

Жидкостная хроматография Waters Breeze



Колобов А.А.
ООО «Компания
Хеликон»
2013 г

Breeze



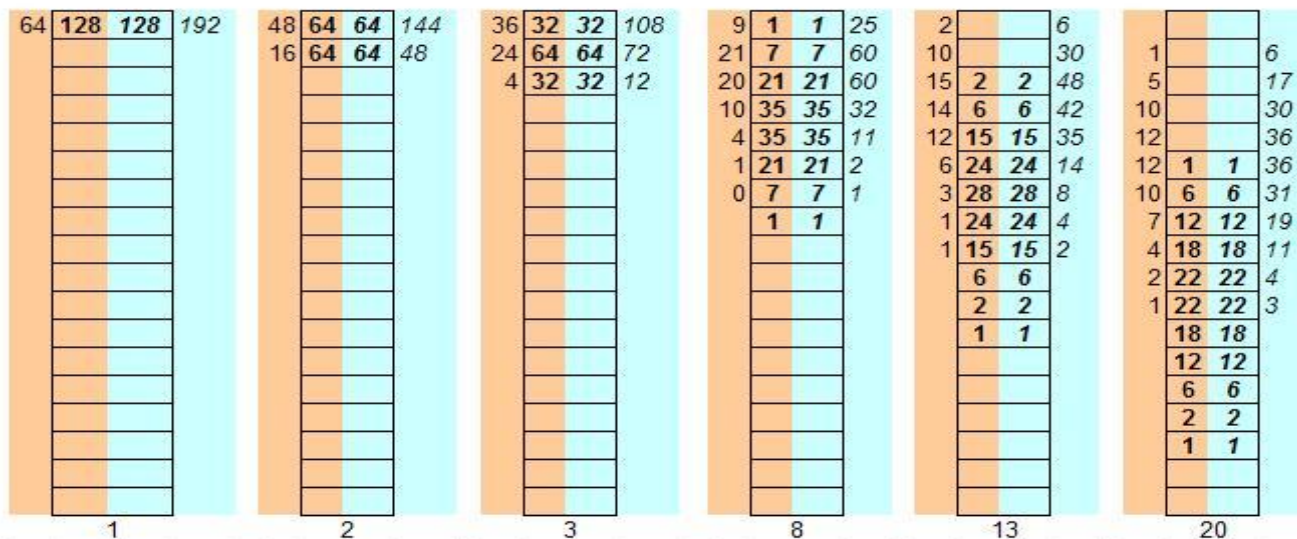
Хроматография



Михаил Семёнович Цвет

1906 — 21 июля (1872—1919) — статья «Адсорбционный анализ и хроматографический метод. Применение к химии хлорофилла» (Ber. Dtsch. bot. Gel., Bd.24, S. 384—393).

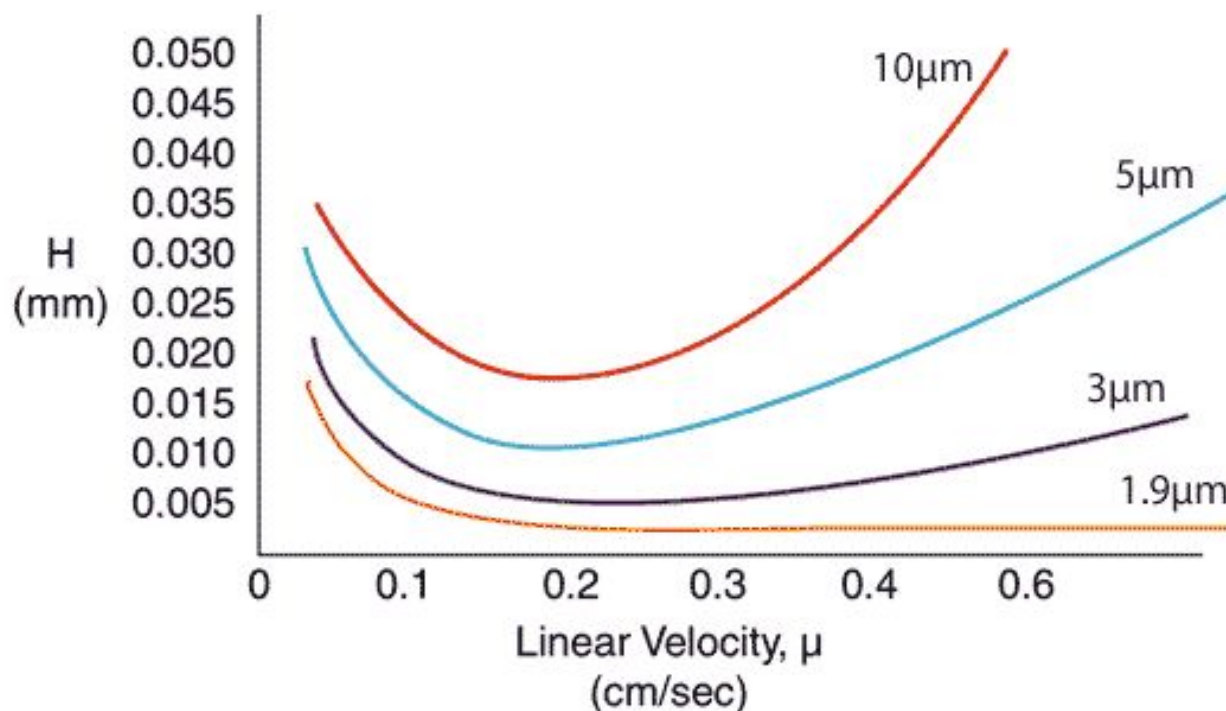
Теоретические тарелки



Колонка произвольно разделена на 18 теоретических тарелок. На колонку нанесено 512 молекул. Из них 256 (жирный шрифт) распределяются поровну (1:1) между подвижной фазой (прямой шрифт) и неподвижной фазой (курсив). Молекулы другого типа (тонкий шрифт) распределяются таким образом, что в подвижной фазе находится 25%, а в неподвижной — 75% молекул (1:3). При переносе все вещества в подвижной фазе переходят на следующую теоретическую тарелку. После каждого переноса число молекул каждой категории перераспределяется в соответствии с правилом 1:1 и 1:3.



Размер имеет значение

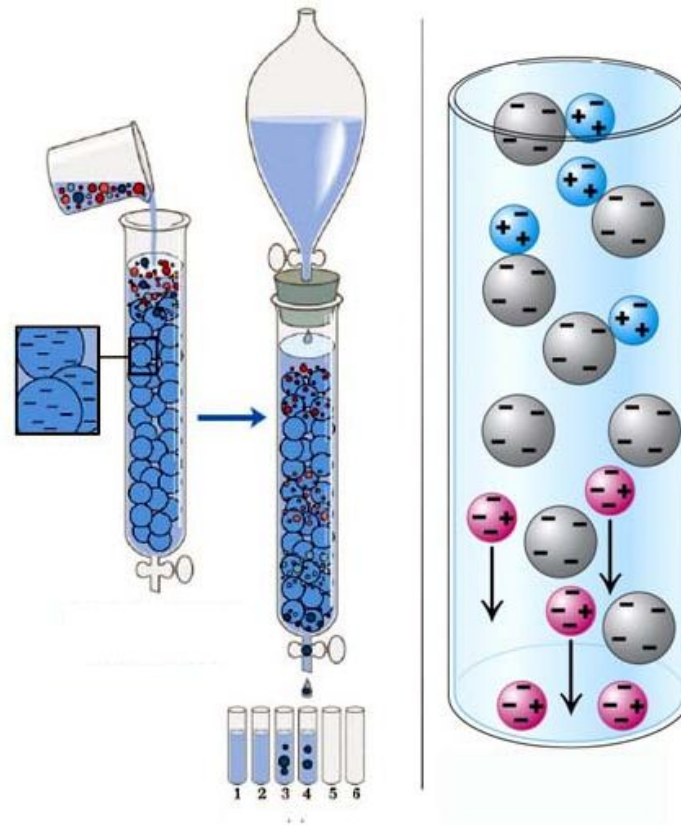


Сорбенты меньшего размера позволяют производить разделение при большей скорости при сохранении количества теоретических тарелок

Способы разделения

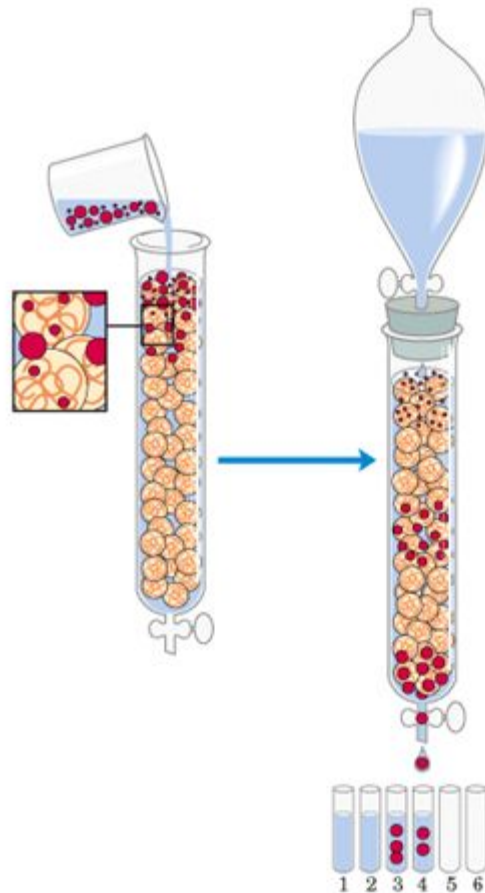
- Ионообменная хроматография
- Гельэкскизионная хроматография
- Распределительная хроматография
- Аффинная хроматография

Ионообменная хроматография



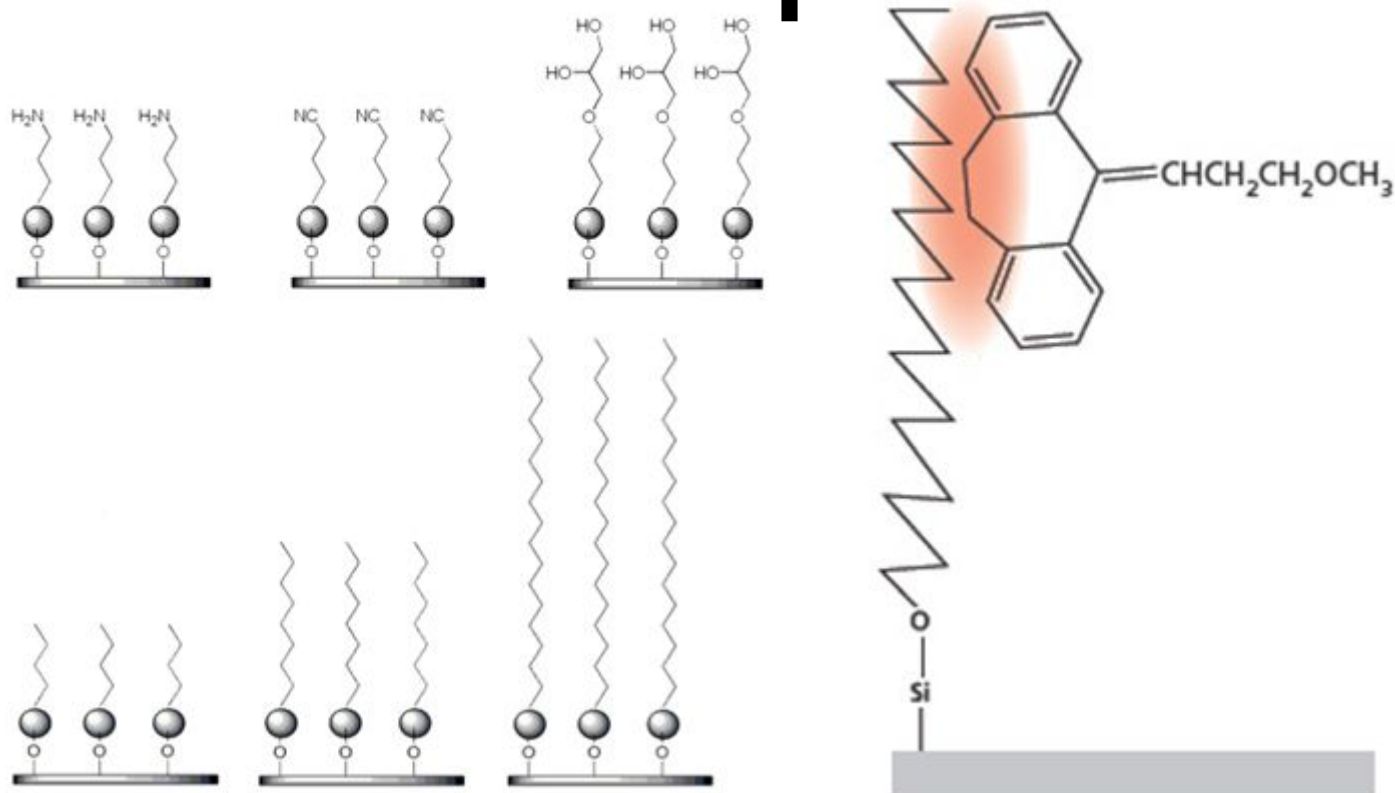
Разделение молекул на основе различия их суммарного заряда

Гельэкскцизионная хроматография



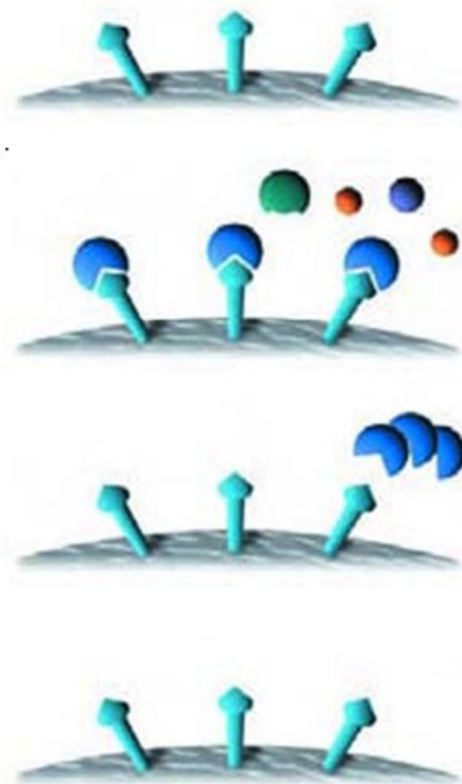
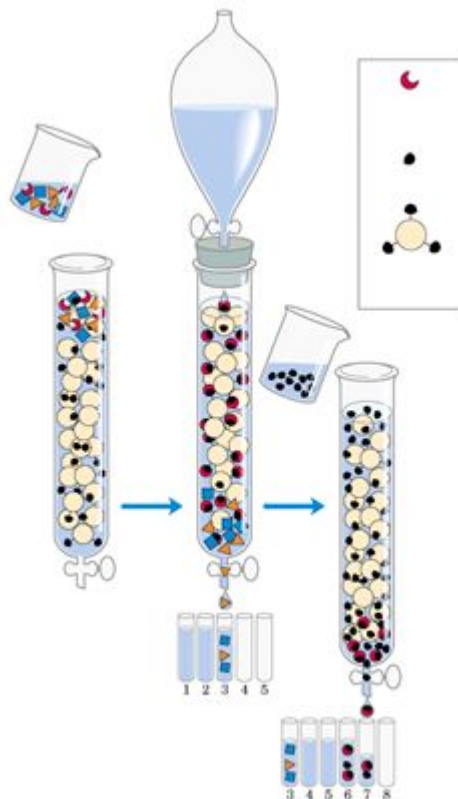
Разделение молекул на основе различия их
линейных размеров

Распределительная хроматография



Разделение молекул на основе различия их структуры и силы гидрофобных взаимодействий с неподвижной фазой

Аффинная хроматография



Разделение молекул на основе их уникальных свойств

Колонки



Основные характеристики колонок:
Стационарная фаза
Размер зерен сорбента
Геометрия колонки

Детекция

- Спектрофотометрическая
- Флюоресцентная
- Рефрактометрическая
- Электрохимическая
- Детекция светорассеяния
- Масс-спектрометрическая

Приложения

- Анализ смесей:
 - ✓ Белков
 - ✓ Нуклеиновых кислот
 - ✓ Сахаров
 - ✓ Липидов
 - ✓ Пигментов
 - ✓ Малых органических соединений

Технические данные

Градиентный насос:

Двухплунжерная схема

Поток до 10 мл/мин с дискретностью 0.01 мл/мин

Точность подачи $\pm 1\%$ при 1 мл/мин, 100% метанол.

Воспроизводимость потока $\pm 0.1\%$ RSD

Максимальное давление 6000 psi (41370 кПа, 401 бар)

Автоинжектор:

Диапазон объема инъекции: 0.1 – 99,999 мкл

Перенос пробы $< 0.1\%$

Точность отбора пробы – 0.5% RSD

Отбор проб из: 2 96-луночных плашек, 2 384-луночных плашек или 2 48-и позиционных поддонов для 2-мл пробирок или 2 12-и позиционных поддона для пробирок бóльшего объема.

Количество повторных инъекций из одной пробирки – до 99;

Охлаждение/нагрев отделения для образцов – 4 – 40 °C

Технические данные

Двухволновой детектор поглощения ультрафиолетового и видимого диапазона:

Диапазон длин волн 190 – 700 нм;

Точность установки длины волны ± 1 нм;

Воспроизводимость установки ± 0.1 нм;

Шум $\pm 0.5 \cdot 10^{-5}$ AU;

Дрейф $1 \cdot 10^{-4}$ AU/hour

Линейность < 5% при 2.5 AE 257nm, пропилапарабен

Диапазон измерений 0.0001 – 4.00 AU

Скорость измерения – 80 Гц

Лампа: дейтериевая, 2000 часов;

Длина оптического пути ячейки 10 мм, объем ячейки 10 мкл;

Двухлучевой дизайн оптики;

Измерение на двух длинах волн;

Сканирующий программируемый флуоресцентный
детектор:

Два монохроматора.

Диапазон длин волн: 210-900 нм (возбуждения и эмиссии
);

Ширина светового пучка – 20 нм;

Точность установки длины волны: ± 2 nm;

Воспроизводимость установки: ± 0.25 nm;

Ячейка 8 мкл, макс. давление 145 psi (10 бар);

Лампа – ксеноновая, 2000 часов.

Измерения на двух парах длин волн одновременно