

Хроматография – это не только хроматограф! О важности хроматографической колонки*

А. М. Кучкин¹, В. В. Орловский²

УДК 543.544.7

Авторы рассуждают о том, что выбор хроматографа как инструмента решения хроматографической задачи не так важен, как выбор колонки, на которой будет происходить разделение смеси. Рассмотрен вариант применения колонок со «смешанной фазой» как наиболее интересный для разработки методик разделения сложных смесей, например, включающих в себя вещества с разными физико-химическими свойствами.

Ключевые слова: хроматография, колонка, лаборатория, смешанная фаза

Разного рода дискуссии о том, каким должен быть «идеальный» хроматограф (самый дешевый, лишь бы не тёк, или непременно «Аджилент», как должен работать автосамплер: двигать иглу или подносить виалу к игле, с охлаждением образцов или без и т.д.), мы уверены, не раз возникали почти в каждой лаборатории, использующей жидкостные хроматографы. Раньше спорили, выбирая из западных брендов, теперь рамки стали шире, и в бой вступили партнеры из Поднебесной. Но так ли важно, какой именно хроматограф будет выбран и пополнит ваш парк приборов? Особенно, если учесть, что исходя из почти 20-летнего опыта работы одного из авторов в области продаж, главным критерием выбора прибора и аргументом в споре является фраза «Я привык(ла) к этому программному обеспечению и не хочу переучиваться на другое».

Вернемся к истокам, к самому определению хроматографии. Вспомним, что хроматография – это в первую очередь метод разделения смеси веществ на индивидуальные компоненты. Как бы плавно и хорошо при любом давлении ни гнал супернасос подвижную фазу, как бы точно и быстро ни дозировал пробу автосамплер и кран, каким бы крутым и современным ни был детектор, если нет уверенности в том, что вот этому конкретному хроматографическому пику соответствует одно вещество,

то все напрасно. Уверенность должна быть стопроцентная, потому что от этих данных может зависеть здоровье, благополучие, а возможно даже и жизнь людей. Погружаясь в выбор наилучшего хроматографа, многие попросту забывают о том, что разделение смеси на индивидуальные компоненты происходит не в насосе, не в автосамплере или кране, не в термостате и не в детекторе, а в маленькой стальной трубке, набитой некоторыми загадочными маленькими сферами. И только от этой трубы, а главным образом, от качества того, как и чем именно она набита, и будет в самой большой степени зависеть успех разделения и уверенность в результате. «Не имей сто рублей, а имей сто друзей» – ведущее правило грамотного человека по жизни. «Не имей сто хроматографов, а имей сто колонок на все случаи жизни» – ведущее правило грамотного хроматографиста. В целом это правильно, но, по мнению авторов, есть нюансы.

Разнообразие колонок и фаз поистине поражает, однако, подавляющее большинство колонок реализует только один механизм разделения. Если брать, к примеру, обращенную фазу, то совершенно очевидно, что этот механизм взаимодействия довольно хорошо изучен, технологии и методы отработаны и колонок для реализации этого похода просто море (рис. 1). Откройте ящик, где у вас лежат колонки, одних только разных фаз C18 огромное количество. Но значит ли это то, что перебор обращенно-фазовых колонок и различные игры с подвижной фазой и настройками прибора дадут нам идеальный результат практически для любой задачи? Очевидно,

* На правах рекламы.

¹ ООО «Диаэм», Москва, Россия.

² Helix Chromatography, США.

Биологический и клинический анализ



Времяпролетный масс-спектрометр с матричной лазерной ионизацией (MALDI-TOFMS) HEXIN CMI-1600

- Высокочастотный твердотельный лазер с регулируемой частотой импульсов способен испустить в среднем в тысячу раз больше импульсов, чем лазеры других приборов и не требует замены в течение всего срока службы прибора.
- База данных спектрометра содержит 397 родов, 2500 видов и 10000 штаммов, что позволяет применять прибор в различных областях науки, медицины и производства.
- Мощное программное обеспечение, позволяющее проводить получение и обработку данных, сравнение спектров, функциональный и кластерный анализ, анализ основных компонентов, подключение к системе LIMS и т.д.
- Диапазон масс – 0,03-500 кДа
- Пропускная способность – до 96 образцов за 12 минут



В сравнении с традиционными методиками определения, такими как ПЦР, фенотипирование, биохимические и люминесцентные методы, MALDI-TOFMS характеризуется гораздо более высокой скоростью идентификации, точностью определения, более низкими эксплуатационными и временными расходами и, в целом, более низкими требованиями к квалификации персонала.

нет. У каждого варианта хроматографии есть свои недостатки и ограничения. Но что если попробовать нивелировать эти ограничения путем использования в одной колонке сразу нескольких механизмов разделения?

Отличная идея! Только вот в прошлом она не получила развития. Мы склонны полагать, что это произошло из-за несовершенства идей и их воплощения на практике. Несколько механизмов на заре развития хроматографии смешанных фаз пытались реализовывать либо отсутствием эндкепирирования, либо простым смешением различных сорбентов, что и в том и в другом случае, по большому счету, только сыграло отрицательную роль в популяризации метода. На нынешнем этапе развития «смешанной хроматографии» при изготовлении колонок уже применяются технологии более глубокой и совершенной химической модификации поверхности неподвижной фазы именно концевыми группами, которые изначально предназначены для реализации нескольких механизмов взаимодействия, и функциональные группы могут располагаться в разных точках «хвоста» (рис. 2).

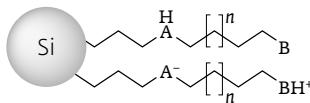
Таким образом, под разные варианты фаз смешанной хроматографии попадают практически все вещества, а контролировать параметры удерживания и разделения мы можем, играя с четырьмя переменными: содержание органики в подвижной фазе, концентрация и природа буфера и его pH. Сначала кажется сложно, но на самом деле, использование современных колонок со смешанной фазой позволяет значительно сэкономить время при разработке методики и существенно повысить вероятность ее разработки на сложных смесях веществ, обладающих разными физико-химическими свойствами. Это примерно как если бы вы сели в хорошую спортивную машину с ручной коробкой передач (смешанные фазы) вместо телеги, запряженной одной единственной лошадью (одномодальная хроматография). Научитесь переключать скорости – доедете



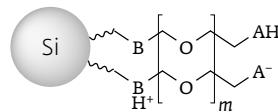
Рис. 1. Хроматографические колонки

до цели быстрее и с большими удобствами, чем на телеге.

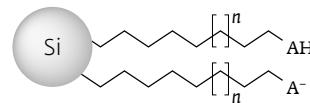
Смешанная хроматография видится нам на сегодняшний момент одним из самых мощных методов хроматографии. Удерживание полярных соединений без использования ион-парного реагента (потому что он уже привит к поверхности силикагеля или является частью концевой группы), возможность анализировать лекарственные препараты и их соли на одной колонке в рамках одного эксперимента, совместимость со всеми типами детекторов, в том числе и МСД, возможность замены градиентных



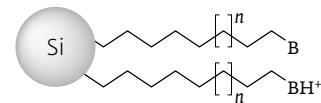
Трехмодальная обращенная фаза с катион- и анионобменными группами на поверхности силикагеля



Трехмодальная HILIC-фаза с катион- и анионобменными группами на поверхности силикагеля



Бимодальная обращенная фаза с катионобменными группами на поверхности силикагеля



Бимодальная обращенная фаза с анионобменными группами на поверхности силикагеля

Рис. 2. Различные положения функциональной группы, обеспечивающей гидрофильные, гидрофобные и ионные взаимодействия

ОФ-методов на изократические при использовании колонок со смешанной фазой, – такой функционал не сможет предоставить ни один из «традиционных» методов (видов) жидкостной хроматографии. Специалисты компании Helix Chromatography, в свою очередь, готовы оказать всестороннюю поддержку желающим использовать смешанные фазы в разработке методик и производстве колонок под любые, самые сложные задачи клиентов. Получить полностью работающее решение с готовой методикой сегодня как никогда просто. Если вернуться к аналогии про сто колонок, то получается, что и сто колонок хорошему хроматографисту уже не нужно. Выбор правильного инструмента может значительно упростить жизнь.

Отдельно отметим, что мысли, приведенные в этой статье – это лишь частное мнение авторов, не претендующее на истину в последней инстанции. Потому что, как сказал один умный человек, «каждый хроматографист, по сути своей, художник и волен рисовать свою Мадонну теми красками и инструментами, которые выберет сам». Компания «Диаэм» при этом, традиционно, готова предоставить начинающим творцам максимально широкий

ассортимент инструментов для реализации любых идей. Что касается хроматографических колонок, в портфолио «Диаэм» найдутся и максимально бюджетные колонки из Китая, и премиальные китайские колонки, производимые на американских, европейских и японских предприятиях (один из авторов даже придумал этому явлению название «OEM наоборот»), и оригинальные колонки ушедших с нашего рынка западных производителей, и уникальные колонки со смешанной фазой под любую задачу и готовой методикой. Компания «Диаэм» последовательно воплощает свой девиз: «У нас есть все!». Приглашаем посетить наш сайт, офис, скачать на телефон наше приложение и убедиться в этом лично.

Авторы / Authors

Кучкин Александр Михайлович, специалист-консультант, ООО «Диаэм». Kuchkin Alexander, specialist consultant, Dia-m LLC. akm@dia-m.ru.

Орловский Владислав Викторович, генеральный директор, Helix Chromatography, США. Vladislav Orlovsky, General Director, Helix Chromatography, USA.

Статья поступила в редакцию 07.03.2024
Принята к публикации 23.03.2024



ПЕТЕРБУРГСКАЯ
ТЕХНИЧЕСКАЯ
ЯРМАРКА

ДЕЛОВАЯ ПРОГРАММА:

- САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ПРОМЫШЛЕННЫЙ КОНГРЕСС
- КОНФЕРЕНЦИЯ «КРЕПЕЖ. КАЧЕСТВО И ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»
- БИРЖА ИМПОРТОЗАМЕЩЕНИЯ

24-26

АПРЕЛЯ
2024

КВЦ «ЭКСПОФОРУМ»
Петербургское шоссе, 64



РЕКЛАМА

+7 921 558 9561 | ptf@ptfair.ru | ptfair.ru