ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო

უნივერსიტეტი

ფლურბიპროფენის ადსორბციის ქრომატოგრაფიული კვლევა პოლისაქარიდული ბუნების ზოგიერთ ქირალურ ადსორბენტზე

ზუსტი და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი ქიმიური ექსპერტიზა

გიზო დოლიძე

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიის მაგისტრის (ქიმიური ექსპერტიზის სპეციალობით) აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელები: ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი, საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი, ფიზიკური და ანალიზური ქიმიის კათედრის გამგე, პროფ. - ბეჟან ჭანკვეტაძე.

ქიმიის აკადემიური დოქტორი, ასისტენტ პროფესორი გიორგი ჯიბუტი

თბილისი

2021 წელი

სარჩევი

ანოტაცია **3**

Summary **4**

1. შესავალი **5**

2. ლიტერატურული მიმოხილვა **6**

2.1 სტერეოიზომერიზმი 6

2.1.1 სტერეოიზომერები და ენანტიომერები 6

2.1.2 სტერეოიზომერიის აღმოჩენა და ისტორია 7

2.1.3 ქირალური ნივთიერებების დაყოფის მნიშვნელობა 9

2.2. ქრომატოგრაფია 10

2.2.1 ქრომატოგრაფიის საფუძვლები 10

2.2.2 ენანტიომერების დაყოფის ქრომატოგრაფიული მეთოდები 11

2.2.3 HPLC-მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია 12

2.2.4 ძირითადი ქრომატოგრაფიული პარამეტრები 13

2.3 თერმოდინამიკა 17

2.3.1 თერმოდინამიკის ზოგადი განხილვა 17

2.3.2 ენანტიომერული ნარევების დაყოფის თერმოდინამიკური პარამეტრები 20

3. ექსპერიმენტი **21**

3.1 გამოყენებული აპარატურა 21

3.2 გამოყენებული სტაციონარული ფაზები 22

3.3 მოძრავი ფაზა 24

3.4 საანალიზო ნივთიერება 25

4. კვლევის შედეგები და განსჯა **26**

4.1 ანალიზის პირობები: 26

4.2 ნივთიერებების შერჩევა და ექსპერიმენტის მსვლელობა: 26

5. დასკვნები **38**

6. გამოყენებული ლიტერატურა: **38**

ანოტაცია

ქირალური ნივთიერებები შედის საკვებ დანამატებში, სასოფლო-სამეურნეო შხამ-ქიმიკატებში, სამკურნალწამლო საშუალებებში და ა.შ. ქირალურია მოლეკულა თუ მის შემადგენლობაში შედის ასიმეტრიული ატომი, იგივე ქირალური ცენტრი. ქირალური მოლეკულები საკუთარ სარკისებურ გამოსახულებებთან ერთად წარმოადგენენ ენანტიომერებს.

როდესაც ენანტიომერები აქირალურ გარემოში იმყოფებიან, ფიზიკური და ქიმიური თვისებები ერთნაირი აქვთ, განსხვავდებიან მხოლოდ ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის კუთხის ნიშნით, ამიტომაც გართულებულია მათი ანალიზი. მაგრამ უნდა აღინიშნოს რომ ქირალურ გარემოში, როგორიც ცოცხალი ორგანიზმია, ისინი მკვეთრად განსხვავდებიან ფიზიოლოგიური მოქმედებით ხასიათდებიან. ამიტომ ძალიან მნიშვნელოვანია ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების ანალიზი.

ენანტიომერების დასაყოფად დღეისათვის ყველაზე ეფექტურია ქრომატოგრაფიული მეთოდები. მათგან აღსანიშნავია მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია, რომელიც არის ენანტიომერთა დაყოფისა და ანალიზის ერთ–ერთი ყველაზე სწრაფ და მაღალმგრძნობიარე მეთოდი. კვლევისას შევისწავლეთ ტემპერატურის გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე და დავითვალეთ თერმოდინამიკური პარამეტრები, რომლებიც თავის მხვრივ გვეხმარება კონკრეტული ნივთიერებისთვის წინასწარ განვსაზღვროთ ანალიზის საჭირო პირობები და მოსალოდნელი შედეგები.

გამოვთვალეთ ადსორბციის ენთალპიისა და ენტროპიის მნიშვნელობები და მათი სხვაობები ორივე ენანტიომერისთვის და შევისწავლეთ ტემპერატურის გავლენა შეკავებისა და დაყოფის პროცესებზე.

Summary

Chiral substances are ingredients of food additives, agrochemicals, chemicals, medicines, etc. A molecule is considered chiral if it contains an asymmetric atom (asymmetric centre). Chiral molecules, along with their mirror images, are enantiomers.

The enantiomers have same physical and chemical properties in achiral environment and only difference in them is the sign of rotation angle of polarized light and because of this it is very difficult to separate them. But it should be noted that in a chiral environment such as a living organism, they reveal different physiological activity so it is very important to analyze the enantiomers of chiral substances.

Chromatographic methods are currently the most effective way to separate enantiomers. One of the best among them is high-performance liquid chromatography (HPLC), which is one of the fastest and most sensitive methods for the separation and analysis of enantiomers. In this project we studied the effect of temperature on the separation of enantiomers and calculated the thermodynamic parameters, which in turn help us to determine in advance the specific conditions of the analysis and the possible results.

Study was conducted on different temperature and on various stationary phases. We calculated the difference in adsorption enthalpy and adsorption entropy and observed what was the influence of temperature on retention and separation.

1. შესავალი

ჩვენს ირგვლივ არსებული ნივთიერებიბის ბაწილს წარმოადგენენ ქირალური ნივთიერებები და მათი ენანტიომერები. მათ რიგს მიეკუთვნება სხვადასხვა შხამქიმიკატი, საკვები დანამატები და ყოფა-ცხოვრებაში გამოყენებული მრავალი სხვა ნივთიერება. უნდა აღინიშნოს რომ სამკურნალწამლო საშუალებათა დიდი ნაწილი ქირალურ ნივთიერებებს წარმოადგენს. ქირალური ნივთიერება სხვადასხვა ენანტიომერის სახით არსებობს. საყურადსაღებოა ის, რომ თუ გვსურს ენანტიომერების ერთმაეთისგან გარჩევა, საჭიროა ქირალური გარემო, რადგან აქირალურ გარემოში მათ იდენტური თვისებები აქვთ და ენანტიომერების გარჩევა შუძლებელია. ერთმანეთისგან მათ განასხვავებენ მხოლოდ ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის კუთხის ნიშნით. ექსპერიმენტებმა აჩვენა რომ ენანტიომერებს ხშირ შემთხვევაში მკვეთრად განსხვავებული ფიზიოლოგიური მოქმედება ახასიათებთ. ამ და სხვა მიზეზების გამო ენანტიომერების დაყოფის ტექნიკა და დაყოფის მექანიზმის კვლევა ერთ–ერთი აქტუალური საქითხია.

ცნობილია რომ ადამიანისა და სხვა ცოცხალი არსების ორგანიზმი ქირალური ბუნების მატარებელია. ამრიგად სამკურნალწამლო ნივთიერებას, რომელსაც აქვს სხვადასხვა ენანტიომერი, შეიძლება ორგანიზმზე სხვადასხვა გვარად იმოქმედოს. ეს მოქმედება შეიძლება იყოს ინიცირებული ერთი ენანტიომერით და იყოს მიმართული რომელიმე დაავადების სამკურნალოდ ესე იგი ქონდეს დადებითი მოქმედება ან პირიქით აღძრული იყოს მეორე ენანტიომერის მიერ და არათუ იყოს სამკურნალო, არამედ შეიძლება აღმოჩნდეს ტოქსიკური და უარყოფითად იმოქმედოს ორგანიზმზე ან უბრალოდ საერთოდაც არ იმოქმედოს ორგანიზმზე.

ყველა ანალიზისთვის, საანალიზო პირობების სწორად შეირჩევა და შედეგების წინასწარი პროგნოზირების შესაძლებლობა ძალიან მნიშვნელოვანი ნაწილია. ასევეა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიულ ანალიზშიც. ენანტიომერული ნარევების დაყოფისას არის შემთხვევები, როდესაც ანალიზის ხანგრძლივობა, რომელიც დამოკიდებულია ნივთიერების შეკავების დროზე, მაღალ მნიშვნელობას აღწევს და ანალიზის დროის შემცირების საშუალებას, ნაკადის შიჩქარის გაზრდით, არ გვაძლევს სელექტივობის მნიშვნელობა, გვხვდება ასევე არასრული დაყოფის შემთხვევებიც. როდესაც შეგროვდება საკმარისი რაოდენობის შედეგები, მათი დამუშავებით შესაძლებელია თერმოდინამიკური პარამეტრების დათვლა. თერმოდინამიკური პარამეტრების გამოყენებით შესაძლებელია მოცემულ სვეტზე კონკრეტული ნივთიერებისთვის წინასწარ განისაზღვროს ანალიზის წარმართვის პირობები: ნაკადის ოპტიმალური სიჩქარე, მოძრავ ფაზაში

კომპონენტების თანაფარდობა, ტემპერატურა და ა.შ. ამ პირობების ვარირებით შესაძლებელია სასურველი ელუირების რიგის მიღება. ეს ყველაფერი კი დაგვიზოგავს დროს, ენერგიას და რეაგენტების ეკონომიას, რაც ექსპერიმენტულ პროცესსში დაგვეხარჯებოდა.

დაყოფის ენთალპიისა და ენტროპიის სხვაობის ცოდნა გვეხმარება ვიპოვოთ ტემპერატურა, რომელზეც დაყოფის ფაქტორი მიაღწევს საჭირო მნიშვნელობას, რომელზეც ტემპერატურის ვარირებით, სტაციონარული და მოძრავი ფაზის შეცვლის გარეშე, შესაძლებელია სასურველი შედეგის მიღება და გარკვეული წარმოდგენა გვექმნება შეკავებისა და დაყოფის მექანიზმების შესახებაც[1].

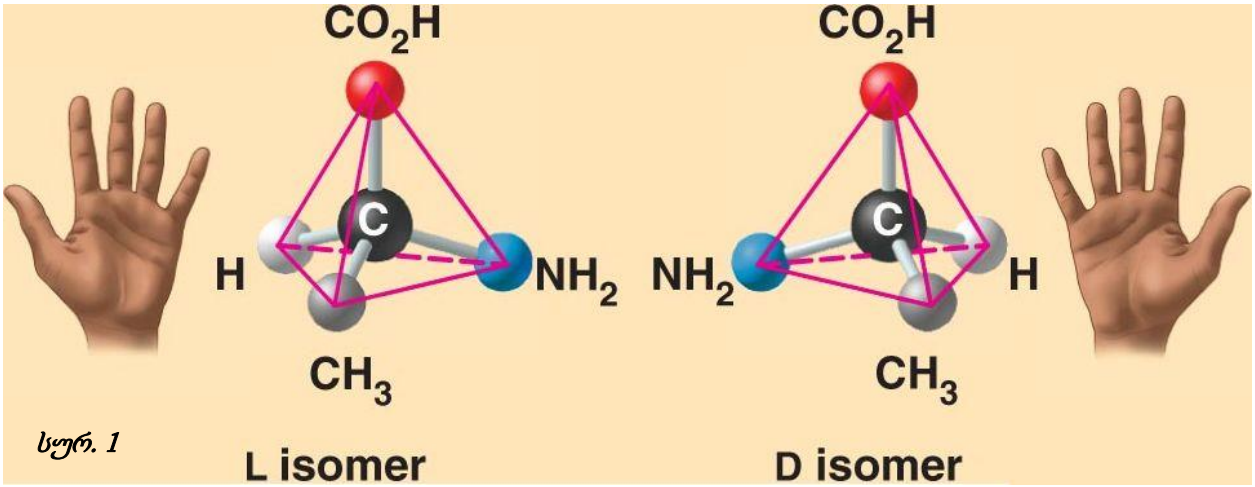
2. ლიტერატურული მიმოხილვა

2.1 სტერეოიზომერიზმი

2.1.1 სტერეოიზომერები და ენანტიომერები

ენანტიომერები არიან სტერეოიზომერები. მათ აქვთ ერთნაირი შემადგენლობა და ქიმიური ბმები მოლეკულაში, მაგრამ განსხვავდებული ორიენტაცია სივრცეში. ენანტიომერებს ახასიათებთ ოპტიკური აქტივობა. ისინი განსხვავებული მიმართულებით, მაგრამ ერთნაირი კუთხით აბრუნებენ სინათლის პოლარიზაციის სიბრტყეს. ენანტიომერები მხოლოდ ქირალურ ნივთიერებებს ახასიათბთ და ერთმანეთის სარკისებურ გამოსახულებებს წარმოადგენენ. ქირალურია მოლეკულა, თუ მას აქვს ქირალობის ცენტრი ან ქირალობის რომელიმე სხვა ელემენტი. უფრო ხშირ შემთხვევებში ესაა ნახშირბადი 4 განსხვავებული ჩამნაცვლებლით. ნახშირბადის გარდა, ასიმეტრიული ცენტი შეიძლება იყოს აზოტის, გოგირდის, ფოსფორის ან სხვა ატომი[2]. სტერეოიზომერების რიცხვი, ქირალური ცენტრების გაზრდასთან ერთად, იზრდება 2^n-ის მიხედვით, სადაც n ქირალური ცენტრების რაოდენობაა.

ესეიგი თუ მოლეკულაში ერთი ქირალური ცენტრია, ასეთი ნივთიერება ორი ენანტიომერის სახით არსებობს, 2 ქირალური ცენტრის არსებობის დროს გვაქვს 4 სტერეოიზომერი და ა.შ.



სურ. 1

ნივთიერება ასევე შეიძლება იყოს ოპტიკურად აქტიური თუ მისი მოლეკულა ასიმეტრიული ელემენტის ატომის მაგივრად შეიცავს სხვა ტიპის დისსიმეტრიას (მაგ. აქსიალური დისსიმეტრია ალენებში), რის გამოც ნივთიერება იარსებებს ენანტიომერების სახით.

2.1.2 სტერეოიზომერიის აღმოჩენა და ისტორია

ფრანგმა მეცნიერმა მალუსმა (1808 წელს) ისლანდიური შპატის კრისტალში ჩვეულებრივი სინათლის სხივის გატარებისას აღმოაჩინა, რომ მოხდა სხივის ორმაგი გარდატეხა და წარმოიქმნეა ორი ბრტყლად პოლარიზებული სხივი ურთიერთმართობულ სიბრტყეში. ამ დროს პირველად აღმოაჩინეს ოპტიკური აქტიურობის მოვლენა, ხოლო კრისტალს კი რომელიც ამ ექპერიმენტში იქნა გამოყენებული ნიკოლის პრიზმა უწოდეს.

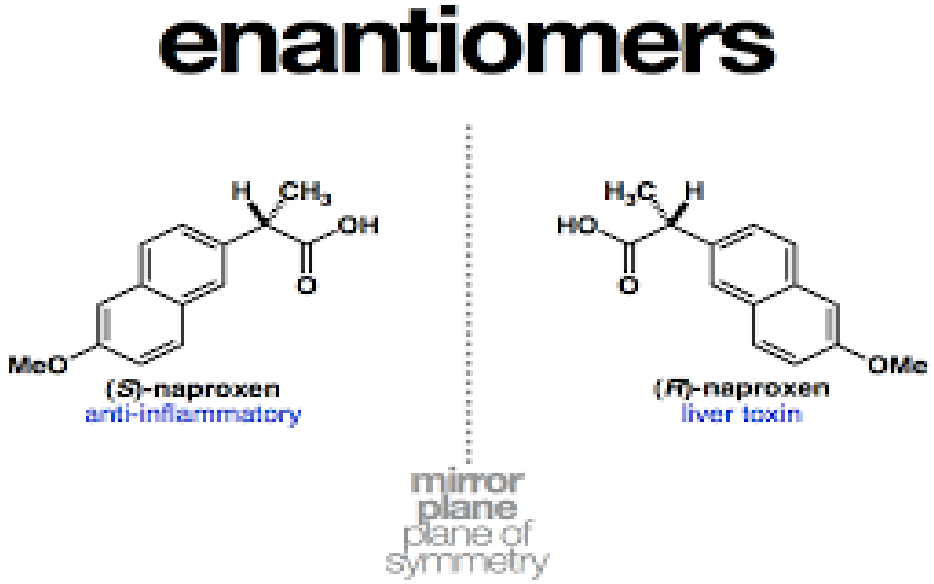
ამის შემდეგ მრავალი მეცნიერი ატარებდა ექსპერიმენტებს ნიკოლის პრიზმაზე. ერთ-ერთი მათგანი იყო ფრანგი ფიზიკოსი ბიო, რომელმაც 1813 წელს აღმოაჩინა, რომ თუ ნივთიერებათა რიგს ნიკოლის ორ პრიზმას შორის მოათავსბ სინათლის გავრცელების კუთხეს იცვლება. კუთხის ცვლილება ხდებოდა როგორც კრისტალურ, ასევე თხევად და გახსნილ მდგომარეობაში, შესაბამისად ოპტიკური აქტიურობა მოლეკულის თვისება უნდა ყოფილიყო და არა მხოლოდ კრისტალის ასიმეტრიის შედეგი [2, 3] .

ლუი პასტერმა მისი ერთ-ერთი ექსპერიმენტის მსვლელობისას, XIX საუკუნის 50-იან წლებში, მიიღო ყურძნის მჟავას ნატრიუმ-ამონიუმის მარილის პრიზმული კრისტალები, რომლებიც ასიმეტრიული იყო. კრისტალებს დამახასიათებელი წახნაგები სხვადასხვა მხარეს ქონდა, ნაწილს მარჯვნივ, ხოლო დანარჩენს-მარცხნივ. პასტერმა ისინი დააცილა ერთმანეთს პინცეტისა და გამადიდებელი შუშის გამოყენებით და აღმოჩინა რომ მათ ხსნარებს ახასიათებდათ ურთიერთსაწინააღმდეგო ოპტიკური ბრუნვა. მან ამ ხსნარებიდას გამოყო მჟავები, რომლებიც ასევე ოპტიკურად აქტიურნი იყვნენ. იგი მივიდა იმ აზრამდე, რომ ყურძნის მჟავა იყო მარჯვნივ და მარცხნივ მბრუნავი მჟავების თანაბარი რაოდენობის ნარევი. ლუი პასტერმა ასეთ არააქტიურ ნარევს რაცემატი უწოდა (ლათ. *racemus* - ყურძენი)[2].

ჰოლანდიელმა მეცნიერმა ვანტ-ჰოფმა და ფრანგმა მეცნიერმა ლე-ბელმა ოპტიკური იზომერიის თეორია შექმნეს ერთმანეთისგან დამოუკიდებლად. ამ თეორიის მიხედვით, ნაერთის ოპტიკური აქტიურობა განპირობებულია მისი დისსიმეტრიით. თუ ნახშირბადს წარმოვიდგენთ წესიერი ტეტრაედრის ცენტრში, მაშინ ოთხი ქიმიური ბმა თანაბარი კუთხით არის დაშორებული ბირთვიდან და განლაგებულია ტეტრაედრის წვეროებში. თუ ყველა ატომი ან ატომთა ჯგუფი სხვადასხვაა, მაშინ შესაძლებელია ორი განსხვავებული სტრუქტურის არსებობა, რომელიც სივრცეში ბრუნვისას არ ემთხვევა ერთმანეთს[2].

2.1.3 ქირალური ნივთიერებების დაყოფის მნიშვნელობა

ენანტიომერები ქირალურ და აქირალურ გარემოში სხვადასხვაგვარი ბიოლოგიური მოქმედებას ამჟღავნებენ. ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერებს აქირალურ გარემოში იდენტური თვისებები აქვთ და შესაბამისად, ერთმანეთისგან არ განსხვავდებიან, მაგრამ ქირალურ გარემოში მათი განსხვავებული ბიოლოგიური მოქმედებით შეიძლება ენანტიომერების იდენტიფიცირება. ადამიანის ორგანიზმი ქირალური გარემოა და ენანტიომერების განსხვავებული ბიოლოგიური მოქმედება მჟღავნდება მათი განსხვავებული ფარმაკოლოგიური მოქმედებით. ქირალური სამკურნალწამლო საშუალებების ხშირად მხოლოდ ერთ ენანტიომერს აქვს სამკურნალო თვისებები, ხოლო მეორე ენანტიომერი შეიძლება არააქტიური ან ტოქსიკურიც იყოს. მაგალითად, *S*-ნაპროქსენი ანთების საწინააღმდეგო წამალია, ხოლო- *R*-ნაპროქსენი ღვიძლის ტოქსინია.



სურ. 2 ნაპროქსენის ენანტიომერები

ქირალური ნივთიერებები ჩვენს ირგვლივ ყველგანაა. ისინი გვხვდება სამკურნალწამლო პრეპარატებში, სასოფლო სამეურნეო შხამქიმიკატებში, საკვებში სხვადასხვა დანამატების სახით და სხვა უამრავი სახით. ამიტომაცაა ნითიერებების ენანტიომერებად დაყოფა აუცილებელია, მაგრამ ამას ართულებს ის ფაქტი, რომ აქირალურ გარემოში მათ იდენტური თვისებების აქვთ და მათი ერთმანეთისგად დაყოფა შეუძლებელია. ამერიკის შეერთებული შტატების წამლისა და საკვები პროდუქტების სააგენტო -FDA რეკომენდაციას უწევს თითოეული ენანტიომერის ფარმაკოლოგიური თვისებების კვლევას

ახალი სამკურნალო პრეპარატის დამუშავებისას, ან მხოლოდ ერთი ენანტიომერის გამოყენებას[3].

2.2. ქრომატოგრაფია

2.2.1 ქრომატოგრაფიის საფუძვლები

ქრომატოგრაფია (ლათ.-ფერის აღწერა) არის ქიმიური ნივთიერებების ნარევთა დაყოფის ხერხი. იგი ემყარება საანალიზო ნივთიერებების არათანაბარ განაწილებას ორ ფაზას შორის, რომელთაგან ერთი მოძრავია, მეორე-უძრავი. მოძრავი ფაზა შეიძლება იყოს სითხე ან აირი, რომელშიც გახსნილია ნივთიერებათა ნარევები ამის შემდგომ ხდება ნარევის გატარება სტრუქტურირებულ მასალაზე, რომელსაც უძრავი ფაზა ეწოდება. მოძრავი ფაზად იყენებენ სითხეს, აირს, ან ზეკრიტიკული სითხეებს, შესაბამისად გვაქვს სითხური, გაზური (აირადი) და ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია. ნარევები სხვადასხვა კმპონენტებისგან შედგება, რომლებიც ქრომატოგრაფიულ სვეტში სხვადასხვა სიჩქარით გადაადგილდებიან და იყოფიან მასზე. ეს დაყოფა გამოწვეულია კომპონენტების განსხვავებული განაწილებით მოძრავ და უძრავ ფაზას შორის. ეს პროცესი მრავალ ფაქტორზეა დამოკიდებული. ერთ-ერთი მათგანია ნივთიერების სწრაფვა (აფინობა) სტაციონალური ფაზისადმი. თუ ნიფთიერების აფინობა მაღალია იგი დიდი დროის განმავლობაში შეკავდება სტაციონალურ ფაზაზე, შესაბამისად უფრო გვიან ელუირდება და პირიქით. ქრომატოგრაფიული ექსპერიმენტები მიზნის მიხედვით შეიძლება იყოს როგორც პრეპარატული, ისე ანალიზური. ანალიზური მეთოდის მიზანი ძირითადად კომპონენტების რაოდენობრივი ანალიზია, ხოლო-რეპარატული მეთოდის დაყოფილი ნივთიერების გასუფთავება-შეგროვება შემდგომი გამოყენების მიზნით. ქრომატოგრაფიის კლასიფიკაცია შესაძლებელია სხვადასხვაგვარად, ადსორბენტის შრის გასწვრივ ადსორბატის გადანაცვლების მიხედვით განასხვავებენ ფრონტალურ, გამოძევებით მეთოდებსა, გამომჟღავნებით (ელუციურ) და ელექტროქრომატოგრაფიას. მოძრავი და უძრავი ფაზის აგრეგატული მდგომარეობის მიხედვით: სითხური და აირადი ქრომატოგრაფია, რომელიც თავის მხრივ იყოფა აირ-ადსორბციული ან აირ-თხევადი. გარდა ამისა სითხური ქრომატოგრაფია იყოფა ადსორბციულ, განაწილებით, იონგაცვლით და ექსკლუზიურ ქრომატოგრაფიებად. სითხურ ქრომატოგრაფიაში შეიძლება სვეტების, ბრტყელი ფირფიტების ან ქაღალდის გამოყენება[4, 5, 6].

2.2.2 ენანტიომერების დაყოფის ქრომატოგრაფიული მეთოდები

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, სუფთა ენანტიომერის მიღება მეტად მნიშვნელოვანია, როგორც მეცნიერული, ასევე პრაქტიკული თვალსაზრისით. რაცემატების დასაყოფად სხვადასხვა გზა შეიძლება გამოვიყენოთ. ყველაზე ძველი ხერხია კრისტალების მექანიკური გადარჩევა. ამ მეთოდის გამოყენება შეიძლება, თუ ნივთიერების გამოკრისტალებისას კონგლომერატები წარმოიქმნება, ესე იგი მიმდინარეობს ენანტიომერების სპონტანური დაყოფა.

სხვა მეთოდია შერჩევითი კრისტალიზაცია. რომლის დროსაც ხდება რაცემული ნაერთის ნაჯერ ხსნარში ერთ-ერთი ენანტიომერის ან მისი ფსევდომორფული კრისტალის შეყვანა. ასეთი კრისტალი ჩანასახოვანი კრისტალის როლს შეასრულებს და მიიღება ჰომოქირალური კრისტალები.

თანდათან ენანტიომერების დასაყოფად უფრო მეტად დაიწყეს ინსტრუმენტული მეთოდების გამოყენება. ენანტიომერების დაყოფისათვის დღეისათვის ყველაზე გავრცელებულია ინსტრუმენტული მეთოდები:

<u>გაზური ქრომატოგრაფია</u> - აქროლადი ნივთიერებების ენანტიომერების დასაყოფად გამოყენებული პირველი ინსტრუმენტული მეთოდია, იგი პირველად გამოიყენეს მე-20 საუკუნის 60-იან წლებში ქირალური სტაციონარული ფაზის გამოყენებით. ამჟამად გაზური ქრომატოგრაფიით ენანტიომერების დასაყოფად ორი მიდგომაა გამოყენებული: პირდაპირი მიდგომის მიხედვით ოპტიკური იზომერების დასაყოფად იყენებენ ქირალურ სტაციონარულ ფაზების, ხოლო არაპირდაპირი მიდგომის დროს, საჭიროა საანალიზო ენანტიომერების ნარევის დერივატიზაცია ენანტიომერულად სუფთა ქირალური დანამატით და შემდეგ მიღებული დიასტერეომერების ანალიზი სტანდარტული არაქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით. გაზური ქრომატოგრაფია წარმატებით გამოიყენება დაბალი მოლეკულური მასის მქონე აქროლადი ნივთიერებებისთვის.

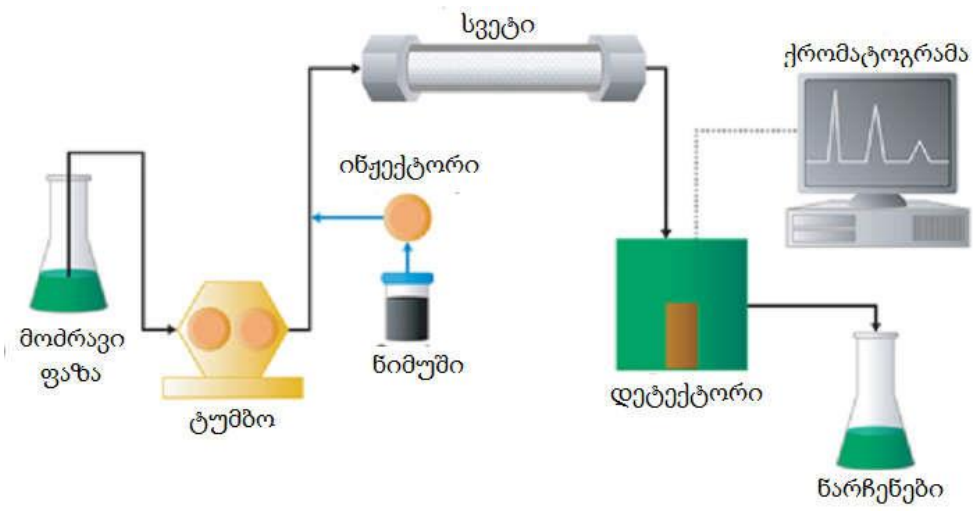
<u>კაპილარული ელექტროფორეზი</u>- კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტით შესაძლებელია ისეთი ნითიერებების ანალიზი, რომლელთა გაანალიზებაც შეუძლებელია გაზურ ან მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიის მეთოდებით. მას რამდენიმე უპირატესობა აქვს, კერძოდ: ნიმუშის და რეაგენტების მცირე ხარჯი, ანალიზის მცირე დრო, დაყოფის მაღალი ეფექტურობა, მეთოდი უფრო იაფია და ეკოლოგიურად სუფთა, რადგანაც არ იყენებს ტოქსიკურ ორგანულ გამხსნელებს და ნარჩენების რაოდენობა გვაქვს მაქსიმუმ მილილიტრებში. მეთოდის ნაკლი კი არის მისი შედარებით დაბალი მგრძნობიარობა [1, 7].

<u>ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია</u>- ენანტიომერების დასაყოფად ასევე წარმატებით გამოიყენება ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია, სადაც ელუენტად გამოყენებულია ძირითადად აირი, ან სითხე რომლის წნევა და ტემპერატურა თერმოდინამიკური კრიტიკული წერტილის მაღლაა. გამოყენებული სვეტები იგივეა, რაც მაღალეფექტური სითხურ ქრომატოგრაფიაში. მთავარი უპირატესობაა ქრომატოგრაფიული სვეტების მაღალი ეფექტურობა (ძირითადად სწრაფი დიფუზიის გამო) ზეკრიტიკულ სითხეებში; ელუენტად უფრო ხშირად გამოიყენება ნახშირორჟანგი - CO2, ამიტომ მეთოდი ეკოლოგიურად სუფთა, უსაფრთხო და შედარებით იაფია [1].

2.2.3 HPLC-მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია

დღესდღეობით ენანტიომერების დასაყოფად ყველაზე ფართოდ გამოყენებული მეთოდია მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია. ქრომატოგრაფიული დაყობის პრინციპია საანალიზო ნარევის შემადგენელი კომპონენტების არათანაბარი განაწილება უძრავ და მოძრავ ფაზებს შორის. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიულ მეთოდში მოძრავი ფაზა მოთავსებულია მეტალის მილში რომელსაც ქრომატოგრაფიულ სვეტი ეწოდება. სვეტში მოძრავი ფაზა გადაადგილდებადა გადააქვს ნარევის კომპონენტები წნევათა სხვაობით, რომელსაც მაღალი წნევის ტუმბო ქმნის. ნივთიერება ხელსაწოში ხვდება ინჯექტორის საშუალებით და მოძრავ ფაზას გდააქვს მთელ სისტემაში. სვეტში მიმდინარეობს ადსორბცია-დესორბციის აქტები, კომპონენტები მოძრავი და უძრავი ფაზის მიმართ განსხვავებული სწრაფვის გამო იყოფა ქრომატოგრაფიულ სვეტში და სხვადასხვა დროს დატოვებენ მას, რის შემდეგადაც ხდება მათი რეგისტრაცია დეტექტორით.

დეტექტორი ახორციელებს მასში გამავალი ნაკადის ფიზიკური, ან ქიმიური პარამეტრის გაზომვას, შემდეგ აგებს სიგნალის დროზე დამოკიდებულების მრუდს-ქრომატოგრამას. ნივთიერების კომპონენტებს ქრომატოგრამაზე ვხედავთ პიკების სახით, პიკის გამოსვლის დროის მიხედვით ხდება ნივთიერების იდენტიფიკაცია, ხოლო-ფართობის მიხედვით ნივთიერების რაოდენობის დადგენა.



სურ. 3: სითხური ქრომატოგრაფის მოდელი

სითხურ ქრომატოგრაფიაში მოძრავ ფაზად გამოიყენება როგორც პოლარული ასევე არაპოლარული ნივთიერებები, მაგალითად: ჰექსანი, მეთანოლი, იზოპროპანოლი, აცეტონიტრილი, ტეტრაჰიდროფურანი, წყალი და ა.შ.

მოძრავი და უძრავი ფაზების ბუნების მიხედვით, არჩევენ ნორმალურფაზიან, შებრუნებულფაზიან და პოლარულ-ორგანულფაზიან ქრომატოგრაფიას. ნორმალურფაზიან ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება პოლარული სტაციონალური ფაზა, მაგალითად სილიკაგელი და არაპოლარული ან მცირედ პოლარული მოძრავი ფაზა, მაგალითად ჰექსანი, ან ჰეპტანი ქლოროფორმის, ტეტრაჰიდროფურანის, იზოპროპანოლის მცირე დანამატებით. შებრუნებულფაზიან ქრომატოგრაფიაში გვაქვს არაპოლარული სტაციონალური ფაზა, როგორიცაა სილიკაგელი მოდიფიცირებული სხვადასხვა სიგრძის ალკილური ჯგუფებით, ფართოდ გავრცელებულია C8H17 (C8) და C18H37 (C18) და პოლარული მოძრავი ფაზა, რომელიც წარმოადგენს წყლისა ორგანული გამხსნელების ნარევს. პოლარორგანულფაზიანი ქრომატოგრაფიის დროს გამოიყენება პოლარული ორგანული მოძრავი ფაზები, მაგალითად, ეთანოლი, მეთანოლი და ა.შ.[6, 8]

2.2.4 ძირითადი ქრომატოგრაფიული პარამეტრები

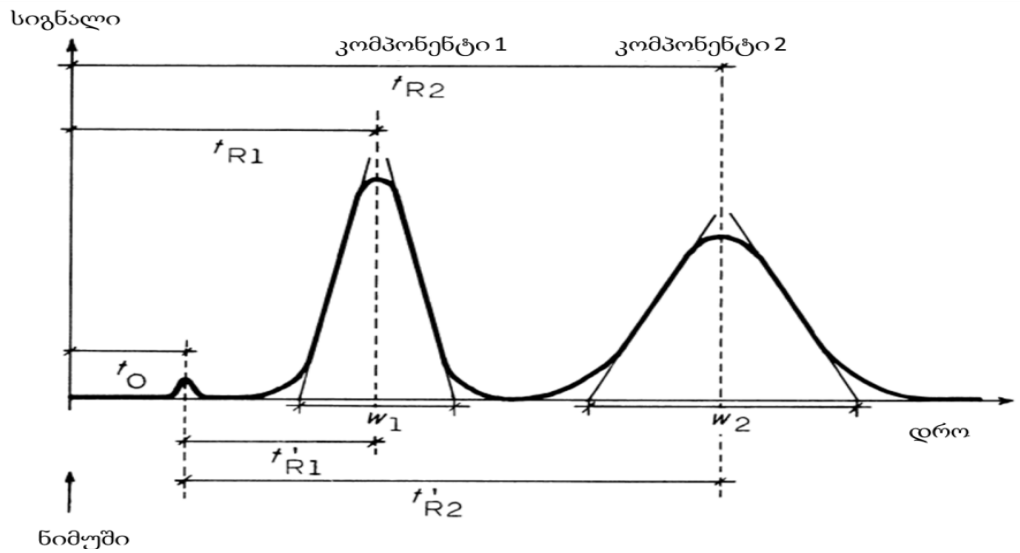
ქრომატოგრამა ორგანზომილებიანი ჩანაწერია, რომლის აბსცისათა ღერძზე გადაზომილი არის საანალიზო ნივთიერებათა შეკავების დრო (t_R), ხოლო ორდინატთა

ღერძზე სიგნალის ინტენსივობა. ნივთიერების შეკავების დრო ანალიზის მოცემულ პირობებში დამოკიდებულია მის თერმოდინამიკურ მახასიათებელზე - განაწილების კოეფიციენტზე (K_d) მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის. შეკავების დრო წარმოადგენს ნივთიერების თვისებრივ მახასიათებელს და შესაძლებელია გამოვიყენოთ მის გამოსაცნობად, სიგნალის ინტენსივობა დამოკიდებულია ნიმუშში არსებული კონკრეტული კომპონენტის რაოდენობაზე და გამოვიყენოთ მისი რაოდენობის საზომად. ქრომატოგრამის ძირითადი მახასიათებლებია:

- **შეკავების დრო t_R**– არის დროის მონაკვეთი ნიმუშის სვეტში შეყვანის მომენტიდან ქრომატოგრამაზე პიკის მაქსიმუმის მიღწევამდე.

$$t_R = t_0 + t'_R \qquad (1)$$

სადაც t_0არის არააადსორბირებადი კომპონენტის ელუირების დრო; t'_R არის შესწორებული შეკავების დრო და გამოხატავს სტაციონალურ ფაზაზე ყოფნის დრო კომოპონენტისთვის:



სურ. 4 : ქრომატოგრაფიული პიკის მახასიათებლები

t_Rმოძრავი ფაზის წრფივი სიჩქარის ფუნქციაა, იგი სვეტის სიგრძეზეა დამოკიდებული, ამიტომ შეკავების უფრო ზოგადი პარამეტრია:

- **შეკავების მოცულობა V_R**- არაადსორბირებადი კომპონენტის შეკავების მოცულობა, სვეტში მოძრავი ფაზის მოცულობა მისი სვეტში შეყვანიდან დეტექტირებამდე. იგი გამოითვლება ფორმულით :

$$V_R = Ft_R (2)$$

სადაც F- მოძრავი ფაზის მოცულობითი სიჩქარეა [მლ/წთ].

- **სვეტის მკვდარი მოცულობა V_M–** არის სვეტში მოძრავი ფაზის საერთო მოცულობა ნიმუშის ინიცირების ბლოკიდან დეტექტორის ფანჯრის ჩათვლით.

$$V_M = Ft_0 (3)$$

- **შეკავების ფაქტორი k –**რომელსაც ზოგჯერ ტევადობის ფაქტორსაც უწოდებენ, არის შეკავების ძირითადი პარამეტრი, ის არ არის დამოკიდებული მოძრავი ფაზის სიჩქარეზე და სვეტის სიგრძეზე. თუ მოძრავი ფაზა ნელა გადაადგილდება ან სვეტი გრძელია, ამ შემთხვევაში ერთნაირად იზრდება t_0 და შესაბამისად t_R -იც.

$$k = \frac{(t_R - t_0)}{t_0} \quad (4)$$

k წარმოადგენს ნივთიერების მოლური კონცენტრაციების ფარდობას სტაციონალურ და მოძრავ ფაზებში.

$$k = \frac{n_{სტაც.}}{n_{მოძრ.}} (5)$$

სასურველია პარამეტრი k იყოს 1÷5 შუალედში, თუ $k < 1$ ნიშნავს, რომ ნიმუშმა სვეტი ძალიან მალე გაიარა ანუ არ შეკავდა სტაციონალურ ფაზაზე, ხოლო თუ $k > 5$ ნიშნავს, რომ ანალიზს სჭირდება დიდი დრო. თუ ადსორბენტი წვრილფოროვანია, ამ შემთხვევაში k-ს აქვს უფრო დიდი მნიშვნელობა ნაკლებად ფოროვან და არაფოროვან ადსორბენტებთან შედარებით.

- **დაყოფის ფაქტორი ანუ სელექტივობა α** - შეკავების ფაქტორების ფარდობაა, შესაბამისად თუ კომპონენტებს აქვთ ერთნაირი k-ს მნიშვნელობა ისინი ვერ დაიყოფა.

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{(t_{R_2} - t_0)}{(t_{R_1} - t_0)} \quad (6)$$

სადაც $k_2 > k_1$ თუ $\alpha = 1$, ნიშნავს რომ ნარევი არ დაიყო. α-ზე გავლენას ახდენს სტაციონალური და მოძრავი ფაზები, მათი ცვლილებით α იცვლება.

- **გარჩევითობა Rs**-: თუმცა, სელექტიურობა გვიჩვენებს მხოლოდ კომპონენტების მაქსიმუმების დაშორებას ერთმანეთისგან, ხოლო თუ რამდენად დაშორებულია პიკის ფუძეები ქრომატოგრამაზე, ანუ რამდენად ეფექტურადაა დაყოფილი კომპონენტები, ამას გვიჩვენებს გარჩევითობა R*s*:

$$Rs = 2\frac{(t_{R_2} - t_{R_1})}{(W_1 - W_2)} (7)$$

$$\boldsymbol{Rs = 1.18}\frac{(\boldsymbol{t_{R_2} - t_{R_1}})}{(\boldsymbol{W_{(1/2)_1} - W_{(1/2)_2}})} \quad (8)$$

სადაც $\boldsymbol{W}$არის პიკის სიგანე ფუძესთან ხოლო $\boldsymbol{W_{(1/2)}}$არის პიკის სიგანე პიკის ნახევარსიგანეზე. თუ $\boldsymbol{Rs = 1.25}$, მაშინ დაყოფა სრულია, თუ $\boldsymbol{Rs} > 1.5$ ნიშნავს, რომ შესაძლებელია ანალიზის დროის შემცირება.

- **თეორიული თეფშების რიცხვი** ქრომატოგრაფიული პიკის მიხედვით შესაძლოა ვიმსჯელოთ თეორიული თეფშების რიცხვზე-**N,** რომელიც ქრომატოგრაფიული სვეტის ეფექტურობის რაოდენობრივი მახასიათებელია. **W**-პიკის სიგანეა იგი ხშირად დროის ერთეულებში იზომება. თეორიული თეფშების რიცხვსა და პიკის გამოსვლის დროს და მის სიგანეს შორის დამოკიდებულება გამოიხატება ფორმულით

$$\boldsymbol{N = 16}\left(\frac{\boldsymbol{t_R}}{\boldsymbol{W}}\right)^{\boldsymbol{2}} \quad (10)$$

  თუმცა იმის გამო, რომ ძნელია მაღალი სიზუსტით გაიზომოს პიკის დაწყების და დამთავრების დრო, პიკის სიგანის ნაცვლად იყენებენ პიკის სიგანეს მის ნახევარ სიმაღლეზე -$\boldsymbol{W_{1/2}}$, ამ შემთხვევაში, თეორიული თეფშების რიცხვი გამოითვლება ფორმულით:

$$\boldsymbol{N = 5.54}\left(\frac{\boldsymbol{t_R}}{\boldsymbol{W_{(1/2)}}}\right)^{\boldsymbol{2}} \quad (11)$$

თეორიული თეფშების რიცხვი დაკავშირებულია ქრომატოგრაფიულ სვეტში ზონის გაფართოებასთან. მიგრაციის დროის გაზრდით ზონა ფართოვდება, და თეორიული თეფშების რიცხვი სვეტის სიგრძის პროპორციულია. რაც უფრო გრძელია სვეტი, უკეთესია გარჩევითობა, მაგრამ ხანგრძლივდება ანალიზი.

- **თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე** $\boldsymbol{H}$**–** არის მანძილი, რომელზედაც მიიღწევა ქრომატოგრაფიული წონასწორობა. გამოითვლება ფორმულით:

$$\boldsymbol{H = L/_N} \quad (12)$$

თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე $\boldsymbol{H}$ უკავშირდება ვან-დეემტერის განტოლებას [4]:

$$\boldsymbol{H = A + B/_U + CU} \quad (13)$$

სადაც $\boldsymbol{U}$არის მოძრავი ფაზის სიჩქარე, $\boldsymbol{A}$- გრიგალისებური დიფუზია; $\boldsymbol{B}$- დიფუზია ქრომატოგრაფიული სვეტის გასწვრივ (ლონგიტუდინალური დიფუზია); $\boldsymbol{C}$- მასის გადატანა.

მოძრავი ფაზის ნაკადის ოპტიმალური მნიშვნელობის პოვნა შესაძლებელია ვან-დეემტერის განტოლების დიფერენციალური ფორმიდან:

$$\frac{dH}{dU} = -\frac{B}{U^2} + C \quad (14)$$

ოპტიმუმის პირობიდან გამომდინარე, ოპტიმუმის წერტილში: $dH/_{dU} = 0$, ანუ

$$U^2 = B/_C \, (15)$$

2.3 თერმოდინამიკა

2.3.1 თერმოდინამიკის ზოგადი განხილვა

თერმოდინამიკა თეორიული ფიზიკის დარგია, რომელიც შეისწავლის ენერგიის სხვადასხვა სახეების ურთიერთგარდაქმნის კანონებს. ყოველი სისტემა შეგვიძლია დავახასიათოთ მისი თერმოდინამიკური პარამეტრებით, რომლებიცაა: მოცულობა, ტემპერატურა, წნევა, ქიმიური შედგენილობა და სხვა. ამ პარამეტრების განსაზღვრავს სისტემის მდგომარეობას და ერთი პარამეტრის მნიშვნელობის შეცვლაც კი ნიშნავს სისტემის მდგომარეობის ცვლილებას[9,10].

- **ტემპერატურა *(T)***-წარმოადგენს მოლეკულათა სითბური მოძრაობის ინტენსიურობის რიცხვით საზომს, მისი ერთეულია კელვინი.
- **შინაგანი ენერგია *(U)*** - წარმოადგენს თერმოდინამიკური სისტემის შემადგენელ ნაწილაკთა ყველა სახის ენერგიათა ჯამს. ერთეულთა საერთაშორისო SI სისტემაში მისი ერთეულია ჯოული.
- **ენერგიის შენახვის კანონი -** ენერგია არაფრისგან არ წარმოიქმნება და არც უკვალოდ ქრება, ენერგია შეიძლება გარდაიქმნას ერთი ფორმიდან მეორეში ეკვივალენტური რაოდენობით.
- **თერმოდინამიკის I კანონი** - სისტემისათვის მიწოდებული სითბო იხარჯება შინაგანი ენერგიის გაზრდასა და სისტემის მიერ მუშაობის შესრულებაზე.

$$\delta q = dU + \delta A \quad (16)$$

სადაც, q არის სისტემის მიერ გარემოდან მიღებული სითბო

A - სისტემის მიერ შესრულებული მუშაობა

განასხვავებენ ორი სახის მუშაობას: **მექანიკური გაფართოებისა** *($A_{გაფ.}$)* და **სასარგებლო მუშაობას** *(A^*)*.

$$\boldsymbol{A = A_{გაფ.} + A^*} \quad (17)$$

$$\boldsymbol{\delta A_{გაფ.} = PdV} \quad (18)$$

როდესაც სისტემა არ ასრულებს სასარგებლო მუშაობას, მაშინ

$$\boldsymbol{\delta A^* = 0} \quad (19)$$

შესაბამისად:

$$\boldsymbol{\delta q = dU + \delta A_{გაფ.} = dU + PdV} \quad (20)$$

იზობარულ პროცესებში. ანუ როცა $\boldsymbol{P = const}$,მაშინ

$$\boldsymbol{\delta q = dU + d(PdV) = d(U + PV)} \quad (21)$$

სიდიდე $\boldsymbol{U + PV}$-ს ეწოდება **ენთალპია** და აღინიშნება $\boldsymbol{H}$ სიმბოლოთი, SI სისტემაში მისი ერთეულია ჯოული.

- **დაყვანილი სითბო** - სისტემის მიერ მიღებული სითბოს შეფარდებაა იმ ტემპერატურასთან, რომელზედაც მოხდა სითბოს მიღება.
- **ენტროპია** $\boldsymbol{S}$- სისტემის მოუწესრიგებლობის გარკვეული საზომია, რომელიც შექცევადი პროცესების დროს უტოლდება დაყვანილ სითბოთა ჯამს.

$$\boldsymbol{dS \equiv \left(\frac{\delta q}{T}\right)_{შექც.}} \quad (22)$$

SI სისტემაში მისი ერთეულია ჯოული/გრადუსი. თუ განიხილება ერთი ინდივიდუალური ნივთიერება, მაშინ ენტროპიას ხშირად ანგარიშობენ 1 მოლის მიმართ და მისი ერთეული იქნება ჯოული/(მოლი·გრადუსი).იზოლირებულ სისტემაში თავისთავად შეიძლება მიმდინარეობდეს მხოლოდ ისეთი პროცესები, რომლებიც იწვევენ ენტროპიისა და, შესაბამისად, მოუწესრიგებლობის ზრდას.

$$\boldsymbol{TdS \geq \delta q} \quad (23)$$

$$\boldsymbol{TdS \geq dU + PdV + dA^*}$$

$$\boldsymbol{dA^* \leq -(dU + PdV - TdS)} \quad (24)$$

იზოთერმულ–იზობარული პროცესის დროს:

$$\boldsymbol{T, P = const}$$

$$\boldsymbol{PdV = d(PV)}$$

$$\boldsymbol{TdS = d(TdS)}$$

$$\boldsymbol{dA^* \leq -\partial(U + PV - TS)_{T,P} = -\partial(H - TS)_{T,P}}(25)$$

- **გიბსის ფუნქცია**- $\boldsymbol{H - T * S}$ წარმოადგენს სისტემის მდგომარეობის ფუნქციას და აღინიშნება $\boldsymbol{G}$ სიმბოლოთი, მისი ერთეულია ჯოული:

$$\boldsymbol{G = U - PV - TS = H - TS}(26)$$

ანუ

$$\boldsymbol{H = G + TS} \quad (27)$$

იზოთერმულ–იზობარულ პირობებში შექცევადი პროცესის შედეგად გიბსის ენერგია მთლიანად გადადის სასარგებლო მუშაობაში მას უწოდებენ თავისუფალ ენერგიას, $\boldsymbol{TS}$ ნამრავლი კი ახასიათებს სითბოს სახით განბნეულ ენერგიას, რომელიც აღნიშნულ პირობებში მუშაობაში არ გადადის, ანუ ბმულ ენერგიას. როცა სასარგებლო მუშაობა არ სრულდება პროცესის თავისთავად მიმდინარეობის პირობაა გიბსის თავისუფალი ენერგიის შემცირება.

ქიმიური რეაქციის მიმდინარეობისას სისტემის მდგომარეობის ფუნქციების ცვლილება ხდება. $\boldsymbol{G}$ ფუნქციის სასრული ცვლილება ჩაიწერება:

$$\boldsymbol{\Delta G = \Delta H - T\Delta S} \quad (28)$$

- **ქიმიური წონასწორობა** არის მორეაგირე ნარევის ისეთი მდგომარეობა, როდესაც დროის ერთეულის განმავლობაში პირდაპირი რეაქციის შედეგად წარმოქმნილი პროდუქტის მოლეკულათა რიცხვი უტოლდება საპირისპირო რეაქციის შედეგად ამავე პროდუქტის გარდაქმნილ მოლეკულათა რიცხვს.
- **რეაქციის სტანდარტული იზობარული პოტენციალი** $\boldsymbol{\Delta G^0}$ უტოლდება $\boldsymbol{\Delta G}$-ის, როცა გარდაქმნაში მონაწილე ყველა ნივთიერების პარციალური წნევა რჩება 1 ატმოსფეროს ტოლი.

$$\boldsymbol{\Delta G = -RTlnK_P}(29)$$

სადაც, $\boldsymbol{K_P}$ არის **რეაქციის წონასწორობის მუდმივა** (გამოსახული წონასწორული პარციალური წნევებით)

ვანტ-ჰოფის იზობარის განტოლება მდგომარეობს შემდეგში:

$$\boldsymbol{\frac{dlnK_P}{dT} = \frac{\Delta H^0}{RT^2}}(30)$$

2.3.2 ენანტიომერული ნარევების დაყოფის თერმოდინამიკური პარამეტრები

გიბს-ჰელმჰოლცის განტოლების მიხედვით:

$$\Delta \boldsymbol{G^0} = \Delta \boldsymbol{H^0} - \boldsymbol{T}\Delta \boldsymbol{S^0} = -\boldsymbol{RTlnK} \quad (31)$$

ამასთან, წონასწორობის მუდმივა უკავშირდება ქრომატოგრაფიულ პარამეტრებს, შეკავების ფაქტორსა ($\boldsymbol{k}$), და სვეტის ფაზურ თანაფარდობას ($\boldsymbol{\phi}$), ანუ სვეტში არსებული სტაციონარული ფაზის შეფარდებას სვეტში არსებული მოძრავ ფაზასთან:

$$\boldsymbol{k} = \boldsymbol{K\phi} \quad (32)$$

ვანტ-ჰოფის განტოლების გამოყენებით შეიძლება აღიწეროს შეკავების ფაქტორის ტემპერატურასთან დამოკიდებულება:

$$\boldsymbol{lnk} = -\frac{\boldsymbol{\Delta H^0}}{\boldsymbol{R}} \cdot \frac{\boldsymbol{1}}{\boldsymbol{T}} + \frac{\boldsymbol{\Delta S^0}}{\boldsymbol{R}} + \boldsymbol{ln\phi} \quad (33)$$

თუ ფორმულის მიხედვით ავაგებთ $\boldsymbol{lnk}$-ს $\boldsymbol{1/T}$-სთან დამოკიდებულების გრაფიკს, მაშინ სტანდარტული ადსორბციის მოლური ენთალპიის ცვლილება გამოითვლება წრფის დახრის კუთხის მიხედვით, ხოლო ადსორბციის მოლური ენტროპიის ცვლილება - ორდინატთა ღერძთან გადაკვეთის მიხედვით.

ენანტიომერების დაყოფისას ადსორბციის თავისუფალი ენერგიის ცვლილება ჩაიწერება, როგორც:

$$\boldsymbol{\Delta_{S,R}\Delta G^0} = \boldsymbol{\Delta_{S,R}\Delta H^0} - \boldsymbol{T\Delta_{S,R}\Delta S^0} = -\boldsymbol{RTln}\frac{\boldsymbol{K_S}}{\boldsymbol{K_R}} (34)$$

ფორმულაში ინდექსები $\boldsymbol{S}$ და $\boldsymbol{R}$ შესაბამისად გამოხატავს მეტად და ნაკლებად შეკავებულ ენანტიომერს.

$\boldsymbol{\Delta_{S,R}\Delta G^0}$სიდიდეზე დაბალ ტემპერატურაზე მეტ გავლენას ახდენს ენთალპიის ცვლილება, ხოლო მაღალ ტემპერატურაზე - ენტროპიის ცვლილება.

ტემპერატურის ზრდისას ნელ-ნელა იზრდება ენტროპიული წილი და რაღაც ტემპერატურაზე, რომელსაც **იზოენანტიოსელექტიურ ტემპერატურას** უწოდებენ ($\boldsymbol{T_{iso}}$), ენთალპიური ნაწილი და ენტროპიული ნაწილი ერთმანეთს გაუტოლდება:

$$\boldsymbol{\Delta_{S,R}\Delta H^0} = \boldsymbol{T\Delta_{S,R}\Delta S^0}$$

ამ დროს ადსორბციის თავისუფალი ენერგიის ცვლილება იქნება ნული

$$\boldsymbol{\Delta_{S,R}\Delta G^0 = 0}$$

და ენანტიომერების დაყოფა არ მოხდება. T_{iso}-ზე მაღლა ტემპერატურის მატებით ენანტიომერების ელუირების რიგი იცვლება.

დაყოფის ფაქტორის α-ს მნიშვნელობის გათვალისწინებით ($\boldsymbol{\alpha} = {\boldsymbol{K_S}}/{\boldsymbol{K_R}}$ (35)), შეიძლება ჩაიწეროს დაყოფის ფაქტორის ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლიტური ტემპერატურის შერბრუნებულ სიდიდეზე და აგებული გრაფიკიდან გამოითვალოს ადსორბციის ენთალპიის და ადსორბციის ენტროპის ცვლილებათა სხვაობა ორი ენანტიომერისთვის:

$$\boldsymbol{ln\alpha} = -\frac{\boldsymbol{\Delta_{S,R}\Delta H^0}}{\boldsymbol{R}} \cdot \frac{\boldsymbol{1}}{\boldsymbol{T}} + \frac{\boldsymbol{\Delta_{S,R}\Delta S^0}}{\boldsymbol{R}} \quad (37)$$

3. ექსპერიმენტი

3.1 გამოყენებული აპარატურა

Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი

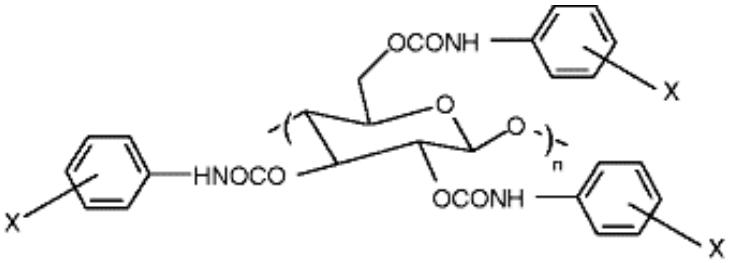
შემადგენლობა:

- ✓ G1312A ბინარული ტუმბო
- ✓ G1367B ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებელი
- ✓ G1316B სვეტების თერმოსტატი
- ✓ G1314D ერთტალღიანი დეტექტორი
- ✓ ხელსაწყოს მართვის და მონაცემთა დამუშავების პროგრამა Chemstation software
- ✓ ტალღის სიგრძე 190-600 ნმ

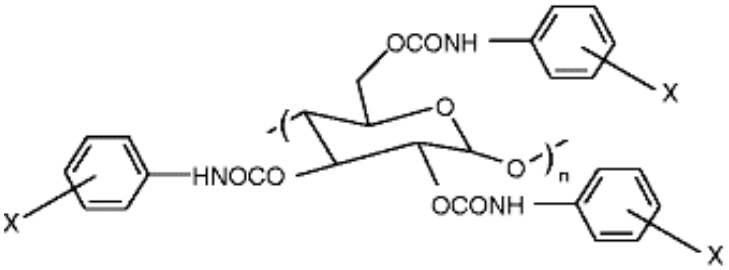
სურ. 5 *: მარალეეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი*

3.2 გამოყენებული სტაციონარული ფაზები

ქირალური ნარევების დასაყოფად სხვადასხვა სახეობის სტაციონარული ფაზები გამოიყენება. მათგან ყველაზე ფართოდ გავრცელებულია პოლისაქარიდული სტაციონარული ფაზები, რომლებშიც გამოიყენება ხაზოვანი პოლიმერების - ცელულოზასა და ამილოზას ნაწარმები. მათ შორის მეტად მნიშვნელოვანია ფენილკარბამატური წარმოებულები.



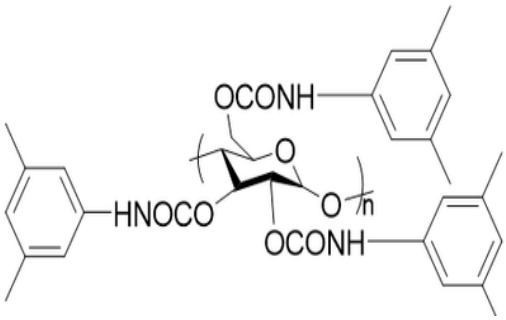
ცელულოზას
ფენილკარბამატური
წარმოებული



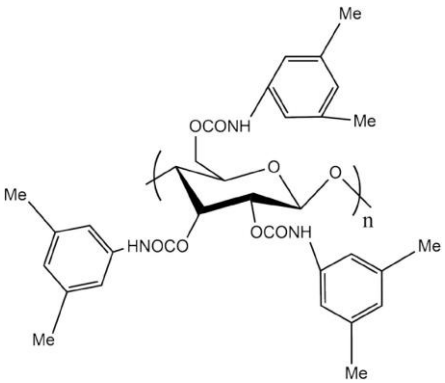
ამილოზას
ფენილკარბამატური
წარმოებული

ექსპერიმენტში გამოვიყენეთ ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატის), ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატის) და ცელულოზა ტრის(3-ქლორო-4-მეთილფენილკარბამატის) სილიკაგელზე დაფენით მომზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზები.

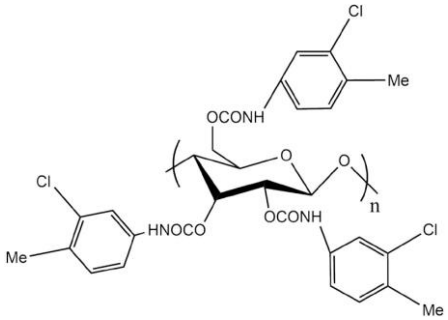
1



2



3



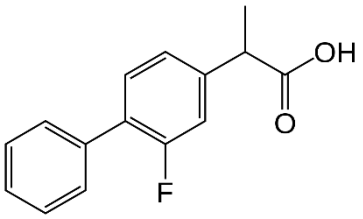
ნახ.1: *(1)ამილოზა ტრის-(3.5-დიმეთილფენილკარბამატი) ,(2) ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი), (3)ცელულოზა ტრის(3-ქლორო-4-მეთილფენილკარბამატი)*

3.3 მოძრავი ფაზა

ექსპერიმენტში გამოყენებული მოძრავი ფაზაა ნ-ჰექსანი და ეთანოლი 98,5/1,5 თანაფარდობით. ასევე გამოვიყენეთ მჟავა დანამატი-ჭიანჭველამჟავა, მოძრავ ფაზას მთელი მოცულობის 0.1%-ის რაოდენობით. მჟავა ან ფუძე დანამატების დამატება მოძრავ ფაზაში ფართოდ გავრცელებული მოვლენაა და მიიჩნევა, რომ ისინი აუმჯობესებენ დაყოფას, შესაბამისად, მჟავა ბუნებისა და ფუძე ბუნების ნაერთებისთვის.

3.4 საანალიზო ნივთიერება

ექსპერიმენტში გამოყენებული ნივთიერებაა ფლურბიპროფენი. იგი მიეკუთვნება არილპროპიონის მჟავას ნაწარმებს. არილპროპიონის მჟავას ნაწარმებს გარკვეული ნაწილი გამოიყენება, როგორც არასტეროიდული და ანთების საწინააღმდეგო საშუალება, მათ „პროფენების“ სახელითაც იცნობენ. პროფენები გამოიყენება, როგორც ტკივილგამაყუჩებელი, შეშუპების, ართრიტისგან გამოწვეული ქსოვილების დაზიანების სამკურნალოდ. ანალგეზიური და ანთების საწინააღმდეგო მოქმედება განაპირობებს მათ სიცხის დამწევ მოქმედებასაც.



ნახ. 2: ფლურბიპროფენი

4. კვლევის შედეგები და განსჯა

4.1 ანალიზის პირობები:

ქრომატოგრაფიული სვეტები: ამილოზა ტრის-(3.5-დიმეთილფენილკარბამატი)
ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი)
ცელულოზა ტრის(3-ქლორო-4-მეთილფენილკარბამატი)

მოძრავიფაზა: HEX/EtOH 98,5/1,5% + 0.1% FA

ტემპერატურა: 10-60ºC, ბიჯით - 5ºC(Cellulose 1 და Amylose 1); 10-75ºC (Cellulose 2) ბიჯით - 5ºC

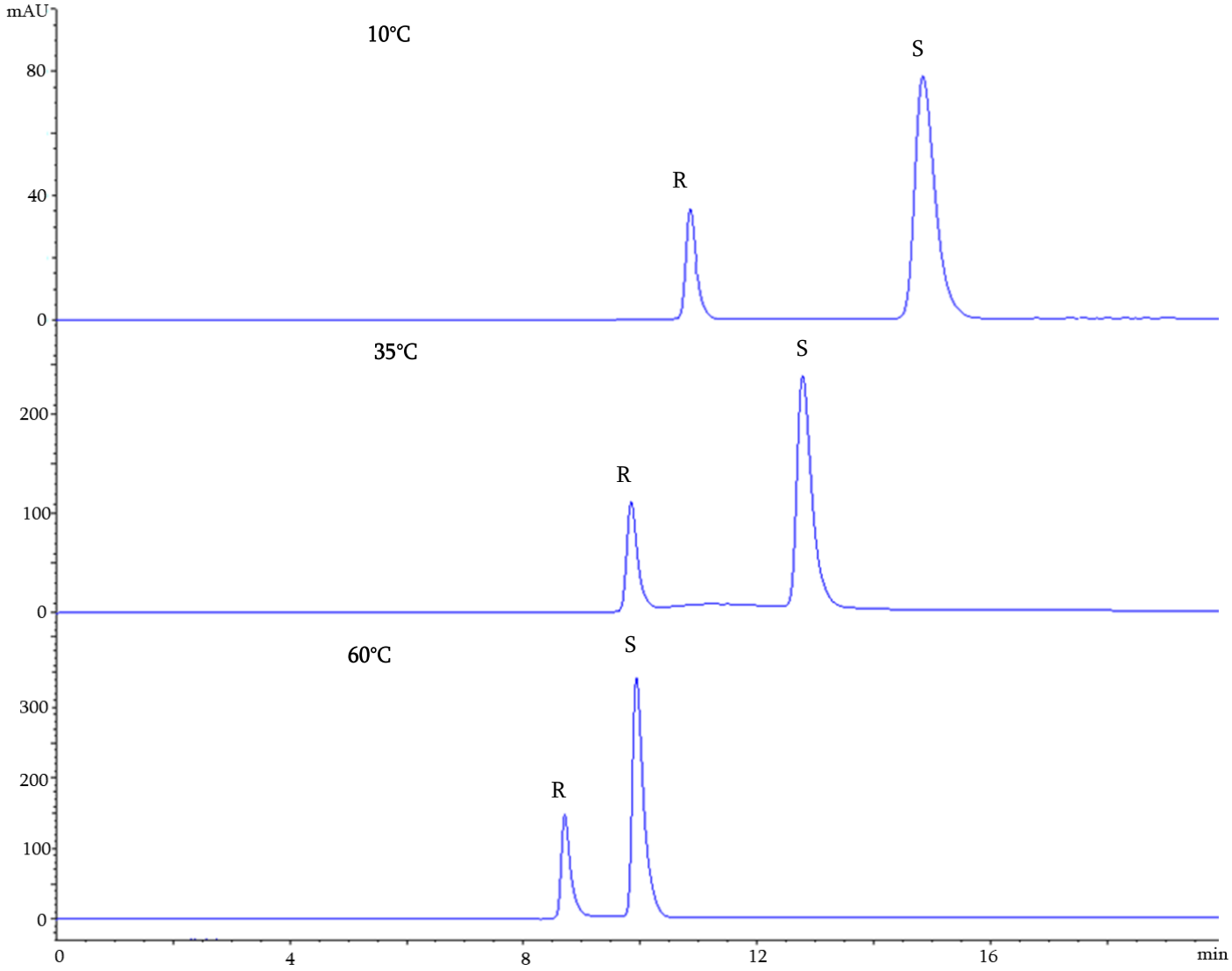
ნაკადის სიჩქარე: 2 მლ/წთ.

დეტექტორის ტალღის სიგრძე: 220ნმ

4.2 ნივთიერებების შერჩევა და ექსპერიმენტის მსვლელობა:

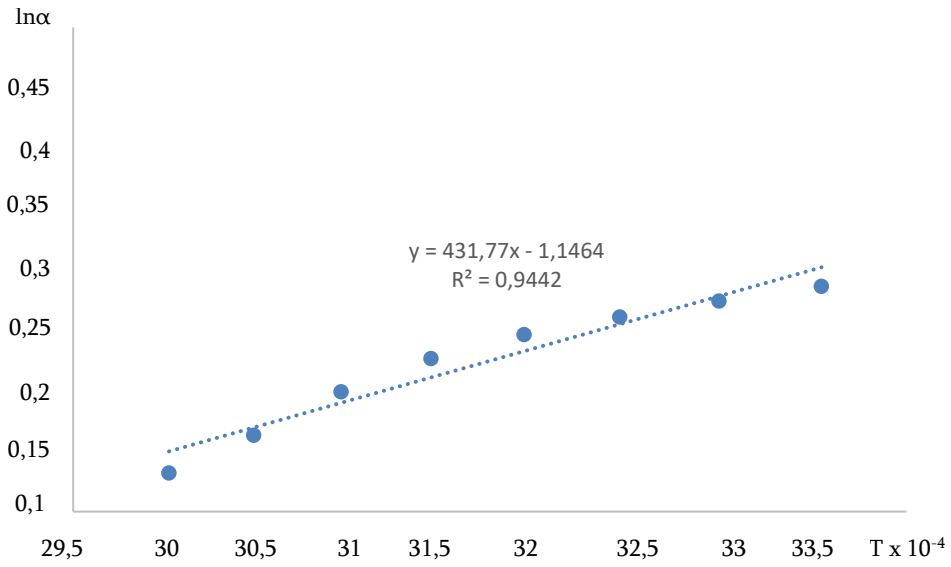
ტემპერატურული კვლევების დაწყებამდე ჩატარდა ნივთიერებათა სკრინინგი ქირალურ არილპროპიონის მჟავას ნაწარმზე, რომლებიც მჟავა ბუნების ნივთიერებებია. აქედან საინტერესო შედეგები გვქონდა მხოლოდ 4 მათგანზე. ჩემს ნაშრომში განხილული იქნება მხოლოდ ერთი-ფლურბიპროფენი. ანალიზების დაწყებამდე მოვამზადეთ საანალიზო ნივთიერების მონიშნული ნიმუში კერძოდ S ენანტიმერი ავწონეთ ორჯერ მეტი, ვიდრე R ენანტიომერი. გამხსნელად გამოვიყენეთ მოძრავი ფაზა- ნ–ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1% ჭიანჭველმჟავა.

როგორც ავღნიშნე, ანალიზი ჩატარდა 3 სვეტზე ჯერ განვიხილოთ ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) სვეტის გამოყენებით შესრულებული ანალიზი. მოძრავი ფაზა ნ-ჰექსანი/ეთანოლი თანაფარდობით 98,5/1,5 რომელსაც დამატებული ჰქონდა ჭიანჭველამჟავა მთლიანი ფაზის მოცულობის 0.1%-ით. ანალიზი ჩავატარეთ 10-60ºC-ზე.

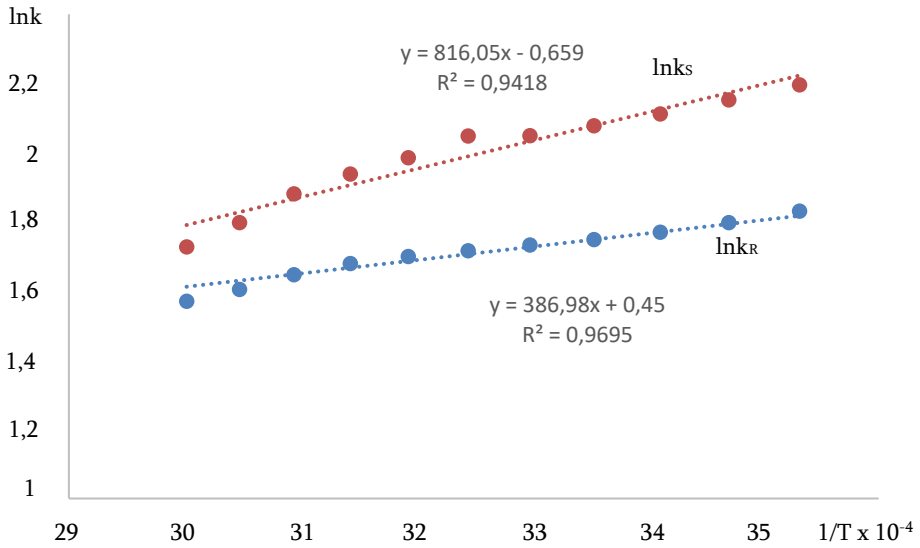


ნახ.3: *ტემპერატურის გავლენა ფლურბიპროფენის ენანტიომერების დაყოფაზე ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატის) ქირალურ სელექტორზე 10°C, 35°C და 60°C-ზე. მოძრავი ფაზა HEX/EtOH 98.5/1.5+0.1%FA*

ნახ.3-ზე ვხედავთ, რომ მოცემულ ტემპერატურულ შუალედში ენანტიომერების ელუირების რიგი არ შეიცვალა, თუმცა ტემპერატურის გაზრდა იწვევს ქრომატოგრაფიული პარამეტრების როგორიცაა შეკავების დრო, შეკავების ფაქტორი, გარჩევითობა, სელექტივობა შემცირებას ექსპერიმენტის ერთ-ერთ მთავარ მიზანს წარმოადგენდა თერმოდინამიკური პარამეტრების დათვლა და გარკვევა, პროცესს ენთალპია აკონტროლებს თუ ენტროპია. აქედან გამომდინარე ქრომატოგრაფიული მახასიათებლების გამოყენებით ავაგეთ გრაფიკები და მიღებული წრფის განტოლებებიდან დავითვალეთ თერმოდინამიკური პარამეტრები,



ნახ. 4: *სელექტიურობის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდესთან. სვეტი ამილოზა-1 მოზრავი ფაზა HEX/EtOH 98.5/1.5+0.1%FA*



ნახ.5: *შეკავების ფაქტორის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სვეტი ამილოზა-1 მოზრავი ფაზა HEX/EtOH 98.5/1.5+0.1%FA*

წრფის განტოლების და (33)(37) ფორმულების გამოყენებით დავთვალეთ თერმოდინამიკური პარამეტრები, რომლებიც ქვემოთ მოცემულ ცხრილშია გაერთიანებული.

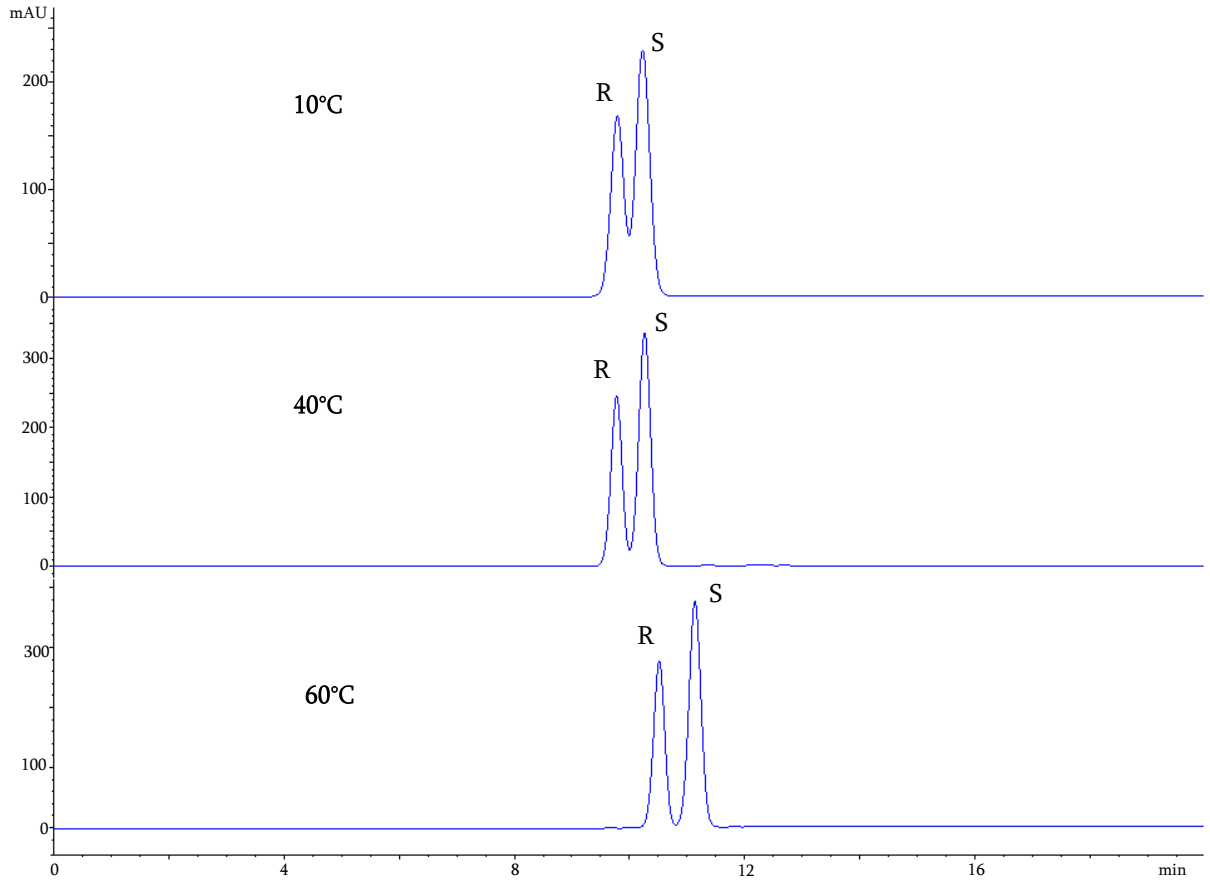
*ცხრილი 1. ფლურბიპფოფენი ,მოძრავი ფაზა: HEX/EtOH 98,5/1,5% +0.1% FA სტაციონარული ფაზაზე ამილოზა*ტრის*3,5/დიმეთილფენილკარბამატი)*

T (K)	(1/T) x 10^{-4}	k'_S	k'_R	α	ln k'_R	ln k'_S	lnα x 10^{-4}	ΔHs, cal/mol	$\Delta H_{R,}$ cal/mol	ΔSs, cal/mol	$\Delta S_{R,}$ cal/mol	$\Delta_{S,R}\Delta H$, cal/mol	$\Delta_{S,R}\Delta S$, cal/mol	TisoK
283.15	35.32	8,983	6,237	1,379	1,830	2,195	3213,59	-1621,656	-769,008	-1,309	0,894			
288.15	34.70	8,601	6,035	1,365	1,798	2,152	3111,54							
293.15	34.11	8,26	5,87	1,348	1,770	2,111	2986,22							
298.15	33.54	7,981	5,745	1,331	1,748	2,077	2859,31					-858,01490	-2,27813	376,63119
303.15	32.99	7,753	5,657	1,315	1,733	2,048	2738,37							
308.15	32.45	7,752	5,564	1,298	1,716	2,048	2608,25							
313.15	31.93	7,277	5,471	1,279	1,699	1,985	2460,79							
318.15	31.43	6,945	5,359	1,254	1,679	1,938	2263,38							
323.15	30.95	6,554	5,19	1,22	1,647	1,880	1988,51							
328.15	30.47	6,034	4,975	1,177	1,604	1,797	1629,69							
333.15	30.02	5,623	4,806	1,141	1,570	1,727	1319,05							

თერმოდინამიკური პარამეტრების დათვლის შედეგად გავიგეთ, რომ მოცემულ სვეტზე მოცემული მოძრავ ფაზაში ფლურბიპროფენის იზოენანტიოსელექტრიური ტემპერატურა არის 376 კელვინი ანუ 103°C. ნახაზ 3-ზე მოცემული ქრომატოგრამებით თუ ვიმსჯელებთ ტემპერატურის მატებასთან ერთად მცირდება ენანტიომერების ელუირების დრო და ისინი თანდათან ერთმანეთს უახლოვდებიან ექსპერიმენტის შედეგის მიხედვით 98°C-ზე ფლურბიპროფენის ენანტიომერები იზოენანტიოსელექტიურ ტემპერატურას მიაღწევენ და მათ დაყოფაზე გავლენას უკვე ენტროპია მოახდენს.

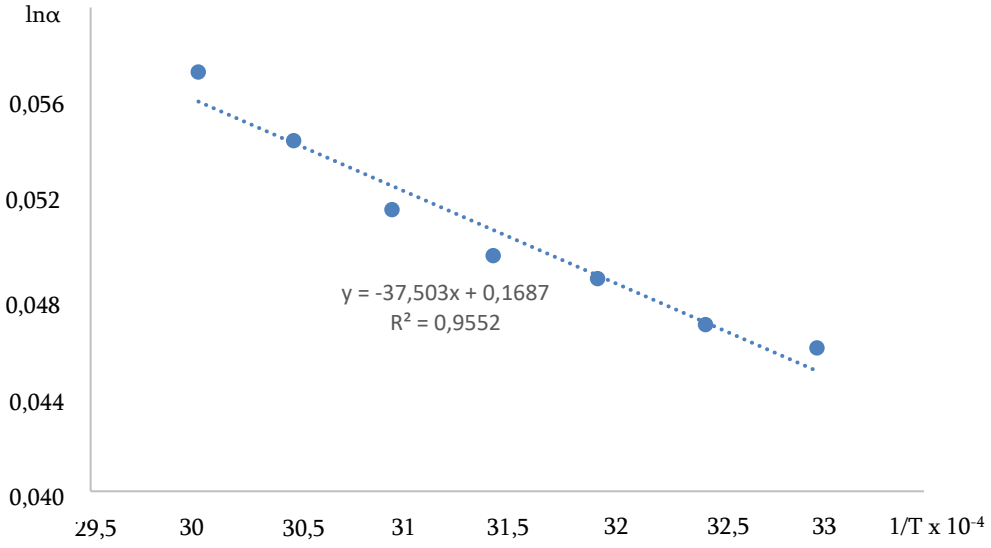
შემდეგ ექსპერიმენტშიც მოძრავ ფაზად გამოყენებული იყო HEX/EtOH 98,5/1,5% +0.1% FA, ხოლო სტაციონარულ ფაზად გამოყენებული იყო ცელულოზა 1.

ცელულოზა 1-ზე ანალიზები ჩატარდა ასევე 10-60°C-ზე 5°C-იანი ბიჯებით. ქვემოთ მოცემულია მიღებული შედეგები და მათი მიხედვით დათვლილი თერმოდინამიკური პარამეტრები.

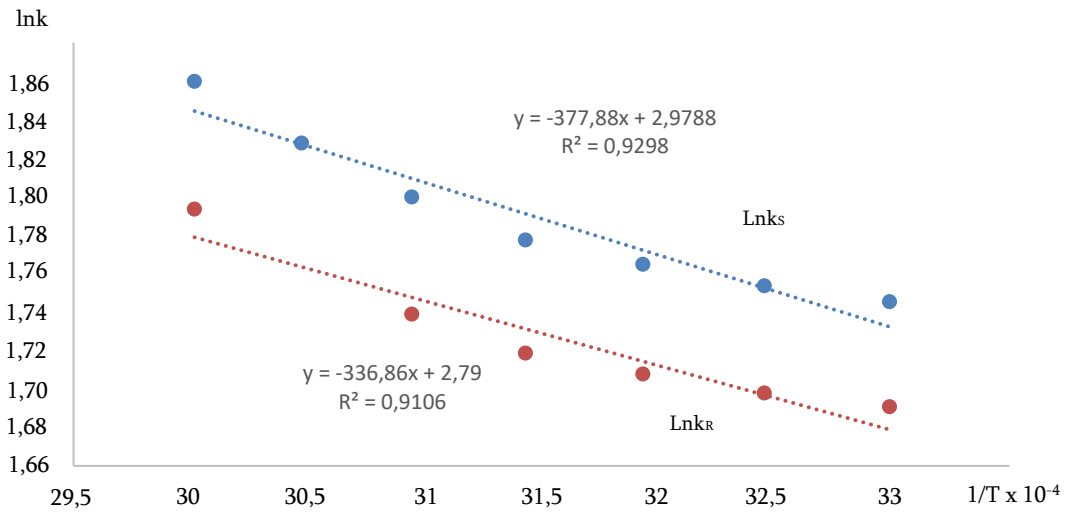


ნახ.6: *ტემპერატურის გავლენა ფლურბიპროფენის ენანტიომერების დაყოფაზე ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატის) ქირალურ სელექტორზე 10°C, 40°C და 60°C-ზე. მოძრავი ფაზა HEX/EtOH 98.5/1.5+0.1%FA*

როგორც ხედავთ ტემპერატურის მატებასთან ერთად ენანტიომერების შეკავების კოეფიციენტი იზრდება ანუ იზრდება ანალიზის ხანგრძლივობაც, მაგრამ სელექტიურობა და გარჩევითობა უმჯობესდება.



ნახ.7: *სელექტიურობის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდესთან. სვეტი ცელულოზა-1 მოზრავი ფაზა HEX/EtOH 98.5/1.5+0.1%FA*



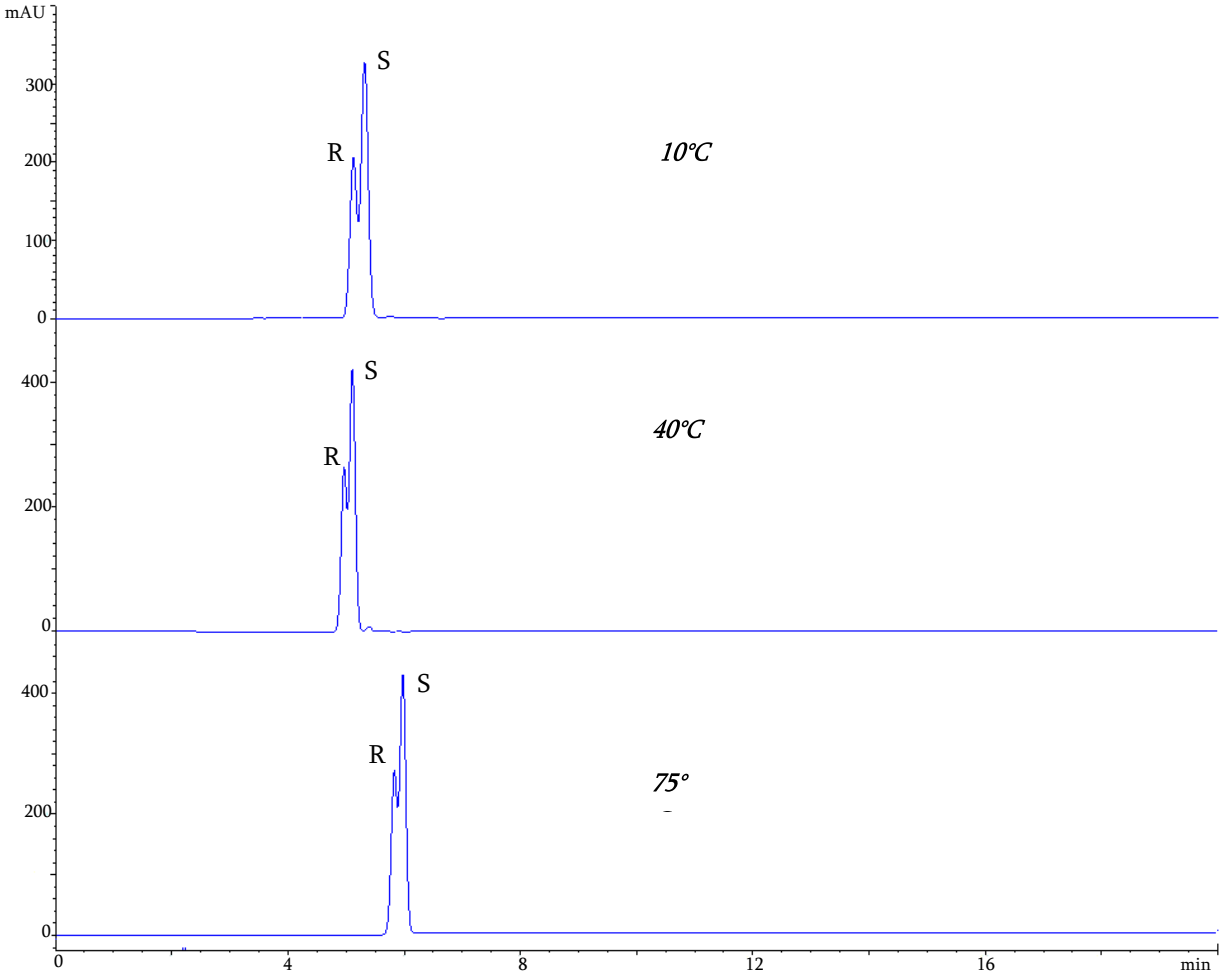
ნახ.8: *შეკავების ფაქტორის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სვეტი ცელულოზა-1 მოზრავი ფაზა HEX/EtOH 98.5/1.5+0.1%FA*

ცხრილი 2. ფლურბიპროფენი, მოძრავი ფაზა: HEX/EtOH 98,5/1,5% +0.1% FA სტაციონარული ფაზა ცელულოზა-1

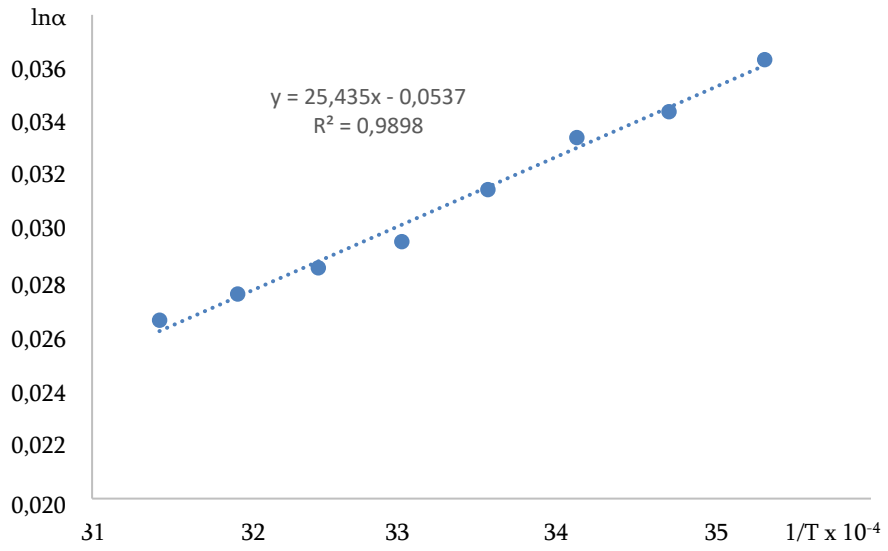
T (K)	(1/T) x 10^{-4}	k'_S	k'_R	α	ln k'_R	ln k'_S	lnα x 10^{-4}	ΔHs, cal/mol	ΔH_R, cal/mol	ΔSs, cal/mol	ΔS_R, cal/mol	$\Delta_{S,R}\Delta H$, cal/mol	$\Delta_{S,R}\Delta S$, cal/mol	TisoK
283.15	35.32	5,769	5,475	1,046	1,700	1,752	449,73							
288.15	34.70	5,795	5,493	1,047	1,703	1,757	459,29							
293.15	34.11	5,717	5,423	1,046	1,691	1,743	449,73							
298.15	33.54	5,704	5,406	1,047	1,688	1,741	459,29							
303.15	32.99	5,728	5,424	1,047	1,691	1,745	459,29							
308.15	32.45	5,776	5,463	1,048	1,698	1,754	468,84							
313.15	31.93	5,841	5,517	1,05	1,708	1,765	487,90							
318.15	31.43	5,915	5,577	1,051	1,719	1,777	497,42	750,92450	669,40940	5,91948	5,54430	74,52610	0,33524	222,30587
323.15	30.95	6,049	5,691	1,053	1,739	1,800	516,43							
328.15	30.47	6,221	5,838	1,056	1,764	1,828	544,88							
333.15	30.02	6,424	6,011	1,059	1,794	1,860	573,25							

ვხედავთ რომ ექსპერიმენტის მსვლელობისას ენანტიომერების ელუირების რიგი არ შეცვლილა, იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა გამოთვლებით არის 222k რას მიახლოებით -50°C ისე იგი ჩვენი ექსპერიმენტი ტარდებოდა იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურაზე მაღლა და დაყოფას აკონტროლებდა ენტროპია.

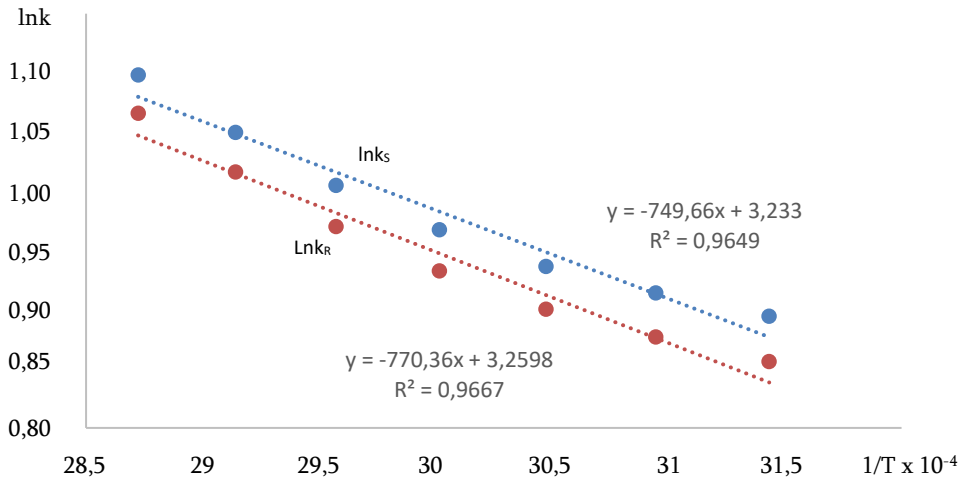
იგივე ექსპერიმენტი განვახორციელეთ ცელულოზა-2 სვეტზე მოძრავი ფაზა კვლავ ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1% ჭიანჭველმჟავაა ტემპერატურული შუალედი კი 10-75°C 5°Cბიჯით



ნახ.9: *ტემპერატურის გავლენა ფლურბიპროფენის ენანტიომერების დაყოფაზე ცელულოზა ტრის(3-ქლორო,4-მეთილფენილკარბამატის) ქირალურ სელექტორზე(ცელულოზა-2) 10°C, 40°C და 75°C-ზე. მოძრავი ფაზა HEX/EtOH 98.5/1.5+0.1%FA*



ნახ. 10: *სელექტიურობის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდესთან. სვეტი ცელულოზა-2 მოზრავი ფაზა HEX/EtOH 98.5/1.5+0.1%FA*



ნახ.11: *შეკავების ფაქტორის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სვეტი ცელულოზა-2 მოზრავი ფაზა HEX/EtOH 98.5/1.5+0.1%FA*

ცხრილი 3. ფლურბიპროფენი,მოძრავი ფაზა: HEX/EtOH 98,5/1,5% +0.1% FA სტაციონარული ფაზა ცელულოზა-2

T (K)	(1/T) x 10^{-4}	k'_S	k'_R	α	ln k'_R	ln k'_S	lnα x 10^{-4}	ΔHs, cal/mol	ΔH_R, cal/mol	ΔSs, cal/mol	ΔS_R, cal/mol	$\Delta_{S,R}\Delta H$, cal/mol	$\Delta_{S,R}\Delta S$, cal/mol	TisoK
283.15	35.32	2,542	2,414	1,037	0,8813	0,9330	363,32							
288.15	34.70	2,501	2,381	1,035	0,8675	0,9167	344,01							
293.15	34.11	2,46	2,347	1,034	0,8531	0,9002	334,35							
298.15	33.54	2,429	2,322	1,032	0,8424	0,8875	314,99							
303.15	32.99	2,413	2,312	1,03	0,8381	0,8809	295,59							
308.15	32.45	2,41	2,313	1,029	0,8385	0,8796	285,87							
313.15	31.93	2,417	2,323	1,028	0,8429	0,8825	276,15							
318.15	31.43	2,446	2,354	1,027	0,8561	0,8945	266,42					-50,54452	-0,10671	473,6499
323.15	30.95	2,494	2,403	1,027	0,8767	0,9139	266,42							
328.15	30.47	2,551	2,46	1,026	0,9002	0,9365	256,68							
333.15	30.02	2,631	2,541	1,025	0,9326	0,9674	246,93	1489,72705	1530,86217	6,42463	6,47789			
338.15	29.57	2,732	2,638	1,026	0,9700	1,0050	256,68							
343,15	29.14	2,857	2,763	1,025	1,0163	1,0498	246,93							
348,15	28.72	2,999	2,903	1,025	1,0657	1,0983	246,93							

როგორც ნახ.9-დან ჩანს არც ცელულოზა-2-ზე არ შეიცვალა ელუირების რიგი. ენანტიომერების გამოსვლის დროც ტემპერატურის მატებასთან ერთად იზრდება. მცირდება გარჩევითობა და სელექტივობა. თერმოდინამიკური პარამეტრები დათვლილია და ჩაწერილი ცხრილ 3-ში ვხედავთ რომ იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა ფლურბიპროფენისთვის ცელლულოზა 2 სვეტზე მოცემულ მოძრავ ფაზაში არის 473k, რაც 200°C უდრის. ენანტიომერების დაყოფას იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურის მიღწევამდე აკონტროლებს ენთალპია.

5. დასკვნები

- დაბალ ტემპერატურაზე $\boldsymbol{\Delta_{S,R}\Delta G^0}$-ზე, ძირითადად, გავლენას ახდენს ენთალპიის ცვლილება, ხოლო მაღალ ტემპერატურაზე - ენტროპიის ცვლილება. მაღალი და დაბალი ტემპერატურა აქ პირობითია, იგი იცლება ანალიზიდან ანალიზზე გადასვლის დროს.
- გადასვლა ენთალპიური კონტროლიდან ენტროპიულ კონტროლზე შეიძლება იმდენად ექსტრემალურ ტემპერატურაზე ხდებოდეს, რომ მისი დაკვირვება მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ანალიზით ვერ მოხერხდეს. რაც სახეზეა ამ ნაშრომში განხილულ მაგალითებში. ცელულოზა-1 და ცელულოზა-2 სვეტზე იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა იყო შესაბამისად -50°C და 200°C
- თერმოდინამიკური პარამეტრები იცვლება სტაციონალური ფაზის ცვლილებისას.
- ამილოზა 1 სვეტზე ენანტიომერების ადსორბციას აკონტროლებდა ენთალპია, ხოლო ცელულოზა 1 და ცელულოზა 2 სვეტზე ენტროპია
- ენანტიომერების დაყოფას ამილოზა 1 და ცელულოზა 2 სვეტზე აკონტროლებს ენთალპია ხოლო ცელულოზა 1 სვეტზე ენტროპია

6. გამოყენებული ლიტერატურა:

[1] გ. ჯიბუტი, ქირალური ნივთიერებების დაყოფის ოპტიმიზაცია მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით, თბილისი, 2014.

[2] ე. კაცაძე, „ზოგადი სტერეოქიმიის სალექციო კურსი," თბილისი, 2017.

[3] J.T. Liu R.H. Liu Enantiomeric composition of abused amine drugs: chromatographic methods of analysis and data interpretation. Journal of Biochemical and Biophysical Methods. 2002. Issue 54 (1-3). 115-146

[4] ბ. ჭანკვეტაძე, „ნარევთა დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები, სალექციო კურსი," თბილისი, 2015.

[5] მ. რუხაძე, „ნარევთა დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები, სალექციო კურსი," თბილისი, 2015.

[6] გ. ჯიბუტი, „რაოდენობრივი ანალიზი სითხურ ქრომატოგრაფიაში,“ *ფიზიკური ქიმია 4, ლაბორატორიულის კურსი*, თბილისი, 2017.

[7] B. Chankvetadze. Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis. West Sussex, England. Wiley & Sons L.T.D. 1997. 561.

[8] S. Fanali, P.R. Haddad, ß. Poole, C. Schoenmakers, . Lloyd, Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation.Waltham USA. Elsevier. 2013. 520

[9] ბ. ჭანკვეტაძე, გ. ბეზარაშვილი, *ფიზიკური ქიმია 1, ლექციების კურსი*, თბილისი, 2011, pp. 22, 23, 26, 30, 32, 34, 41, 72, 74, 75, 77, 81, 82, 83, 85, 89, 203, 210, 211, 213.

[10] ვ. კოკოჩაშვილი, ფიზიკური ქიმია, ტII, თბილისი: თსუ გამომცემლობა, 1972