

градиентного элюирования, в процессе которого для каждого белка создаются условия быстрой десорбции.

Градиентное элюирование

Величина среднего фактора ёмкости (k), характеризующего удерживание сорбента в условиях градиентного элюирования, прямо пропорциональна продолжительности градиента и обратно пропорциональна разнице в содержании органического растворителя в начальной и конечной точках градиента. Для получения удовлетворительных значений k ($1 \leq k \leq 10$) для молекул белков цитокинов и интерферонов необходимо использовать разделение с продолжительным временем градиента и, по возможности, с меньшей разницей в содержании органического растворителя в начальной и конечной точках градиента. Как правило, продолжительность градиента в большинстве методик анализа цитокинов и интерферонов не превышает 60 мин.

Другим важным параметром является крутизна градиента – изменение процентного содержания ацетонитрила в подвижной фазе в единицу времени. В связи с тем, что в препаратах цитокинов и интерферонов наряду с основным действующим веществом содержатся, как правило, близкородственные примеси, нужно задавать необходимую пологую форму градиента ($\approx 1\%$ в мин), которая позволяет обеспечить достаточно четкое разрешение пиков для определения чистоты препарата.

Выбор подвижной фазы. В обращённофазной хроматографии подвижная фаза состоит из буферного раствора и органического растворителя. При разделении белков и пептидов в состав растворов подвижной фазы, как правило, входят разбавленные растворы кислот: фосфорной, трифторуксусной, муравьиной, уксусной или гептафтормасляной.

В качестве органического компонента подвижной фазы при анализе белков и пептидов методом ОФ ВЭЖХ наиболее часто используется ацетонитрил, обладающий низкой вязкостью и низким поглощением в УФ