

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
"Новосибирский национальный исследовательский государственный университет"

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе НГУ

_____С.Г. Саблина

" ____ " _____ 2016 г.

ПРОГРАММА

повышения квалификации

по направлению **Высокоэффективная жидкостная хроматография**

общая трудоемкость программы **40 часов**

форма обучения **очная**

образовательные технологии: **лекционное обучение, обучение с помощью
видеоинформационных технических средств, компьютерное обучение,
практические занятия, консультации.**

Разработал:
д-р. хим. наук, проф. Г.И. Барам

Новосибирск, 2016

1. Цель реализации программы:

Программа соответствует актуальности и задачам Плана мероприятий по реализации программы повышения конкурентоспособности НГУ среди ведущих мировых научно-образовательных центров на 2013–2020 гг. в части становления НГУ ведущим центром обучения в России, Центральной и Северной Азии и Восточной Европы, готовящего высококвалифицированных специалистов для научной и инновационной деятельности, производящего новые научные знания и содействующего их эффективному применению.

В рамках программы для целей повышения квалификации специалистов и сотрудников химико-аналитических лабораторий по теме "Высокоэффективная жидкостная хроматография" (ВЭЖХ) используется уникальное программное обеспечение – Тренажер "Виртуальный жидкостный хроматограф". Привлечение информационных технологий в образовательный процесс обеспечивает значительное повышение конкурентоспособности НГУ на глобальном рынке образовательных услуг. Обучение с использованием тренажера сложного аналитического прибора – жидкостного хроматографа, – является креативной и нигде в мире, кроме НГУ, до сих пор полноценно не реализованной опережающей технологией.

Кроме указанных преимуществ использование Тренажера "Виртуальный жидкостный хроматограф" позволяет решить задачу снижения затрат на обучение без добавления учебных часов. Обоснованность этого подхода обусловлена, как минимум, двумя обстоятельствами:

- современные жидкостные хроматографы максимально автоматизированы, управляются компьютерами с помощью специальных программ, и обучение работе на них сводится, практически, к освоению программного обеспечения;

- современное состояние теории хроматографии позволяет с хорошей точностью предсказывать результаты анализа, т.е. эмулировать хроматограммы при изменении условий эксперимента в достаточно широких пределах.

Таким образом, программный комплекс, в основе которого лежат математические модели хроматографа и хроматографического процесса, включающий в себя управляющую программу, программу математической обработки хроматограмм и программу, эмулирующую хроматограммы, представляет собой виртуальный хроматограф. В отличие от реального хроматографа, он во много раз дешевле, не требует расходуемых материалов, ремонта и технического обслуживания, не загрязняет окружающую среду. Поскольку продолжительность виртуального хроматографического эксперимента составляет всего несколько секунд, количество анализов, которые может сделать слушатель в течение отведенного времени, измеряется десятками. Что особенно важно, обучение на виртуальном хроматографе нет необходимости делать групповым. Каждый слушатель получает персональное задание, и обучение превращается в индивидуальное.

В Тренажер "Виртуальный жидкостный хроматограф" включены также такие программные продукты, как "Мастер подготовки образцов", "Генератор хроматограмм" и "Оптимизатор градиента и температуры".

"Мастер подготовки образцов" позволяет готовить растворы из 30 веществ в широком диапазоне концентраций для последующего хроматографического анализа.

"Генератор хроматограмм" позволяет вычислять типичные хроматографические параметры для пиков веществ с задаваемыми значениями факторов удерживания, хроматографируемых на колонках с задаваемыми размерами и эффективностью. Результаты представляются в табличном виде и в виде хроматограмм.

"Оптимизатор градиента и температуры" предназначен для отображения хроматограмм, генерируемых сразу после изменения параметров градиента и значения температуры, что дает возможность быстро и в наглядной форме улучшать условия разделения.

Все эти программные продукты позволяют реализовать главную цель программы "Высокоэффективная жидкостная хроматография" – сформировать у слушателей целостное

представление о методе хроматографии, познакомить с современным состоянием метода, а так же получить понятия, связанные с принципами работы современных хроматографических приборов и элементов, входящих в их состав, функционирование которых обеспечивает возможности жидкостной хроматографии для решения различных аналитических задач.

Наглядная демонстрация принципов процесса разделения веществ на хроматографических колонках, механизмов удерживания, причин уширения пиков во время процесса хроматографирования дает возможность специалистам грамотно использовать имеющиеся оборудование и программное обеспечение, с пониманием относиться к результатам своей работы.

Для достижения поставленной цели выделяются задачи курса:

- доступно донести до слушателя основные теоретические положения рассматриваемых вопросов;
- продемонстрировать практическую значимость получаемых знаний на примерах – современных достижениях в области науки о колоночном разделении веществ.

2. Категория слушателей: сотрудники химико-аналитических лабораторий (фармацевтические производства, центры контроля качества продуктов питания и фармпрепаратов, центры стандартизации и метрологии, судебно-медицинские экспертные организации, наркологические диспансеры, научно-исследовательские институты и т.д.), имеющие диплом о высшем или о среднем специальном образовании.

3. Планируемые результаты обучения:

В результате освоения программы слушатели должны:

- иметь представление о принципах и механизмах хроматографического анализа, о количественных и качественных возможностях современного хроматографического оборудования, о месте хроматографии в аналитической химии органических и биологически-активных веществ;
- знать о том, какие существуют способы хроматографического анализа и как их можно применять в зависимости от поставленной аналитической задачи;
- уметь предсказывать и объяснять наиболее вероятные результаты хроматографирования веществ-аналитов на колонках с различными адсорбентами в различных условиях, изменять эти условия для достижения необходимой степени разделения веществ и необходимой чувствительности и точности анализа.

Профессиональные компетенции в соответствии с направлением подготовки 04.03.01 Химия:

- обладает навыками химического эксперимента, основными синтетическими и аналитическими методами получения и исследования химических веществ и реакций (ПК-4);
- обладает базовыми навыками работы на современных учебно-научных приборах и оборудовании при проведении химических экспериментов (ПК-6);
- владеет методами регистрации и обработки результатов химически экспериментов (ПК-8);

4. Срок обучения: 40 часов.

5. Форма обучения: лекции, обучение с помощью видеoinформационных технических средств, практические занятия (практикум) на компьютерном тренажере "Виртуальный жидкостный хроматограф" и на высокоэффективном жидкостном хроматографе "Милихром А-02", консультации, зачет. С отрывом от работы.

6. Режим занятий: с 09.00 до 18.00 с перерывом с 13.00 до 14.00.

Учебно-тематический план

Наименование разделов/модулей (тем, дисциплин)	Всего, час.	В том числе:		
		Лекции	Практические, лабораторные, семинарские занятия	Форма аттестации
Введение. История развития жидкостной хроматографии (ЖХ) и её место в химическом анализе. Типы аналитических задач, решаемых с применением ЖХ.	2	2	–	зачет
Формальная хроматография. Хроматографический пик и хроматограмма. Основные термины и закономерности в ЖХ. Влияние скорости потока подвижной фазы, размера частиц адсорбента, температуры, состава подвижной фазы, давления, длины и диаметра колонки, нагрузки на колонку и пр. на эффективность и скорость разделения. Компьютерные модели предсказания хроматограмм и оптимизации разделения.	2	2	–	
Механизмы хроматографии. Адсорбционная, распределительная и эксклюзионная хроматография. Типы взаимодействий между молекулами. Удерживание молекул в системе "подвижная фаза/неподвижная фаза". Селективность обращенных фаз.	2	2	–	
Неподвижные фазы для ВЭЖХ. Типы и классификация адсорбентов. Методы синтеза важнейших адсорбентов и их свойства. Сравнение обращенных фаз.	1	1	–	
Подвижные фазы для ВЭЖХ. Состав подвижной фазы для обращенно-фазовой ВЭЖХ. Элюотропный ряд органических растворителей. Ион-парная ВЭЖХ. Состав подвижной фазы и селективность. Нормально фазовая и обращенно-фазовая ВЭЖХ. Гидрофильная ВЭЖХ. ВЭЖХ ионов.	1	1	–	
Аппаратура для ВЭЖХ. Современный аналитический хроматограф и устройство его основных узлов. Автоматизация хроматографического анализа. Специализированные аналитические комплексы на основе жидкостных хроматографов. Хроматографы для сверхбыстрых и сверхэффективных разделений.	2	2	–	
Детектирование в ВЭЖХ. Типы детекторов в ЖХ, их возможности и недостатки. УФ-детектирование. Материальный баланс в хроматографии. Принципы многоканального детектирования в ВЭЖХ. Чистота (гомогенность) хроматографического пика. Пред- и постколоночная дериватизация. Прямое и косвенное детектирование.	2	2	–	
Подготовка образца для ВЭЖХ. Основные методические приемы при работе с микрообъемами (фильтрование, упаривание, перемешивание и т.д.). Твердофазная экстракция. Примеры подготовки образцов для ВЭЖХ.	1	1	–	
Базы данных в ВЭЖХ. Принципы создания баз данных для ВЭЖХ. Многоканальное детектирование. Валидация методики. Базы данных "ВЭЖХ-УФ". Примеры применения базы данных "БД-2003".	2	2	–	
Применение ВЭЖХ в медицине. ВЭЖХ в медицине, фармакологии и в фармацевтике. Примеры применения ВЭЖХ для определения лекарственных средств и их метаболитов в крови.	2	2	–	

Наименование разделов/модулей (тем, дисциплин)	Всего, час.	В том числе:		
		Лекции	Практические, лабораторные, семинарские занятия	Форма аттестации
<p>Компьютерный тренажер "Виртуальный жидкостный хроматограф". Устройство хроматографа "Милихром А-02", освоение программы управления хроматографом и программы обработки данных. Получение хроматограмм в изократическом и градиентном режимах хроматографирования. Оптимизация хроматографического анализа. Решение типовых задач:</p> <ul style="list-style-type: none"> • исследование зависимости фактора удерживания (k') вещества от концентрации ацетонитрила в подвижной фазе в обращенно-фазовой ВЭЖХ; • исследование связи фактора разделения (α) с эффективностью колонки (N) и разрешением пиков (R_s); • определение предела чувствительности методики; • валидация хроматографической методики анализа; • градуировка хроматографа для выполнения количественного анализа; • идентификация пика вещества на хроматограмме с использованием базы данных "ВЭЖХ-УФ"; • определение концентрации кофеина в чае, используя полученную калибровочную зависимость и базу данных "БД-2003"; • разработка оптимальной методики определения салициловой кислоты в лекарственном средстве "Ацетилсалициловая кислота"; • разработка оптимальной методики определения парацетамола, кофеина, ацетилсалициловой и салициловой кислоты в лекарственном средстве "Цитрамон-П". 	10	-	10	зачет
<p>Жидкостный хроматограф "Милихром А-02". Решение типовых задач:</p> <ul style="list-style-type: none"> • исследование зависимости фактора удерживания (k') вещества от концентрации ацетонитрила в подвижной фазе в обращенно-фазовой ВЭЖХ; • запись УФ-спектра раствора аналита в процессе хроматографирования и идентификация вещества по эталонному спектру; • многоволновая детекция, вычисление спектральных отношений и идентификация веществ по базе данных "ВЭЖХ-УФ"; • калибровка хроматографа и выполнение количественного анализа; • определение содержания кофеина в напитках (чай, кофе, "Кока-Кола" и др.), используя полученную калибровочную зависимость и базу данных "БД-2003"; • определение салициловой кислоты в лекарственном средстве "Ацетилсалициловая кислота" с помощью разработанной на "Виртуальном жидкостном хроматографе" методики анализа. 	9	-	9	-
Консультация	1			
Итоговая аттестация	3			зачет
Итого	40	17	19	

7. Условия реализации программы повышения квалификации:

Обучение проводится на площадях НОЦ "Хроматография" НГУ, оборудованных:

- лекционной аудиторией;
- средствами визуализации учебного материала (проектор);
- компьютерным тренажерным классом на 10 мест (ноутбуки с предустановленным программным обеспечением – учебным пособием "Виртуальный жидкостный хроматограф");
- лабораторным помещением для проведения практических занятий, оснащенным необходимым общелабораторным оборудованием и лабораторной посудой для проведения качественного и количественного химического анализа. Лаборатория оснащена необходимой специализированной мебелью, включая вытяжной шкаф, лабораторные химические столы;
- тремя высокоэффективными жидкостными хроматографами "Милихром А-02" с обращенно-фазными колонками. Хроматографы оснащены компьютерами с программами регистрации и обработки данных.
- Обучение проводит доктор химических наук, профессор, руководитель НОЦ "Хроматография" Григорий Иосифович Барам.

8. Правила аттестации:

Освоение программы слушателями проводится в форме зачета. Устная часть содержит ответы на теоретические вопросы к лекционной части курса.

Обязательным условием получения зачета является решение контрольной задачи с применением Тренажера "Виртуальный жидкостный хроматограф". Во время защиты решения задачи слушатель должен объяснить ход решения и обосновать его правильность с привлечением теоретических знаний полученных в соответствующем разделе лекционного курса.

Приобретение компетенций ПК-4, ПК-6 и ПК-8 слушатель подтверждает в ходе ответов на 3 вопроса преподавателя (п. 9.1.) и решения одной контрольной задачи (п. 9.2.). Слушатель получает зачет при условии выполнения не менее 60% задания.

9. Оценочные материалы:

9.1. Перечень вопросов по теории ВЭЖХ к зачету по программе повышения квалификации.

1. Основные узлы аналитического хроматографа для ВЭЖХ. Требования, предъявляемые к их главным характеристикам.
2. Основные типы адсорбентов для ВЭЖХ, синтезированных на основе силикагеля. Принципы их синтеза и применимость для решения различных аналитических задач.
3. Взаимосвязь таких параметров хроматографического процесса, как давление, скорость потока элюента, вязкость элюента, диаметр колонки, длина колонки, размер частиц адсорбента. Классификация ВЭЖХ по размерам колонок.
4. Адсорбционная жидкостная хроматография. Типы взаимодействий молекул адсорбата с адсорбентом.
5. Многоканальное детектирование в жидкостной хроматографии. Принципы идентификации веществ и оценка гомогенности хроматографического пика с использованием информации, получаемой при многоканальном детектировании.
6. Основы распределительной жидкостной хроматографии. Нормальная и обращенная фазы.
7. Фотометрическое и спектрофотометрическое детектирование в ВЭЖХ. Преимущества и ограничения.
8. Основные принципы и приемы подготовки образцов для анализа методом ВЭЖХ.
9. Главные области применения ВЭЖХ в современной аналитической химии.

10. Эффективность, селективность, пиковая емкость и разрешение колонки.
11. Принципы построения баз данных для ВЭЖХ.
12. История развития жидкостной хроматографии. Основные исторические этапы.
13. Детекторы жидкостных хроматографов. Общие требования. Специфические возможности. Прямое и непрямое (косвенное) детектирование.
14. Обращенно-фазовая ВЭЖХ. Аналитические возможности. Ион-парная хроматография.

9.2. Примеры задач к зачету по программе повышения квалификации

1. Разделить вещества А, В, С, ... на колонке с обращенной фазой с разрешением $R_s=1,5-2$ за минимальное время.
2. Идентифицировать пики веществ А, В, С, ... на хроматограмме с применением метода "внешнего стандарта".
3. Идентифицировать пики веществ А, В, С, ... на хроматограмме с применением метода "спектральных отношений".
4. Идентифицировать пики веществ А, В, С, ... на хроматограмме с применением Базы данных "ВЭЖХ-УФ".
5. Построить градуировочный график для вещества А (В, С, ...) в диапазоне концентраций 1-1000 мг/л.
6. Определить концентрацию вещества А (В, С, ...) в контрольном растворе.

10. Литература:

10.1. Основная литература

1. **Ettre L.S. (Editor)**. Nomenclature for Chromatography. IUPAC Recommendations. *Pure & Appl. Chem.*, 1993, v. 65, No. 4, p. 819-872.
2. **Fanali S., Haddad P. R., Poole C. F., Schoenmakers P., Lloyd D.** (Editors). Liquid Chromatography: Applications. *Elsevier Inc.*, 2013, 683 pp.
3. **Kazakevich Yu., LoBrutto R.** (Editors). HPLC for Pharmaceutical Scientists. *Wiley-Interscience*, 2007, 1135 p.
4. **Kromidas S.** More Practical Problem Solving in HPLC. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, 2005, 306 p.
5. **Meyer V. R.** Practical High-Performance Liquid Chromatography, 5th Edition. *John Wiley and Sons, Ltd.*, 2010, 428 p.
6. **Snyder L. R., Kirkland J. J., Dolan W.** Introduction to modern liquid chromatography, 3rd Edition. *John Wiley & Sons, Inc.*, 2010, 957 p.
7. **Барам Г.И.** Развитие метода микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии и его применение для исследования объектов окружающей среды. *В кн. "100 лет хроматографии"*, (ред. Руденко Б.А.), Москва, Наука, 2003, С.32-60.
8. **Барам Г. И., Барам Е. Г.** Практикум по ВЭЖХ на виртуальном хроматографе. Новосибирск, ООО «Академ-принт», 2015. 88 с.
<http://econova.ru/applications/production/production.php?set=vchrom&id=>
9. **Беккер Ю.** Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза. М., "Техносфера", 2009, 472 с.
10. **Даванков В. А.** (Редактор). Хроматография. Основные понятия. Терминология. *Сборники научно-нормативной терминологии. Выпуск 114. М., 1997, 48 с.*
http://econova.ru/applications/publication/files/publication_collections_4.pdf
11. **Кэц Э.** (Редактор). Количественный анализ хроматографическими методами. М., "Мир", 1990, 320 с.
12. **Рудаков О. Б., Востров И. А., Федоров С. В., Филиппов А. А., Селеменев В. Ф., Приданцев А. А.** Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. Воронеж, изд. "Водолей", 2004, 528 с.
13. **Руденко Б.А., Руденко Г.И.** Высокоэффективные хроматографические процессы. Том 2. Процессы с конденсированными подвижными фазами. М., "Наука", 2003. 288 с.

14. **Садек П.** Растворители для ВЭЖХ. М., изд. "БИНОМ. Лаборатория знаний", 2006, 704 с.
15. **Сакодынский К. И., Бражников В. В., Волков С. А., Зельвенский В. Ю., Ганкина Э. С., Шатц В. Д.** Аналитическая хроматография. М., "Химия", 1993, 464 с.
16. **Селеменов В.Ф.** (Редактор). Спутник хроматографиста. Воронеж. Изд. "Водолей". 2004. 528 с.
17. **Стыскин Е. Л., Ициксон Л. Б., Брауде Е. Б.** Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. М., "Химия", 1986, 288 с.
18. **Хенке Х.** Жидкостная хроматография. М., "Техносфера", 2009, 264 с.
19. **Хеншен А., Хупе К.-П., Лотшпайх Ф., Вёлтер В.** (Редакторы). Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии. М., "Мир", 1988, 688 с.
20. **Хубер Л.** Применение диодно-матричного детектирования в ВЭЖХ. М., "Мир", 1993, 95 с.
21. **Шаповалова Е.Н., Пирогов А.В.** Хроматографические методы анализа. Методическое пособие для специального курса. М., изд. МГУ. 2007. 109 с.
www.chem.msu.ru/rus/teaching/analyt/chrom/part1.pdf
22. **Шатц В. Д., Сахартова О. В.** Высокоэффективная жидкостная хроматография. Основы теории. Методология. Применение в лекарственной химии. Рига, "Зинатне", 1988, 390 с.

10.2. Дополнительная литература

1. **Ahuja S., Dong M. W. (Editors).** Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC. Elsevier Inc., 2005, 679 p.
2. **Bliesner D. M.** Validating Chromatographic Methods. A Practical Guide. John Wiley & Sons, Inc., 2006, 297 p.
3. **Cazes J. (Editor).** Encyclopedia of Chromatography, Third Edition. Volumes I-III. CRC Press, Taylor & Francis Group, 2010, 2518 p.
4. **Cecchi T.** Ion-Pair Chromatography and Related Techniques Analytical Chemistry. CRC Press, Taylor & Francis Group, 2010, 218 p.
5. **Corradini D., Phillips T. M. (Editors).** Handbook of HPLC, 2nd Edition. CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011, 713 p.
6. **Dong M. W.** Modern HPLC for practicing scientists. Wiley-Interscience, 2006, 306 p.
7. **Gooding K. M., Regnier F. E. (Editors).** HPLC of Biological Macromolecules, 2nd Edition. Marcel Dekker, Inc., 2002, 792 p.
8. **Guillarme D., Veuthey J.-L. (Editors).** UHPLC in Life Sciences. The Royal Society of Chemistry, 2012, 447 p.
9. **Scott R. P. W.** Chromatographic Detectors. Design, Function, and Operation. Marcel Dekker, Inc., 1996, 545 p.
10. **Smith R. M. (Editor).** Retention and selectivity in liquid chromatography. Prediction, standardisation and phase comparisons. Elsevier Science B.V., 1995, 479 p.
11. **Snyder L. R., Dolan W.** High-Performance Gradient Elution. The Practical Application of the Linear-Solvent-Strength Model. Wiley-Interscience, 2007, 488 p.
12. **Snyder L. R., Kirkland J. J., Glajch J. G.** Practical HPLC Method Development, 2nd Edition. Wiley-Interscience, 1997, 800 p.
13. **Waksmundzka-Hajnos M., Sherma J. (Editors).** High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis. CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011, 998 p.
14. **Даванков В. А., Навратил Дж., Уолтон Х.** Лигандообменная хроматография. М., "Мир", 1990, 294 с.
15. **Исии Д. (Редактор).** Введение в микромасштабную высокоэффективную жидкостную хроматографию. М., "Мир", 1991, 240 с.
16. **Киркленд Дж. (Редактор).** Современное состояние жидкостной хроматографии. М., "Мир", 1974, 325 с.

17. **Схунмакерс П.** Оптимизация селективности в хроматографии. М., "Мир", 1989, 399 с.

10.3. Интернет-ресурсы

http://libserv.library4science.com/book_pdfs.html?FreeBro=Free%20Books&SITEVARS=Array

1. **R.P.W.Scott.** Principles and Practice of Chromatography. *Libraryforscience, LLC.* 2003. 106 pp.
2. **R.P.W.Scott.** Liquid Chromatography. *LIBRARY4SCIENCE, LLC.* 2003. 106 pp.
3. **R.P.W.Scott.** Liquid Chromatography Detectors. *LIBRARY4SCIENCE, LLC,* 2003. 112 pp.