

Диапазон размеров разделяемых молекул определяется диапазоном размеров пор стационарной фазы. Высокомолекулярные вещества, размер которых превышает максимальный размер пор материала колонки, мигрируют с большей скоростью между частицами неподвижной фазы, не задерживаясь и элюируются в свободном объеме колонки (V_0 – объем колонки за вычетом объема стационарной фазы, соответствует объему удерживания компонентов, размер молекул которых больше, чем наибольшие поры сорбента). Молекулы с наименьшей молекулярной массой свободно проходят в поры сорбента вместе с молекулами растворителя, задерживаясь в них, и элюируются последними. Их объем удерживания близок к общему объему колонки (V_t или общий объем подвижной фазы, соответствующий объему удерживания компонентов, размер молекул которых меньше, чем наименьшие поры сорбента). Распределение молекул по размерам и молекулярной массе происходит в диапазоне между свободным объемом (V_0) и общим объемом колонки (V_t), представляющим собой диапазон эксклюзии колонки. Наиболее эффективное распределение происходит в первые две трети данного диапазона.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Метод эксклюзионной хроматографии используется в качественном и количественном анализе лекарственных средств в различных испытаниях, указанных в ОФС «Высокоэффективной жидкостной хроматографии».

Определение относительного компонентного состава смесей.

Эксклюзионная хроматография применяется для разделения смесей, компоненты которых достаточно различаются по молекулярной массе, например, в лекарственных средствах белковой природы.

Разделение проводят по методике, указанной в фармакопейной статье и нормативной документации. Регистрируют хроматограмму и измеряют площади соответствующих пиков. Относительное содержание каждого компонента рассчитывают как отношение площади пика искомого компонента к сумме площадей пиков всех компонентов смеси. Если для