

Tartalomjegyzék

Előszó	9
A szerkesztők előszava	10
Bevezetés	12
1. A folyadékkromatográfia alapjai	14
1.1. A kromatográfiában használt alapösszefüggések és értelmezésük ..	14
1.2. Folyadékkromatográfiásan vizsgálható vegyületek	55
1.3. Folyadékkromatográfiásan kis és nagy molekulatömegű anyagok	57
1.4. Folyadékkromatográfiás módszerek osztályba sorolása a készülékek kialakítása szempontjából	60
1.5. Folyadékkromatográfiás módszerek osztályba sorolása a mozgó- és állófázis szempontjából	64
2. A fordított fázisú folyadékkromatográfia állófázisa	66
2.1. Szilikagél alapú állófázisok	66
2.1.1. Szilikagél előállítás	68
2.1.2. Kromatográfiás minőségű szilikagélek előállítása	70
2.1.3. A pórusszerkezet és a kromatográfiás viselkedés közti összefüggés	72
2.1.4. Átlagos pórusátmérő	73
2.1.5. Fajlagos felület	75
2.1.6. Fajlagos pórustérfogat	76
2.1.7. Általános következtetések a pórusparaméterek alapján	76
2.2. A szilikagél felületi módosítása	78
2.2.1. Monomer módosítású szilikagél alapú fázisok (hagyományos) ...	79
2.2.2. Alkil módosítású fordított fázisú állófázisok	84
2.2.3. Utószilanizálási reakciók	86
2.2.4. pH tűrő állófázisok	88
2.2.5. Poláris csoportot is tartalmazó alkil módosítású állófázisok	90
2.2.6. Nem alkil módosítású fordított fázisú állófázisok	90
2.2.7. Átmeneti módosítású fázisok	91
2.2.8. Polimer módosítású szilikagél alapú állófázisok	92
2.2.9. A monomer és polimer fázisok megkülönböztetése	94
2.3. Modern szilikagél alapú állófázisok	96
2.3.1. Teljesen porózus, kis szemcseátmérőjű töltetek	96
2.3.2. Héjszerkezetű (mag-héj) töltetek	101
2.3.3. Monolit kolonnák	107

2.4. Kinetikus görbék módszerének alapjai	117
2.4.1. Eltérő morfológiájú töltetek összehasonlítása	119
2.4.2. Szemcseméret és a nyomás hatása azonos morfológiájú tölteteknél.....	125
2.4.3. A kinetikus görbék transzformációja.....	127
2.5. A kolonna töltése.....	129
2.6. Szerves polimer alapú állófázisok.....	131
2.7. Szén alapú állófázisok	135
2.8. Kolonnatesztek.....	139
2.8.1. A nulladik teszt	139
2.8.2. Kémiai kolonnatesztek a fordított fázisú folyadékkromatográfiában	141
2.8.3. Kolonna inkompatibilitás kérdése	144
3. A fordított fázisú folyadékkromatográfia mozgófázisa	147
3.1. Mozgófázisokkal szemben támasztott követelmények a fordított fázisú folyadékkromatográfiában	147
3.1.1. Eluenserősség	150
3.1.2. Hatékonyság	151
3.1.3. Szelektivitás.....	152
3.1.4. Toxikusság	154
3.1.5. Pufferek használata.....	154
3.2. pH-kontroll a fordított fázisú folyadékkromatográfiában	155
3.2.1. Kromatográfiás szempontból semleges vegyületek.....	155
3.2.2. Savas jellegű funkciós csoportot tartalmazó vegyületek.....	157
3.2.3. Bázikus funkciós csoportot tartalmazó vegyületek.....	158
3.2.4. Pufferekkel szemben támasztott követelmények	160
3.3. A pH mérés és hatása a folyadékkromatográfiás elválasztásra	165
3.3.1. A pH definíciója, elsődleges és másodlagos pufferek.....	165
3.3.2. A pH mérés lehetőségei és gyakorlata a folyadékkromatográfiában	171
3.3.3. A pK_a értékek a mozgófázisban és alkalmazásuk a folyadékkromatográfiás gyakorlatban.....	178
3.3.4. A pH és pK_a érték változás savas pufferek alkalmazásakor savas csoportot tartalmazó vegyületek meghatározásakor	186
3.3.5. A pH és pK_a érték változás bázikus pufferek alkalmazásakor savas csoportot tartalmazó vegyületek meghatározásához.....	195
3.3.6. Pufferválasztás bázikus csoportot tartalmazó vegyületek elválasztásához.....	197

3.3.7. Bázikus csoportot tartalmazó szerves vegyületek elválasztása savas pufferek alkalmazásával	201
3.3.8. A pK_a értékeinek változása a hőmérséklettel	205
3.4. Fordított fázisú ionpár kromatográfia	206
3.5. Holtidő meghatározása a fordított fázisú folyadékkromatográfiában.....	218
4. Gradiens elúció.....	223
4.1. Csúcshéyesedés - zóna kompresszió.....	225
4.2. Csúskapacitás	227
4.3. Gradiens elúciós technikában használt jellemzők	228
4.4. Egyensúlybeállítás	229
4.5. A mozgófázis tisztasága	231
4.6. Retenciós sorrend, szelektivitásváltozás	231
4.7. Izokratikus szakasz hatása	232
4.8. Oldószer probléma.....	232
4.9. Detektálás	233
4.10. A gradiens elúció alkalmazása	233
4.11. Oldószerkésés és következményei a gradiens elúcióban	239
5. Számítógépes szimulációval támogatott módszerfejlesztés	243
5.1. LogP, logD és pK_a meghatározása.....	243
5.2. A Pallas szoftver működési elve	246
5.2.1. A logP előrejelzése.....	246
5.2.2. A pK_a előrejelzése	249
5.2.3. A logD - pH függvény	249
5.3. A DryLab szoftver	250
5.3.1. A szoftver működése	251
5.3.2. A felbontási kocka felépítése.....	253
5.3.3. t_C -T- t_C modell.....	256
5.3.4. t_C -T-pH modell.....	256
5.3.5. Robusztusság vizsgálat.....	257
5.3.6. Esettanulmány.....	258
6. Normál fázisú folyadékkromatográfia	266
6. 1. Állófázisok a normál fázisú folyadékkromatográfiában.....	266
6.1.1. Szilikagél állófázisok	267
6.1.2. Alumínium-oxid állófázisok	270
6.1.3. Kémiaailag módosított poláris adszorbensek.....	271

6.2. Mozgófázis a normál fázisú folyadékkromatográfiában	272
6.2.1. Az oldószer polaritása a kolonnán	272
6.2.2. Nyomásesés a kolonnán és az oldószer viszkozitása	273
6.2.3. Az oldószer UV –fény áteresztése és az oldószer tisztasága	274
6.2.4. Az oldószer toxicitása	274
6.2.5. Az oldószer forráspontja	275
6.2.6. Az oldószer oldott oxigén tartalma	275
6.2.7. Az oldószer víztartalma	276
6.2.8. Elegyíthetőség	277
6.2.9. Ártényezők	278
6.2.10. Az oldószer típusai	278
6.2.11. Alapoldószer	279
6.2.12. Oldhatóság növelő oldószer	279
6.2.13. Módosító szerek	280
6.2.14. Az eluenserősségi skála	281
6.3. Gradiens elúció szükségszerűsége a normál fázisú folyadékkromatográfiában	282
6.3.1. Szelektivitás kérdése a normál fázisú folyadékkromatográfiában	283
6.3.2. Alapfeltétel a gradiensejúcióra a normál fázisú folyadékkromatográfiában	284
6.3.3. A visszatartás állandóságának biztosítása a normál fázisú folyadékkromatográfiában	284
6.3.4. Gradiens visszaállása a normál fázisú folyadékkromatográfiában	285
6.3.5. Oldószer szennyezők hatása a normál fázisú gradiensejúcióban	285
7. Hidrofil kölcsönhatási kromatográfia.....	286
7.1. A hidrofil kölcsönhatású kromatográfiában alkalmazott állófázisok és jellemzésük.....	287
7.1.1. A Szilikagél, mint HILIC állófázis	288
7.1.2. Polárisan módosított szilikagélek, mint HILIC állófázisok	295
7.1.3. Alkil módosítású szilikagélek, mint HILIC állófázisok	297
7.1.4. Ioncserélők, mint HILIC állófázisok	301
7.1.5. Kettős-(zwitter)-ion tartalmú HILIC állófázisok	302
7.1.6. Ciklodextrin állófázis a HILIC-ban	304

7.2. Mozgófázisok a HILIC gyakorlatában	304
7.2.1. A pH kontroll és a vegyületek szerkezete közti összefüggés	307
7.2.2. Pufferválasztás a HILIC-ban.....	308
7.2.3. Puffer kation és anion hatása az elválasztásra a HILIC –ban ...	309
7.3. Gradiens elúció a HILIC-ban	312
8. Fehérjék vizsgálata folyadékkromatográfias módszerekkel.....	313
8.1. Fordított fázisú folyadékkromatográfia fehérjék elválasztásához	316
8.2. Hidrofil kölcsönhatáson alapuló kromatográfia fehérjék elválasztásához.....	319
8.3. Méretkizárásos kromatográfia, fehérje aggregátumok elválasztása	322
8.4. Hidrofób kölcsönhatáson alapuló kromatográfia a fehérjeanalitikában	328
8.5. Ioncserés kromatográfia, fehérjék töltés variánsainak elválasztása	331
9. Optikai izomerek elválasztása	335
9.1. Sztereo-kémiai alapfogalmak.....	335
9.2. Sztereoizomerek királis tisztaságának vizsgálata	337
9.2.1. Optikai forgatóképesség mérése	337
9.2.2. Mágneses magrezonancia spektroszkópia alkalmazása	338
9.2.3. Cirkuláris dikroizmus spektroszkópiái módszerek	338
9.2.4. Elválasztástechnikai módszerek alkalmazása	339
9.2.5. Közvetett meghatározás.....	342
9.2.6. Közvetlen meghatározás.....	343
9.3. Királis állófázisok	344
9.3.1. Ligandumcserés (Davankov-féle) kromatográfián alapuló optikailag aktív állófázisok	346
9.3.2. Donor-akceptor (Pirkle-féle) optikailag aktív állófázisok	347
9.3.3. Poliszacharid alapú optikailag aktív állófázisok	351
9.3.4. Zárványkomplex-képzők	356
9.3.4.1. Ciklodextrin-alapú királis állófázisok	356
9.3.4.2. Koronaéter-alapú királis állófázisok	358
9.3.4.3. Ciklofruktán-alapú optikailag aktív állófázisok	360
9.3.5. Makrociklusos glikopeptidek	361
9.3.6. Ioncserélő királis állófázisok.....	364
9.3.7. Fehérjealapú optikailag aktív állófázisok.....	366
9.3.8. Molekulalenyomat alapú optikailag aktív állófázisok.....	368

10. A folyadékkromatográfia műszerezettségé	369
10.1. Mozgófázis szállító rendszerek	370
10.2. Mintaadagolás	379
10.3. Az állófázis termosztálása	382
10.4. Detektálási lehetőségek a folyadékkromatográfiában	387
10.4.1. A folyadékkromatográfiás detektorok alapvető jellemzői	387
10.4.2. Az UV-Vis detektorok felépítése és jellemzése	393
10.4.3. A fluoreszcenciás detektálási mód	409
10.4.4. Az elektrokémiai detektálási mód	412
10.4.5. Törésmutató detektor	418
10.4.6. Elpárologtatással egybekötött fényszórás elvén működő detektor	422
10.4.7. Korona kisülési detektor	423
10.4.8. Viskozitás mérésen alapuló detektor	424
10.5. Elvárások egy gyors kromatográfiás mérésekre alkalmas készülékkel szemben	425
10.5.1. Készülékjellemzők hagyományos és gyors folyadékkromatográfiához	431
10.5.2. A folyadékkromatográf szerkezeti anyagai	432
11. Folyadékkromatográfia-tömegspektrometria	434
11.1. Ionizációs technikák	436
11.1.1. Elektroporlasztásos ionizáció	438
11.1.2. Atmoszférikus nyomású kémiai ionizáció	441
11.1.3. Atmoszférikus nyomású fotoionizáció	442
11.2. Tömeganalizátorok	443
11.2.1. Kvadrupól tömeganalizátor	444
11.2.2. Lineáris ioncsapda tömeganalizátor	445
11.2.3. Repülési idő tömeganalizátor	446
11.2.4. Orbitrap tömeganalizátor	447
11.2.5. Ionmobilitás spektrometria	449
11.3. Tandem tömegspektrometria	450
11.4. Hibrid készülékek	453
11.4.1. Kvadrupól – lineáris ioncsapda tömeganalizátor	453
11.4.2. Kvadrupól – ionmobilitás – repülési idő tömeganalizátor	453
11.4.3. Orbitrap hibrid	455
11.5. UHPLC-MS	455
11.6. Összefoglalás	456

12. Szuperkritikus fluid kromatográfia	458
13. Ionkromatográfia.....	463
13.1. Az ionkromatográfiában használt állófázisok	466
13.2. Az ionkromatográfiában használt mozgófázisok	470
13.2.1. Mozgófázisok az egykolonnás ionkromatográfiában	471
13.2.2. Mozgófázisok a kémiai ionelnyomásos ionkromatográfiában ..	472
13.3. Detektálási lehetőségek az ionkromatográfiában	474
14. A kétdimenziós folyadékkromatográfia alapjai	480
14.1. Kétdimenziós elválasztások koncepciója.....	480
14.2. A kétdimenziós folyadékkromatográfia megvalósítási módjai	483
14.2.1. On-line 2D-LC	483
14.2.2. Off-line 2D-LC	486
14.2.3. Szakaszos on-line elválasztások	488
14.3. 2D-LC alapfogalmak	488
14.3.1. Kromatogram.....	488
14.3.2. Csúcsalak	489
14.3.3. Szelektivitás	490
14.3.4. Felbontás.....	491
14.3.5. Ortogonalitás	492
14.4. A 2D-LC alkalmazásai	495
14.4.1. Peptidek analízise	495
14.4.2. Polimerkémiai alkalmazások.....	496
14.4.3. Természetes anyagok vizsgálata.....	498
15. Folyadékkromatográfiás módszerek validálása	500
15.1. A módszer validálás során vizsgált paraméterek	501
15.1.1. Specifikusság	501
15.1.1.1. Szennyezésvizsgálat és tisztaságvizsgálat.....	501
15.1.1.2. Tartalom meghatározás	502
15.1.1.3. A vizsgálat dokumentálása	502
15.1.2. Kimutatási határ és a mennyiségi meghatározás alsó határa .	502
15.1.2.1. Szennyezésvizsgálat és tisztaságvizsgálat.....	503
15.1.2.2. Tartalom meghatározás	503
15.1.2.3. A vizsgálat dokumentálása	504
15.1.3. Linearitás és mérési tartomány	504
15.1.3.1. Szennyezésvizsgálat és tisztaságvizsgálat.....	504
15.1.3.2. Tartalom meghatározás	505
15.1.3.3. A vizsgálat dokumentálása	505

15.1.4. Precizitás	505
15.1.5. Rendszerprecizitás	506
15.1.5.1. Szennyezésvizsgálat és tisztaságvizsgálat	506
15.1.5.2. Tartalom meghatározás	506
15.1.5.3. A vizsgálat dokumentálása	506
15.1.6. Módszerprecizitás	507
15.1.6.1. Szennyezésvizsgálat és tisztaságvizsgálat	507
15.1.6.2. Tartalom meghatározás	507
15.1.7. Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság	508
15.1.7.1. Szennyezésvizsgálat, tisztaságvizsgálat és tartalom meghatározás	508
15.1.7.2. A vizsgálat dokumentálása	509
15.1.8. Laboratóriumok közötti reprodukálhatóság	509
15.1.9. Torzítatlanság	509
15.1.9.1. Szennyezésvizsgálat és tisztaságvizsgálat	510
15.1.9.2. Tartalom meghatározás	510
15.1.9.3. A vizsgálat dokumentálása	510
15.1.10. Robusztusság	510
15.1.10.1. Szennyezésvizsgálat és tisztaságvizsgálat	510
15.1.10.2. Tartalom meghatározás	511
15.1.10.3. A vizsgálat dokumentálása	512
15.1.11. Oldatstabilitások	512
15.1.11.1. Szennyezésvizsgálat, tisztaságvizsgálatés és tartalom meghatározás	512
15.1.11.2. A vizsgálat dokumentálása	513
15.1.12. Rendszeralkalmassági vizsgálat	513
15.2. Definíciók, számítási képletek	515
15.2.1. Elválasztási paraméterek	515
15.2.2. Statisztikai képletek	517
Felhasznált és ajánlott irodalom	519