

STRESZCZENIE

Praca doktorska dotyczyła badania mechanizmu sorpcji w chromatografii cieczerw oddziaływań hydrofilowych (HILIC) oraz określeniu wpływu właściwości faz stacjonarnych i warunków chromatograficznych na przebieg procesów sorpcji i retencji. Złożony charakter retencji w HILIC wynika ze współdziałania różnych procesów i oddziaływań pomiędzy analitem, fazą ruchomą i stacjonarną, których względny udział zależy m.in.: od składu fazy ruchomej, temperatury oraz właściwości analitu i fazy stacjonarnej.

Badania obejmowały ocenę wpływu temperatury oraz wpływu modyfikatora fazy ruchomej na retencję związków testowych, a także ocenę sprawności wybranych kolumn chromatograficznych HILIC. Przeprowadzono badania równowag adsorpcyjnych komercyjnych i niekomercyjnych adsorbentów, obejmujące analizę rozkładu energii adsorpcji, ocenę heterogeniczności energetycznej powierzchni oraz dobór i weryfikację modeli izoterm adsorpcji. Istotną część pracy stanowiła kompleksowa charakterystyka adsorbentów pod względem ich składu chemicznego, morfologii, rozkładu wielkości ziaren, wielkości i objętości porów, powierzchni właściwej i stabilności termicznej. Dodatkowo przeprowadzono badania chromatograficzne heparyny sodowej w celu oceny możliwości jej oznaczania w materiałach pochodzenia zwierzęcego z wykorzystaniem różnych układów chromatograficznych.

Wykazano, że mechanizm retencji w warunkach HILIC zależy od składu fazy ruchomej, własności fazy stacjonarnej oraz właściwości analitu. Dla większości badanych układów uzyskano liniowe zależności van't Hoffa, natomiast obserwowane dla wybranych układów, szczególnie dla kwercetyny, odchylenia od liniowości wskazywały na zmienny udział poszczególnych oddziaływań w procesie retencji. Stwierdzono również, że rodzaj modyfikatora organicznego wpływa na charakter retencji. Wykazano różnice w retencji badanych analitów w zależności od zastosowanego rozpuszczalnika organicznego (acetonitryl vs metanol). Najwyższą sprawność badanych kolumn uzyskano przy wysokiej zawartości acetonitrylu, natomiast zastosowanie metanolu prowadziło do obniżenia sprawności oraz w niektórych układach, do wzrostu ciśnienia w układzie chromatograficznym.

Badania adsorpcyjne wykazały, że powierzchnie badanych adsorbentów mogą charakteryzować się zarówno energetyczną jednorodnością, jak i heterogenicznością. W zależności od charakteru powierzchni proces adsorpcji opisywały modele: Langmuira, bi-Langmuira lub Tótha. Analiza SEM-EDS i ICP-MS potwierdziła krzemionkowy charakter badanych materiałów oraz wykazała zróżnicowanie ich morfologii i składu pierwiastkowego. Stwierdzono również różnice w powierzchni właściwej oraz objętości i wielkości porów

badanych adsorbentów. Analiza TG-DTG potwierdziła wysoką stabilność termiczną badanych adsorbentów w zakresie temperatur stosowanych w badaniach chromatograficznych.

Przeprowadzona analiza chromatograficzna heparyny sodowej z wykorzystaniem różnych faz stacjonarnych wykazała, że dobór warunków chromatograficznych pozwala na uzyskanie zróżnicowanych parametrów rozdzielania i czasu analizy. Kolumna C18 zapewniała korzystne parametry rozdzielania przy krótszym czasie analizy niż metoda referencyjna opisana w farmakopei, kolumna węglowa umożliwiała dalsze skrócenie czasu oznaczenia, natomiast kolumna aminopropylowa zapewniała większą selektywność separacji. Zastosowanie buforowanej fazy ruchomej pozwalało dodatkowo skrócić czas retencji przy zachowaniu zadowalających parametrów rozdzielania.

Uzyskane wyniki pozwoliły na pogłębienie wiedzy dotyczącej czynników wpływających na retencję w warunkach HILIC oraz na powiązanie właściwości faz stacjonarnych z charakterem procesów sorpcyjnych i chromatograficznych. Przeprowadzone badania dostarczyły również informacji istotnych z punktu widzenia doboru warunków chromatograficznych do oznaczania heparyny sodowej w materiałach pochodzenia zwierzęcego.