МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Сверхкритическая флюидная хроматография** |  | **ОФС.1.2.1.2.0006** |
|  |  | **Взамен ОФС.1.2.1.2.0006.15** |

|  |
| --- |
|  |

Cверхкритическим флюидом или сверхкритической жидкостью называется вещество, находящееся при значениях температуры и давления выше критических, при которых свойства вещества являются промежуточными между свойствами жидкости и газа. Хроматографический процесс, в котором в качестве подвижной фазы используют жидкость в сверхкритическом состоянии или около него, называется сверхкритической флюидной хроматографией.

Сверхкритическая флюидная хроматография основана на механизмах адсорбции или распределения масс.

С точки зрения применения флюида в качестве подвижной фазы в хроматографии важны его плотность, коэффициенты диффузии и вязкость:

- коэффициенты диффузии в сверхкритических фазах примерно на порядок больше коэффициентов диффузии в жидкостях, но примерно на порядок меньше, чем в газах;

- вязкость сверхкритических флюидов примерно на порядок меньше, чем жидкостей, но примерно на порядок больше, чем газов;

- растворяющая способность вещества в состоянии сверхкритического флюида больше, чем в состоянии газа;

- плотность основных флюидов, используемых в хроматографии, примерно на 2–3 порядка больше плотности газов и в несколько раз меньше плотности соответствующих жидкостей.

Применительно к сверхкритической флюидной хроматографии это означает что:

- достигаются меньшие времена анализа по сравнению с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ);

- оптимальное значение линейной скорости потока выше, чем в ВЭЖХ;

- падение давления на колонке значительно меньше, чем в ВЭЖХ, что даёт возможность использования колонок большей длины;

- хроматографическая эффективность в сверхкритической флюидной хроматографии выше, чем в ВЭЖХ (хотя и ниже, чем в газовой хроматографии).

- проведение разделения при более низких температурах, чем это принято в газовой хроматографии, без существенной потери эффективности;

- проведение разделения соединений с большей молекулярной массой, чем это допускается в газовой хроматографии.

**Оборудование**

хроматографическая система для сверхкритической флюидной хроматографии состоит из охлаждаемой насосной системы, инжектора, хроматографической колонки, помещённой в термостат, детектора, автоматического регулятора давления и системы сбора и обработки данных.

***Насосная система*** необходима для подачи подвижной фазы с постоянной скоростью потока. Колебания давления должны быть сведены к минимуму, например, путём пропускания растворителя под давлением через устройство гашения импульсов. Трубки и соединения должны выдерживать создаваемое насосной системой давление.

Системы с микропроцессорным управлением подают подвижную фазу в постоянных или изменяющихся условиях в соответствии с заданной программой. В случае градиентного элюирования используют насосные системы, подающие растворители из нескольких резервуаров, а смешивание растворителей достигается как положительным, так и отрицательным давлением насосов.

***Инжекторы.*** Ввод пробы осуществляют непосредственно в колонку с помощью специального крана-дозатора.

***Неподвижные фазы***, используемые в сверхкритической флюидной хроматографии, аналогичны применяемым в ВЭЖХ (набивные колонки) и в газовой хроматографии (капиллярные колонки). Максимальный внутренний диаметр капиллярной колонки 100 мкм. Хроматографическая колонка должна быть термостатирована и в ней должно поддерживаться определённое давление. Для этого используют специальные устройства – автоматические регуляторы давления.

***Подвижные фазы.*** В качестве подвижной фазы в сверхкритической флюидной хроматографии используют различные жидкости, однако чаще всего используют углерода диоксид с различными полярными модификаторами. Это обусловлено его прозрачностью в ультрафиолетовой и видимой областях спектра, низкой токсичностью, отсутствием запаха и дешевизной. В качестве полярных модификаторов используют метанол, 2-пропанол, ацетонитрил и циклические эфиры.

В качестве других подвижных фаз применяют азота(I) оксид, аммиак, метанол, *н-*бутан, диэтиловый эфир, дифтордихлорметан.

Состав, давление или плотность, температура и скорость потока предписанной подвижной фазы могут быть либо постоянными на протяжении всей хроматографической процедуры (изократическое, изоплотностное, изотермическое элюирование), либо могут изменяться в соответствии с заданной программой (градиентное элюирование модификатора, давление или плотность, температура или скорость потока).

***Детекторы.*** Наиболее часто в сочетании со сверхкритической флюидной хроматографией используют спектрофотометрический и пламенно-ионизационный детекторы. Кроме того, возможно применение и других детекторов, используемых в ВЭЖХ и газовой хроматографии, таких как масс-спектрометрический, пламенно-фотометрический, электронозахватный, флуориметрический, ИК-детектор, катарометр и детектор светового рассеяния.

**Методика**

Готовят испытуемые и стандартные растворы, проводят определение как описано в методике испытания. Растворы не должны содержать твёрдых частиц.

Критерии пригодности хроматографической системы и диапазоны допустимых изменений хроматографических параметров описаны в ОФС «Хроматография».

Проводят определение, как описано в методике испытания.