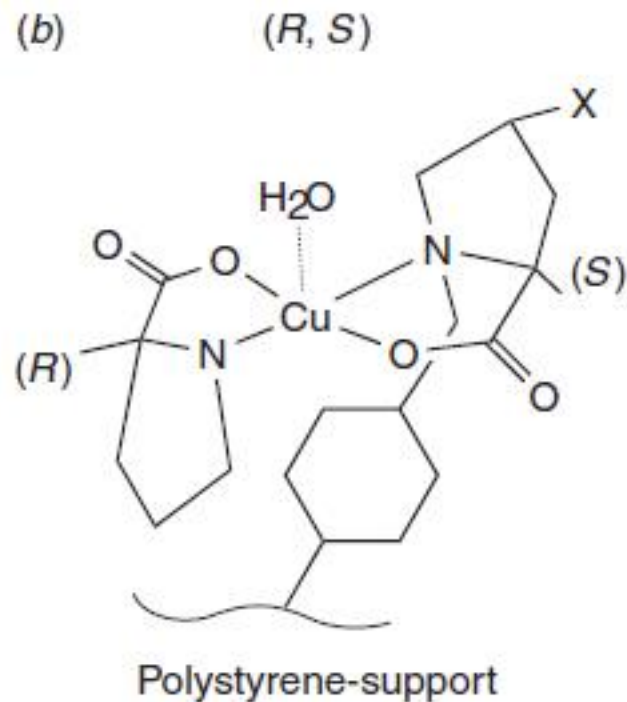
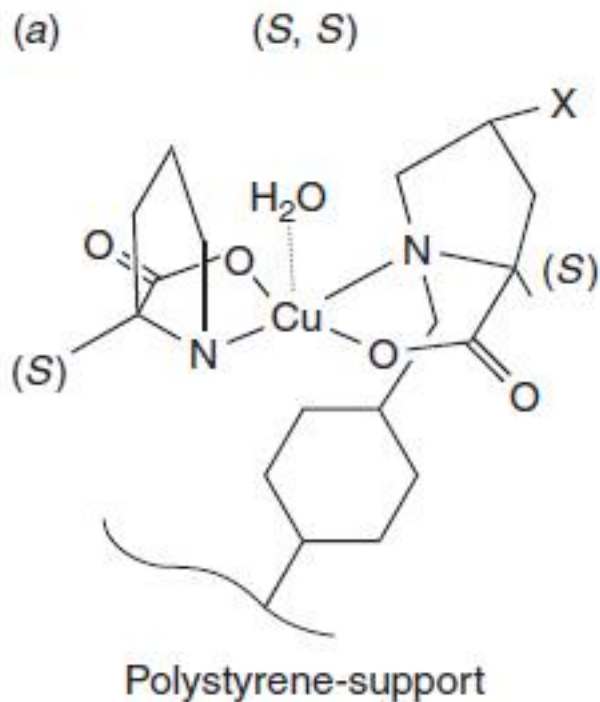


CHIRALPAK[®] QN-AX
Quinine-derived



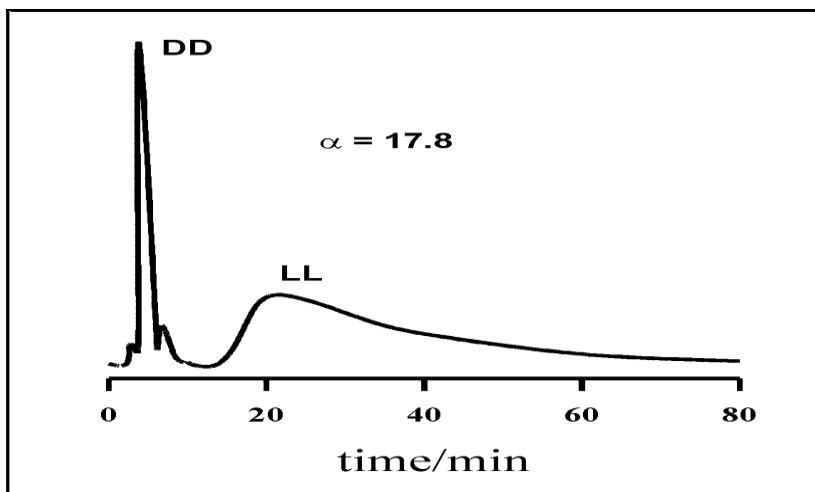
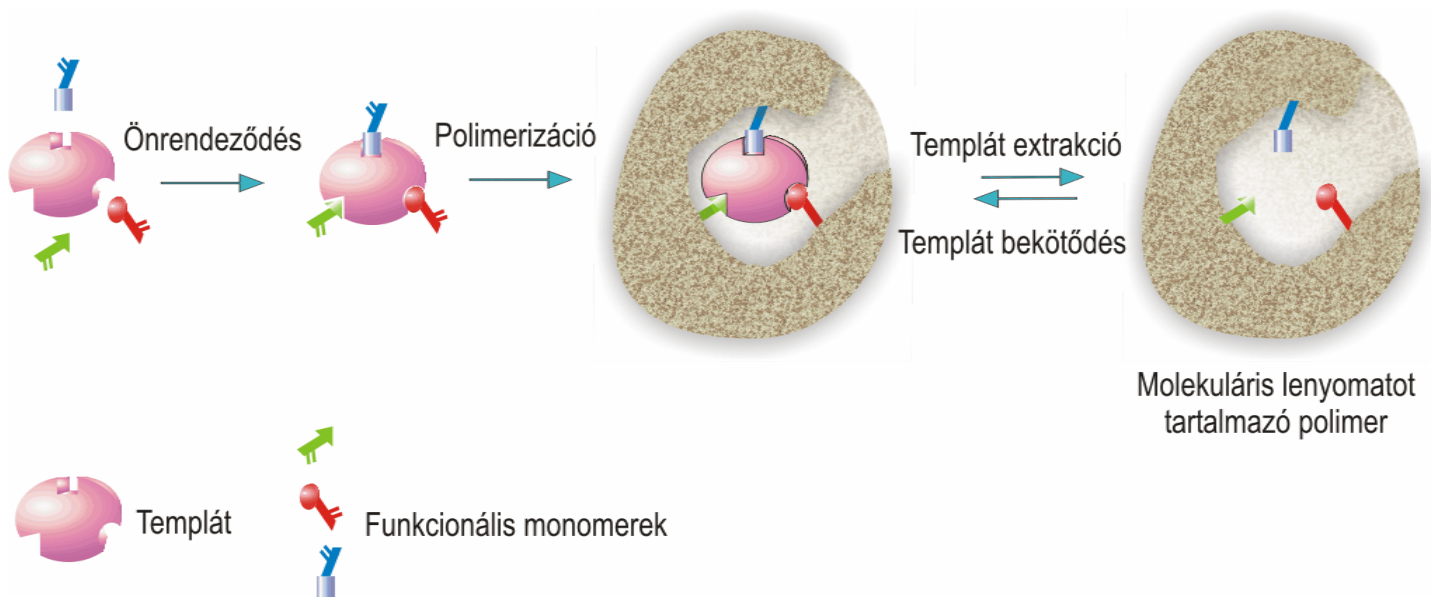
CHIRALPAK[®] QD-AX
Quinidine-derived

Királis ligandum cserélő CSP-k

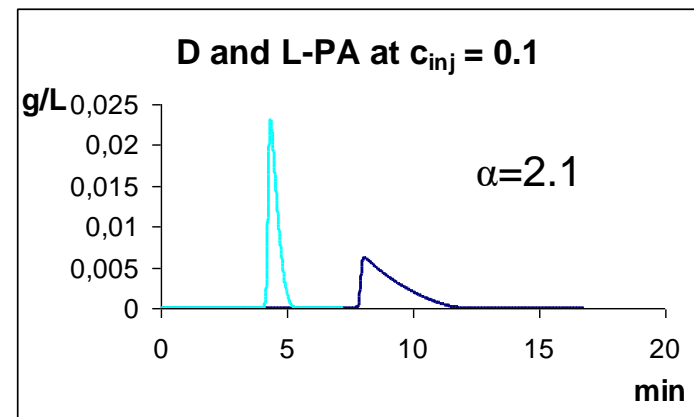
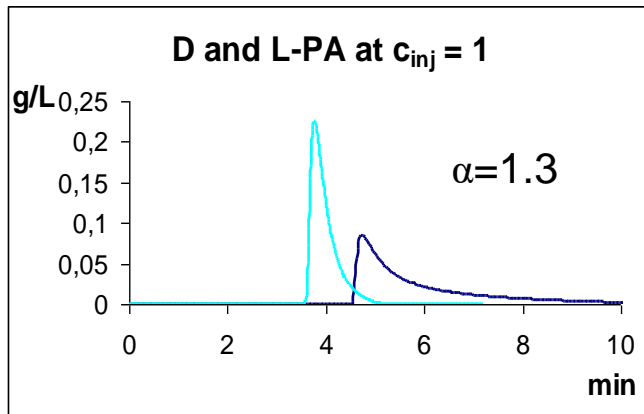


Prolin immobilizálása polisztirol vázra 1960 Davankov
Ma már kevésbé használatos

Molekuláris lenyomatú polimerek



N-acetil-Phe-Trp-OMe LL és DD enantiomerjeinek elválsztása az LL izomerre imprintelt oszlopon



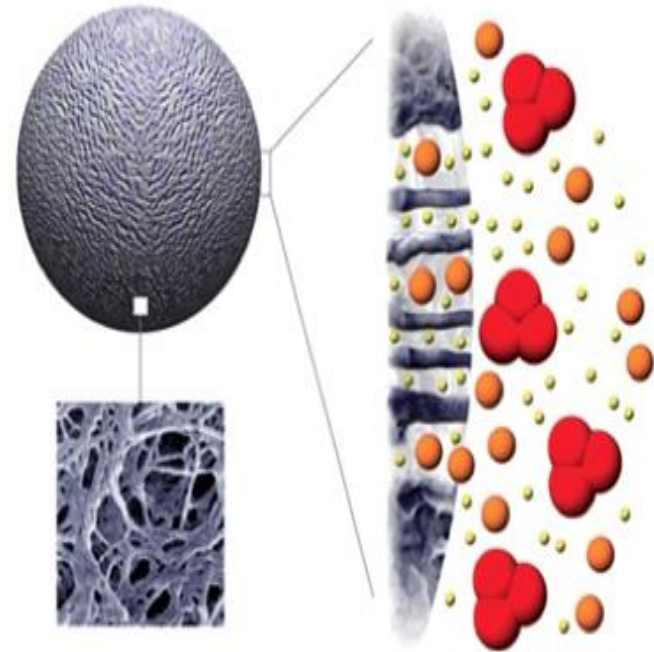
Racém elegy kromatogramja különböző koncentrációknál **az izotermák alapján szimulálva** (PA: phenylalanine anilide)

Dependence of the chromatographic enantioselectivity, α , on the column length L (left panel) and on the column i.d. (right panel)

L (cm)	d (cm)	α	L (cm)	d (cm)	α
5	0.46	1.92	10	0.2	1.48
10	0.46	2.13	10	0.3	1.82
20	0.46	2.31	10	0.46	2.13

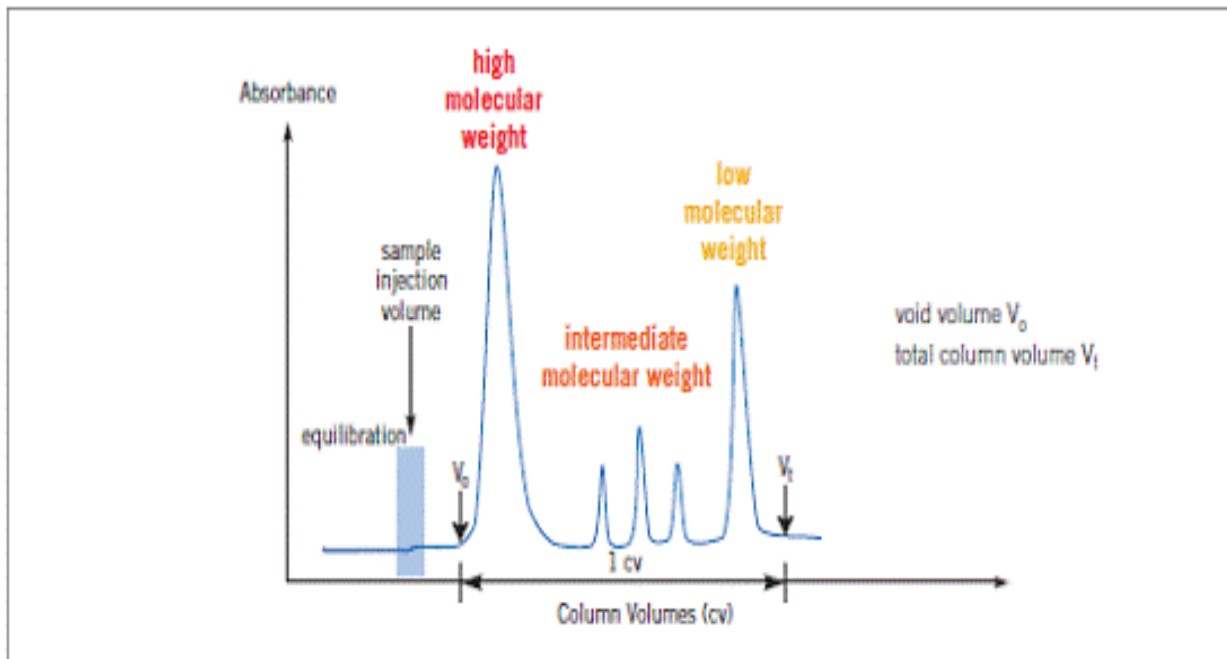
Méretkizárásos kromatográfia

- Size Exclusion Chromatography (SEC)
- A molekulákat nagy pórusátmérőjű tölteteken méretük szerint választjuk szét
- Nagy molekulák kizáródnak – kisebb méretű molekulák méretüktől függően tartózkodnak a pórusokban
- Állófázis: inaktív, nem alakít ki kölcsönhatást az elválasztandó molekulákkal az adott eluensben



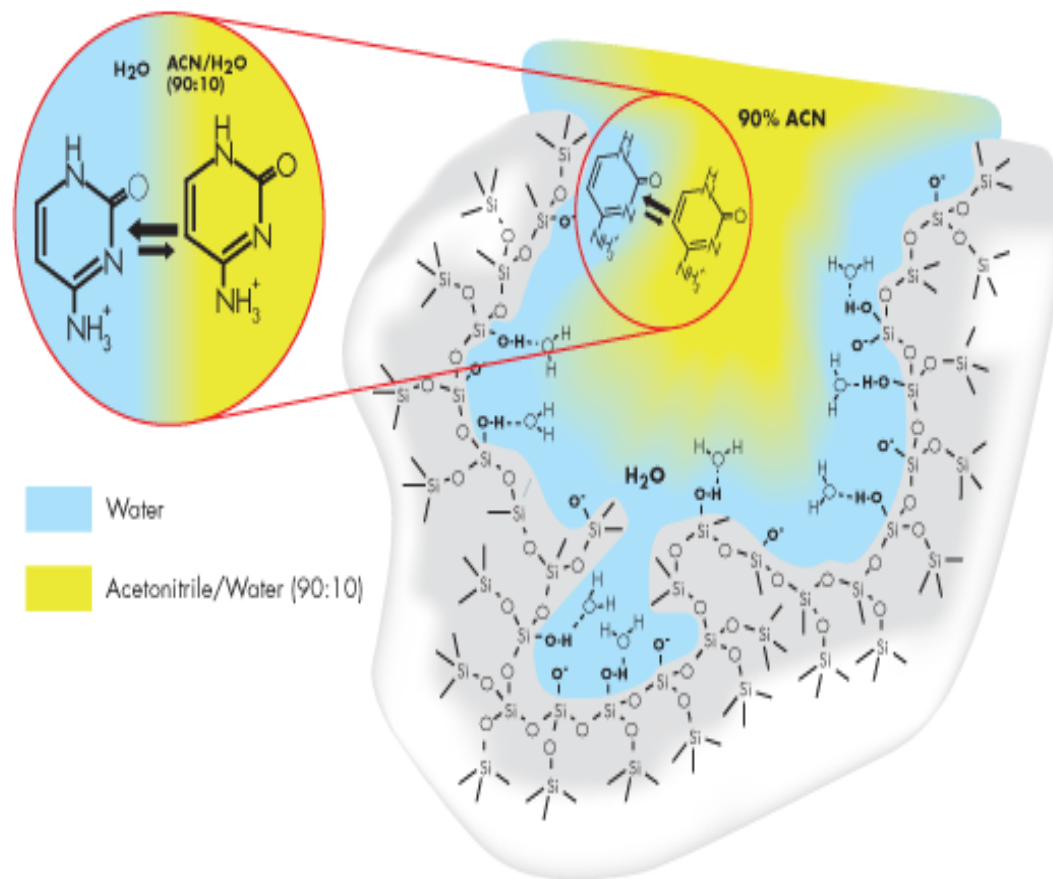
Méretkizárásos kromatográfia alkalmazási területei

- Nagy molekulásúlyú molekulák, polimer adalékok, lágyítók vizsgálata
- Biopolimerek, peptidek, enzimek elválasztása
- Molekulatömeg-eloszlás, átlag molekulatömeg meghatározása

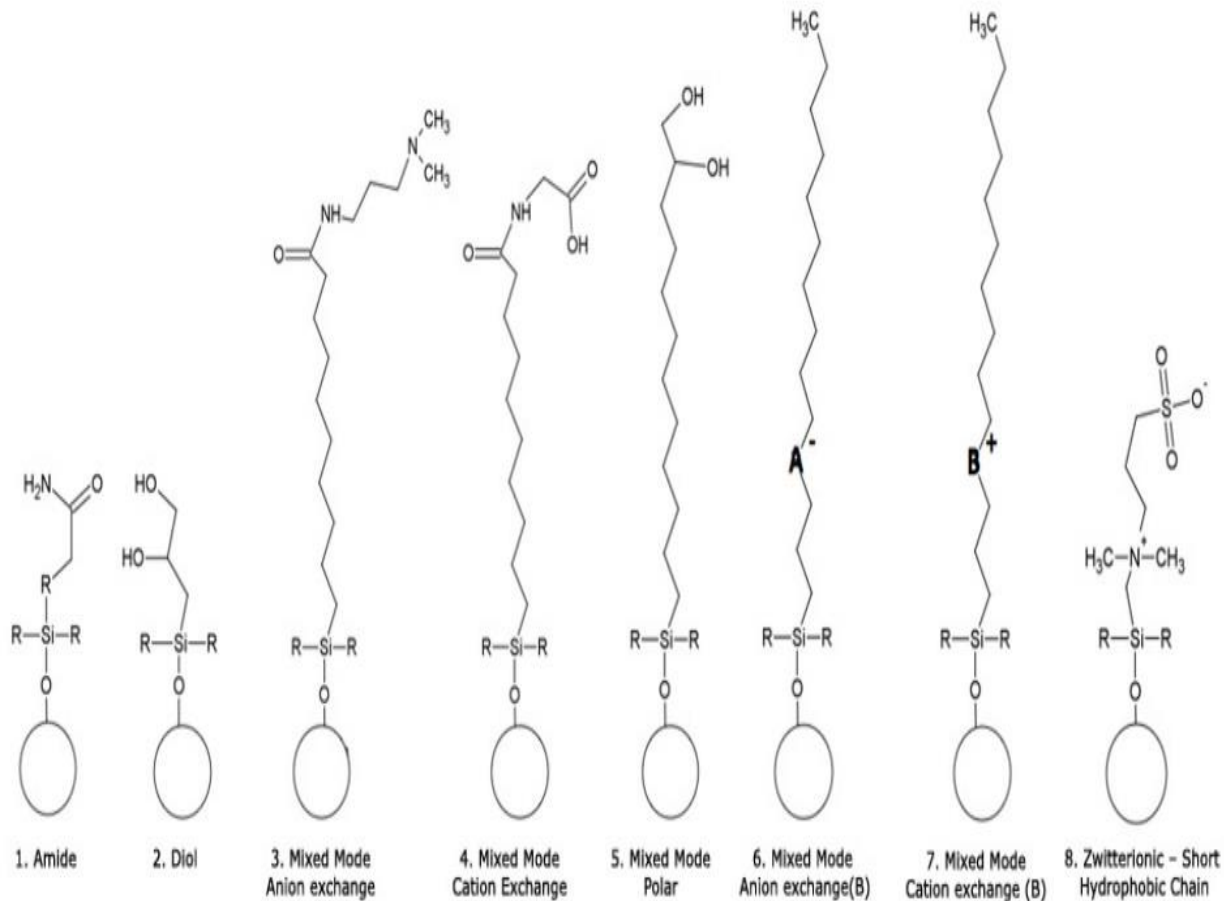


HILIC (Hydrophilic Interaction Chromatography)

Állófázis: poláris
(szilikagél vagy
polárisan módosított
szilikagél)
Mozgófázis: vizes –
szerves (tipikusan:
30%:70%)
A polaritásviszonyok
miatt „fordított
fordított fázisú
kromatográfiának” is
hívják



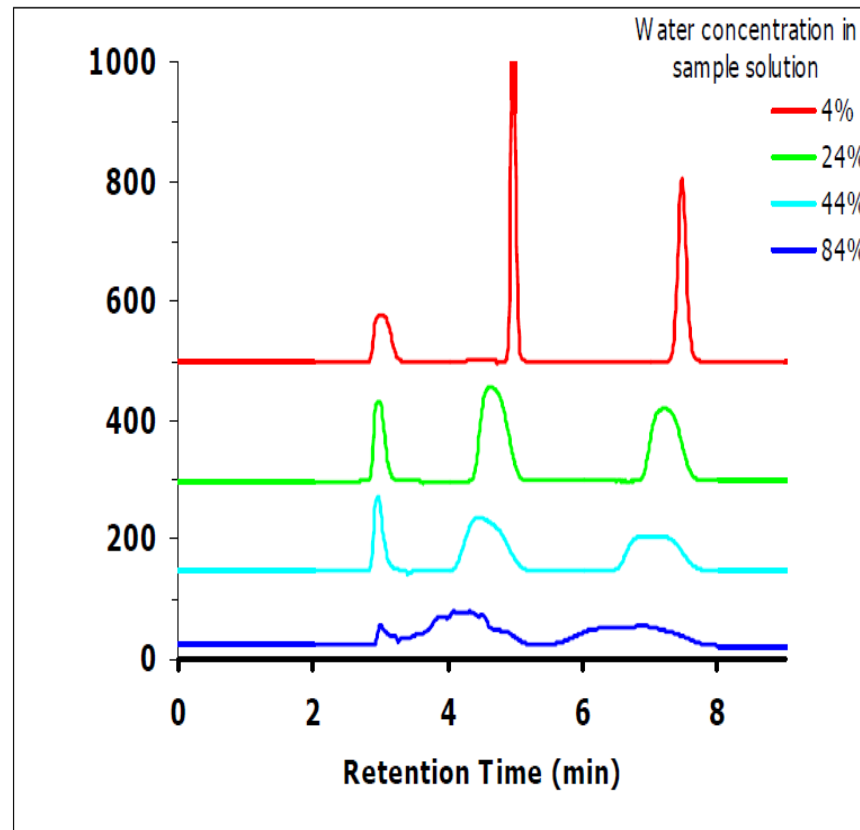
HILIC állófázisok



Pufferválasztás a HILIC-ben

- A nagy szerves oldószer-tartalom miatt a pufferválasztás kritikus. A szervesen oldható anyagok a nagy szerves oldószertartalmú mozgófázisokban nem oldódnak.
- Használható pufferek:
 - Ammónium-acetát - ecetsav
 - Ammónium-formiát – hangyasav
 - Ammónium-citrát – citromsav
 - TRIS – TRIS HCl

Minta oldószerösszetételének hatása



Injektált térfogat hatása

