

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
Химический факультет

УТВЕРЖДАЮ

И.о. декана химического факультета,
Чл.-корр. РАН, профессор



/С.Н. Калмыков/

«20» мая 2019 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)
Элюирование с градиентом рН в жидкостной хроматографии

Уровень высшего образования:
Специалитет

Направление подготовки (специальность):
04.05.01 Фундаментальная и прикладная химия

Направленность (профиль) ОПОП:
Аналитическая химия

Форма обучения:
очная

Рабочая программа рассмотрена и одобрена
Учебно-методической комиссией факультета
(протокол №3 от 13.05.2019)

Москва 2019

Рабочая программа дисциплины разработана в соответствии с самостоятельно установленным МГУ образовательным стандартом (ОС МГУ) для реализуемых основных профессиональных образовательных программ высшего образования по направлению подготовки / специальности 04.05.01 «Фундаментальная и прикладная химия» (программа специалитета), утвержденного приказом МГУ от 29 декабря 2018 года № 1770 (с изменениями по приказу № 1109 от 11.09.2019).

Год (годы) приема на обучение 2019/2020, 2020/2021

1. Место дисциплины (модуля) в структуре ООП: вариативная часть ООП, блок ПД.

2. Планируемые результаты обучения по дисциплине, соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями выпускников). Соответствие результатов обучения по данному элементу ОПОП результатам освоения ОПОП (в форме компетенция – индикатор - ЗУВ) указано в Общей характеристике ОПОП.

Компетенция	Индикаторы достижения	Планируемые результаты обучения по дисциплине(модулю)
СПК-2.С. Способен применять законы, лежащие в основе Различных хроматографических методов, использующих градиентное элюирование, в том числе с привлечением информационных баз данных	СПК-2.С.2 Предлагает физически корректное объяснение полученным аналитическим результатам	Знать: законы, лежащие в основе методов градиентного элюирования в хроматографии. Уметь: выбирать и обосновывать хроматографические системы для создания градиента рН требуемой формы в зависимости от поставленной задачи, правильно выбирать условия эксперимента для хроматографического разделения. Владеть: основными химическими теориями, концепциями, законами, описывающими градиентное элюирование в хроматографии, и применять основные законы химии при обсуждении полученных результатов, в том числе с привлечением информационных баз данных.
СПК-3.С. Способен сопоставлять возможности и области применения, достоинства и недостатки различных методов аналитической химии	СПК-3.С.1 Планирует схему анализа с учетом возможностей конкретного метода	Знать: достоинства и недостатки различных способов формирования градиентов рН в хроматографии Уметь: сопоставлять возможности и области применения различных способов формирования градиентов рН требуемой формы Владеть: навыками планирования и осуществления химического анализа, использующего градиенты рН для решения практических задач при хроматографическом разделении.
СПК-4.С. Способен анализировать научную литературу с целью выбора методов для решения конкретных аналитических задач, самостоятельно планировать исследования	СПК-4.С.1 Сопоставляет данные разных источников и предлагает возможные способы решения конкретных аналитических задач	Знать: основные поисковые системы, базы данных и ведущие периодические издания по аналитической химии. Уметь: анализировать научную литературу с целью выбора хроматографической системы для создания градиента рН при решении конкретных аналитических задач Владеть: навыками к интерпретации и обсуждения результатов проведенного исследования, основываясь на современной литературе по теории и практике методов градиентного элюирования в жидкостной хроматографии

3. Объем дисциплины в зачетных единицах с указанием количества академических или астрономических часов, выделенных на контактную работу обучающихся с преподавателем (по видам учебных занятий) и на самостоятельную работу обучающихся:

Объем дисциплины (модуля) составляет 2 зачетных единицы, всего 72 часа, из которых 36 часа составляет контактная работа студента с преподавателем (18 часов занятия лекционного типа, 12 часов – занятия семинарского типа, 4 часа – групповые консультации, 2 часа – промежуточный контроль успеваемости), 36 часов составляет самостоятельная работа студента.

4. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия.

Обучающийся должен

знать: место современных хроматографических методов в практике химического анализа, их значение; физико-химические основы жидкостной хроматографии; области применения, достоинства и недостатки различных систем для жидкостной хроматографии; основные способы элюирования (изократический и градиентный), их достоинства и ограничения.

уметь: выбирать и обосновывать выбор хроматографических систем (схем) для разделения биологически важных макромолекулярных веществ, органических соединений, неорганических катионов и анионов, лекарственных препаратов и т.д. в зависимости от природы разделяемых аналитов, а также от условий эксперимента; обсуждать результаты проведенного исследования; ориентироваться в современной литературе по теории хроматографических методов и их применению в различных областях науки и производства.

владеть: основными химическими теориями, концепциями, законами, описывающими хроматографические принципы и процессы и применять основные законы химии при обсуждении полученных результатов, в том числе с привлечением информационных баз данных; навыками планирования и осуществления химического анализа, включающего стадию хроматографического разделения аналитов.

5. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам.

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины (модуля), форма промежуточной аттестации	Всего (часы)	В том числе	
		Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем), часы из них	Самостоятельная работа обучающегося, часы из них

		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Групповые консультации	Индивидуальные консультации	Учебные занятия, направленные на проведение текущего контроля успеваемости, промежуточной аттестации	Всего	Выполнение домашних заданий	Подготовка рефератов.л.	Всего
<u>Раздел 1.</u> Введение в методы градиентного элюирования. Способы формирования градиентов рН.	10	2	2	0	0	0	4	2	4	6
<u>Раздел 2.</u> Классическое хроматофокусирование. Области применения. Моделирование градиентов рН.	20	6	2	2	0	0	10	4	6	10
<u>Раздел 3.</u> Современные варианты хроматографии с градиентным элюированием.	24	8	4	0	0	0	12	4	8	12
<u>Раздел 4.</u> Решение практических задач	16	2	4	2	0	0	8	4	4	8
Промежуточная аттестация <u>зачет</u>	2					2	2			
Итого	72	18	12	4	0	2	36	14	22	36

6. Образовательные технологии:

- применение компьютерных симуляторов, обработка данных на компьютерах, использование компьютерных программ, управляющих приборами;
- использование средств дистанционного сопровождения учебного процесса;

-преподавание дисциплин в форме авторских курсов по программам, составленным на основе результатов исследований научных школ МГУ.

7. Учебно-методические материалы для самостоятельной работы по дисциплине (модулю):

Студентам предоставляется программа курса, план занятий и задания для самостоятельной работы, презентации к лекционным занятиям.

Вопросы для тестовых опросов:

Раздел 1. Введение в методы градиентного элюирования. Способы формирования градиентов рН.

1. Терминология для описания градиентного элюирования.
2. Перечислите основные преимущества градиентных способов элюирования перед изократическими.
3. В чем особенности элюирования с градиентом рН?
4. Для каких задач впервые применили элюирование с градиентом рН?
5. Как можно классифицировать градиенты рН по способу формирования?
6. Как классифицируют градиенты рН по форме выходных кривых? Градиенты какой формы имеют наиболее распространенное применение?
7. Что такое иммобилизованные градиенты, в чем их преимущества и ограничения?
8. Назовите основные хроматографические схемы для получения внешних градиентов рН и объясните принцип их работы.
9. Какие требования предъявляют к подвижным фазам для создания простых внешних градиентов рН? Приведите примеры таких подвижных фаз.
10. Какие фотохимические процессы применяют для создания градиентов рН? Приведите примеры использования таких систем.
11. Приведите примеры электрохимических реакций для формирования внешних градиентов рН. Какие задачи решают с их помощью?
12. Перечислите требования, предъявляемые к сорбентам при внешних градиентах рН; приведите примеры сорбентов разных типов.
13. Назовите области применения линейных внешних градиентов рН? Чем ограничен их рабочий диапазон?
14. Чем ограничивается применение простых нелинейных градиентов рН?
15. Перечислите преимущества комбинированных (ступенчатых) градиентов рН. Назовите области применения ступенчатого элюирования, приведите примеры аналитов.
16. С чем связаны ограничения комбинированных градиентов рН? Какие проблемы могут возникнуть при детектировании, и как их нивелировать?

Раздел 2. Классическое хроматофокусирование. Области применения. Моделирование градиентов рН.

1. Что такое внутренние градиенты рН? Почему их называют "условно линейными"?
2. Назовите основные способы формирования внутренних градиентов рН. Перечислите основные области применения внутренних градиентов рН.
3. Дайте определение метода хроматофокусирования.

4. Перечислите основные преимущества хроматофокусирования. Что сближает этот метод с изоэлектрофокусированием?
5. В чем состоят основные ограничения хроматофокусирования?
6. Какие требования предъявляются к стартовым растворам и буферным элюентам в хроматофокусировании?
7. назовите требования к сорбентам для хроматофокусирования. Приведите примеры сорбентов.
8. Поясните механизм разделения биполярных аналитов в хроматофокусировании. Что сближает метод хроматофокусирования с ионообменной хроматографией?
9. Что такое фокусирующий эффект? Как это проявляется на хроматограммах?
10. В каких хроматографических системах создают градиенты с нисходящими значениями рН, а в каких – с восходящими?
11. Что такое "полибуферы"? Какие у них достоинства и недостатки? Приведите примеры полиамфолитных элюентов.
12. Чем можно заменить макромолекулярные вещества в полибуферах? Какие могут быть подходы для поиска компонентов элюентов?
13. В чем состоят преимущества и недостатки многокомпонентных элюентов? Как можно сократить число компонентов подвижной фазы?
14. Перечислите основные характеристики статической модели "буферного действия" (Л.-А.Слайтерман).
15. Перечислите основные характеристики модели "фронтального разделения" (А.Мурел).
16. В чем преимущества современных гетерогенных моделей? В чем их ограничения?
17. Перечислите основные характеристики моделей "локальных равновесий" и "точного численного решения" (Д.Д.Фрей).
18. Расскажите о преимуществах динамической ионообменной модели (А.В.Гармаш). Какие еще современные модели, описывающие формирование внутреннего градиента рН, Вы знаете?
19. Какие характеристики сорбента и подвижных фаз заложены в динамическую ионообменную модель?
20. В чем состоит влияние сильного электролита на формирование градиента рН? Как Вы думаете, почему ранее в моделях не уделяли внимание сильным электролитам?
21. Перечислите основные характеристики феноменологической модели К.Шлайса.
22. Перечислите требования к составу стартовых растворов и простых элюентов, сформулированные на основании физико-химического моделирования.
23. Приведите примеры использования простых элюентов для хроматофокусирования в анионо- и катионообменных системах.

Раздел 3. Современные варианты хроматографии с градиентным элюированием.

1. Расскажите о теоретических предпосылках хроматофокусирования ионов металлов.
2. В чем состоят особенности использования техники хроматофокусирования для разделения ионов металлов?
3. Какие проблемы детектирования могут возникнуть при хроматофокусировании ионов металлов, и как их решают?
4. Перечислите основные особенности техники индуцирования градиентов рН? Приведите примеры применения индуцирования.
5. Приведите примеры препаративного хроматофокусирования.
6. Как создают градиенты рН в хроматографии со свободной неподвижной фазой? Что такое рН-фокусирование?
7. В чем особенности техники индуцирования градиентов рН в хроматографии со свободной неподвижной фазой?
8. Расскажите о возможности формирования градиентов рН на сорбентах, не обладающих буферными свойствами.
9. Перечислите требования к простым подвижным фазам для хроматофокусирования на сильнокислотных катионитах.

10. В чем состоят сложности градиентного разделения пептидов (продуктов гидролиза белков)?
11. Назовите преимущества сочетания градиентов рН и ионной силы. Для каких задач его можно применять?
12. Что такое микромасштабное хроматофокусирование?

Раздел 4. Решение практических задач

1. Хроматофокусирование ионов металлов с полиамфолитными и простыми подвижными фазами. Препаративное разделение ионов металлов.
2. Хроматофокусирование на небуферных сорбентах. Новые классы аналитов в хроматофокусировании. Хроматофокусирование лекарственных препаратов в ОФ ВЭЖХ.
3. Хроматофокусирование пептидов на сульфокатионитах. Сочетание градиентов рН и ионной силы.
4. Микромасштабное аналитическое хроматофокусирование.

Примерные темы рефератов.

1. Ступенчатые градиенты рН: хроматографические системы, преимущества и недостатки ступенчатых градиентов, области применения.
2. Формирование градиентов рН в хроматографии со свободной неподвижной фазой. Метод "рН-фокусирования".
3. Концентрирование и разделение ионов металлов на катионообменных сорбентах методом хроматофокусирования.
4. Неподвижные фазы для создания внешних линейных и ступенчатых градиентов.
5. Механизмы разделения аналитов при хроматофокусировании на анионообменных колонках.
6. Хроматофокусирование ионов металлов на анионообменных сорбентах; преимущества и недостатки.
7. Полиамфолитные "полибуферы" и многокомпонентные элюенты для хроматофокусирования.
8. Эмпирический выбор подвижных фаз для замены полиамфолитных элюентов.
9. Хроматографическое оборудование для создания внешних градиентов рН.
10. Индуцированные градиенты рН в колоночной хроматографии: выбор подвижных фаз, практическое применение.
11. Выбор компонентов подвижных фаз для хроматофокусирования с помощью современных гетерогенных моделей.
12. Гомогенные модели Слайтермана и Мурела для расчета градиентов рН в анионообменных колонках.
13. Градиентное элюирование на обращенно-фазовых сорбентах. Ограничения подхода
14. Имобилизованные градиенты рН. Области применения.
15. Применение хроматофокусирования для решения биохимических задач. Очистка белков.

9. Ресурсное обеспечение:

- Перечень основной и вспомогательной учебной литературы ко всему курсу

Перечень основной и вспомогательной учебной литературы ко всему курсу. Со всех компьютеров МГУ организован доступ к полным текстам научных журналов и книг на русском и иностранных языках. Доступ открыт по IP-адресам, логин и пароль не требуются: <http://nbmgu.ru/>

Основная литература

1. З.Дейл, К.Мацек, Я.Янак. Жидкостная колоночная хроматография. В 3 тт. М.: Мир, 1978, Т.1. 556 с.
2. Л.А.Остерман. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М.: Наука, 1985. 536 с.
3. P.Jandera, J.Churacek. Gradient elution in column liquid chromatography: theory and practice. Amsterdam - Oxford - New York - Tokyo: Elsevier, 1985. 510 p.
4. Ю.Бёккер. Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза. М.: Техносфера, 2009.. 472 с.
5. Химический анализ: на пути к совершенству. Кафедра аналитической химии Московского университета. П/ред. Ю.А.Золотова. М.: Ленанд, 2015.

Дополнительная литература

1. А.Хеншен, К.-П.Хупе, Ф.Лотшпайх, В.Вельтер. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии. М.: Мир, 1988. 688 с.
 2. P.Jones, P.N.Nesterenko. High-performance chelation ion chromatography: a new dimension in the separation and determination of trace metals (обзор). // J. Chromatography A. 1997. 789. №1. P.413-435.
 3. А.В. Иванов, М.С. Вакштейн. Хроматофокусирование биполярных соединений на катионообменных колонках с помощью простых подвижных фаз. // Молекулярные технологии. 2007. Т.1. №1. С.15-38.
 4. А.В.Иванов, П.Н.Нестеренко. Формирование и применение градиентов рН в жидкостной хроматографии (обзор). // Журн. аналит. химии. 1999. Т.54. №6. С.566-584.
 5. А.В.Иванов. Внутренние градиенты рН в ионообменной хроматографии: моделирование и экспериментальная проверка (обзор). // Вестн. Моск. ун-та. Серия 2. Химия. 2005. Т.46. №4. С.203-219.
 6. D.W.Armstrong, Y.B.Tang, S.S.Chen, Y.W. Zhou, C.Bagwill, J.R. Chen Macrocylic antibiotics as a new class of chiral selectors for liquid chromatography. // Anal. Chem. 1994. V. 66. P. 1473-1484.
 7. V.A.Davankov Chiral selectors with chelating properties in liquid chromatography: fundamental reflections and selective review of recent developments. // J. Chromatogr. A. 1994. V. 666. P. 55-76.
 8. Ion exchange chromatography and chromatofocusing: principles and methods. Uppsala: Amersham Biosciences, 2004. P. 126-165.
- Материально-техническое обеспечение: занятия проводятся в обычной аудитории, оснащенной доской и мелом (маркерами), персональным компьютером и мультимедийным проектором

10. Язык преподавания – русский

11. Преподаватели:

Иванов Александр Вадимович, д.х.н., доцент; (495) 939-44-16, sandro-i@yandex.ru.

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

Образцы оценочных средств для текущего контроля усвоения материала и промежуточной аттестации - зачета. На зачете проверяется достижение промежуточных индикаторов компетенций, перечисленных в п.2.

Вопросы к зачету

1. Градиентное элюирование в жидкостной хроматографии. Виды градиентов: градиенты концентрации активного компонента, растворителя, ионной силы, температуры. Преимущества градиентного способа элюирования перед изократическим; ограничения способа.
2. Градиенты рН, их особенности. Основные определения и понятия. Градиенты рН в хроматографических колонках: первые работы Тизелиуса, Томпкинса и Мура.
3. Классификация градиентов рН. Доколоночный и внутриколоночный способы формирования градиентов рН. Виды выходных кривых рН. Линейные, простые нелинейные и комбинированные градиенты.
4. Градиенты с нисходящими и восходящими значениями рН. Имобилизованные градиенты, их области применения, достоинства и недостатки.
5. Внешние градиенты рН, их особенности. Подходы к формированию внешних градиентов рН. Используемые хроматографические системы. Необходимая аппаратура.
6. Требования к подвижным фазам при создании внешних градиентов рН. Используемые типы сорбентов. Области применения внешних простых градиентов. Рабочие диапазоны рН.
7. Предколоночная фотохимическая генерация градиента рН. Электрохимические процессы для генерации градиента. Регенерация хроматографической колонки. Линейные и простые нелинейные градиенты рН, их преимущества и ограничения.
8. Комбинированные (ступенчатые) градиенты рН, их особенности и рабочий диапазон. Преимущества и недостатки ступенчатых градиентов. Проблемы детектирования ложных пиков. Регенерация хроматографической колонки. Применение комбинированных градиентов рН в неорганическом, органическом анализе и в биохимии.
9. Основы формирования градиентов рН внутри слоя сорбента. Техника хроматофокусирования. Хроматофокусирование как хроматографический метод. Связь метода с изоэлектрофокусированием и ионообменной хроматографией.
10. Преимущества хроматофокусирования. Ограничения хроматофокусирования. Основные области применения. Препаративное выделение и очистка белков.
11. Аналитическое хроматофокусирование. Требования к подвижным фазам для хроматофокусирования. Стартовые растворы и буферные элюенты. Требования к ионообменным сорбентам. Механизм разделения макромолекулярных веществ биполярного строения. Фокусирующий эффект.
12. Хроматографические системы для создания градиентов с нисходящими и восходящими значениями рН. Полиамфолитные макромолекулярные элюенты. Эмпирический поиск многокомпонентных элюентов. Проблема сокращения числа компонентов в элюенте.
13. Физико-химический подход к выбору простых элюентов. Модельные представления о формировании градиента рН в слое ионообменного сорбента. Статическая модель "буферного действия" (Слайтерман), ее современное развитие – феноменологическая модель Шлайса.

14. Модель "фронтального разделения" (Мурел). "Аномальные" профили градиентов рН. Современные гетерогенные модели Фрея: "локальных равновесий" и "точного численного решения".
15. Ионнообменная динамическая модель (Гармаш). Учет свойств сорбентов и подвижных фаз при моделировании. Полифункциональные и полиэлектролитные сорбенты. Процессы, протекающие в ионнообменной колонке. Роль сильных электролитов в подвижных фазах.
16. Хроматофокусирование биполярных макромолекул на катионо- и анионообменных сорбентах с простыми элюентами.
17. Сочетание хроматофокусирования с принципами комплексообразовательной хроматографии. Комплексообразующие сорбенты для хроматофокусирования. Концентрирование и разделение ионов металлов.
18. Хроматофокусирование ионов металлов с полиамфолитными и простыми подвижными фазами. Проблемы детектирования on-line в условиях изменения рН. Препаративное разделение ионов металлов.
19. Индуцирование градиентов рН: основные принципы. Преимущества техники индуцирования. Применение индуцированных градиентов рН в комплексообразовательной хроматографии.
20. Развитие хроматофокусирования на современном этапе. Градиенты рН в хроматографии со свободной неподвижной фазой: "рН-фокусирование" (Ито). Индуцирование градиентов рН в колонках со свободной неподвижной фазой.
21. Хроматофокусирование на небуферных сорбентах. Новые классы аналитов в хроматофокусировании. Хроматофокусирование лекарственных препаратов в ОФ ВЭЖХ.
22. Хроматофокусирование пептидов на сульфокатионитах. Сочетание градиентов рН и ионной силы. Микромасштабное аналитическое хроматофокусирование.

Методические материалы для проведения процедур оценивания результатов обучения

Шкала оценивания знаний, умений и навыков является единой для всех дисциплин (приведена в таблице ниже)

ШКАЛА И КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)				
Оценка \ Результат	2	3	4	5
Знания	Отсутствие знаний	Фрагментарные знания	Общие, но не структурированные знания	Сформированные систематические знания
Умения	Отсутствие умений	В целом успешное, но не систематическое умение	В целом успешное, но содержащее отдельные пробелы умение (допускает неточности непринципиального характера)	Успешное и систематическое умение
Навыки (владения)	Отсутствие навыков	Наличие отдельных навыков	В целом, сформированные навыки, но не в активной форме	Сформированные навыки, применяемые при решении задач

РЕЗУЛЬТАТ ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)	ФОРМА ОЦЕНИВАНИЯ
<p>Уметь: применять основные закономерности методов жидкостной хроматографии с градиентным элюированием при решении задач профессиональной деятельности.</p> <p>Уметь: выбирать и обосновывать выбор хроматографических систем (схем) для разделения биологически важных макромолекулярных веществ, органических соединений, неорганических катионов и анионов и т.д. в зависимости от природы разделяемых аналитов, а также от условий эксперимента.</p> <p>Уметь: сопоставлять возможности и области применения различных вариантов жидкостной хроматографии с градиентным элюированием разделения и концентрирования.</p> <p>Уметь: анализировать научную литературу с целью выбора хроматографических методов, использующих градиентное элюирование, для решения конкретных аналитических задач.</p>	<p>мероприятия текущего контроля успеваемости, устный опрос на зачете</p>
<p>Владеть: формами и методами научного познания применительно к методам жидкостной хроматографии с градиентным элюированием.</p> <p>Владеть: основными химическими теориями, концепциями, законами, описывающими принципы формирования градиентов и принципы градиентного разделения аналитов в различных хроматографических системах; применять основные законы химии при обсуждении полученных результатов, в том числе с привлечением информационных баз данных.</p> <p>Владеть: навыками планирования и осуществления химического анализа, включающего стадию хроматографического разделения аналитов с применением градиентного элюирования.</p> <p>Владеть: навыками интерпретации и обсуждения результатов проведенного исследования, основываясь на современной литературе по теории и практике хроматографических методов, использующих градиентное элюирование.</p>	<p>мероприятия текущего контроля успеваемости, устный опрос на зачете</p>