

*Москвин Л.Н., Катыхин Г.С., Якимова Н.М.*

**ЧТО ТАКОЕ ХРОМАТОГРАФИЯ?**

**КАКИЕ БЫВАЮТ ХРОМАТОГРАФИИ?**

**ГДЕ ИХ МЕСТО В ОБЩЕЙ СИСТЕМЕ МЕТОДОВ**

**РАЗДЕЛЕНИЯ И АНАЛИЗА?**

## Оглавление

I. ВВЕДЕНИЕ.....	3
II. ГЕТЕРОГЕННЫЕ И ГОМОГЕННЫЕ СМЕСИ ВЕЩЕСТВ И МЕТОДЫ ИХ РАЗДЕЛЕНИЯ.....	14
III. МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ, ОСНОВАННЫЕ НА ОБРАЗОВАНИИ ВЫДЕЛЯЕМЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ НОВЫХ ФАЗ. ....	17
IV. МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ, ОСНОВАННЫЕ НА РАЗЛИЧИЯХ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ ВЕЩЕСТВ МЕЖДУ ФАЗАМИ .....	22
4.1. Внутригрупповая классификация и общая характеристика методов.....	22
Условия однократного равновесного распределения.....	23
(Single-stage).....	23
4.2. Жидкостно - жидкостная экстракция и ее внутригрупповая классификация .....	24
4.3. Сорбционные методы и их внутригрупповая классификация.....	28
4.4. Методы разделения, основанные на распределении веществ в системе жидкость – газ.....	36
4.5. Сверхкритическая флюидная экстракция .....	40
V. Что же такое хроматография? .....	42
5.1. Истоки противоречий в понимании термина «хроматография» .....	42
5.2. Хроматографические методы разделения.....	43
5.2.1. Характеристические признаки, по которым различаются хроматографические методы разделения .....	43
5.2.2. Методы, различающиеся в зависимости от агрегатного состояния фаз, участвующих в хроматографическом процессе, и их относительной полярности.....	45
5.2.3. Методы, различающиеся в зависимости от условий осуществления хроматографического процесса .....	52
5.2.4. Методы непрерывного хроматографического разделения веществ .....	55
VI. Хроматографические методы анализа .....	68
VII. Общая классификация хроматографических методов.....	71
7.1. Обобщённая классификационная схема .....	71
7.2. Исключения из правила .....	75
VIII. Комбинированные хроматографические методы разделения и анализа .....	80
8.1. Электрохроматографические методы .....	80
8.2. Хроматомембранные методы.....	83
Список литературы .....	92

## **I. ВВЕДЕНИЕ**

Современную химию, как общность взаимосвязанных химических наук, невозможно представить себе без открытия российским биохимиком М.С. Цветом хроматографии, которое по экспертным оценкам относится к 20 величайшим открытиям 20-го века, которые в наибольшей степени преобразовали науку, а через нее определили уровень развития техники и промышленности, цивилизации в целом [1]. На основе многочисленных хроматографических методов удалось найти решение аналитических и препаративных задач, не имеющих альтернативных решений. Применение хроматографических методов способствовало открытию трансурановых элементов, а в области биохимического синтеза и в решении фармацевтических задач позволило найти решения задач разделения энантиомеров. Достаточно отметить, что хроматографическими методами выполняется более половины всех анализов в мире, результаты которых обеспечивают проведение исследований во многих областях химии, а также контроль за химико-технологическими процессами, позволяют предотвратить загрязнение окружающей среды сбросами и выбросами токсичных веществ, гарантируют нам безопасность и высокое качество продуктов питания и лекарственных препаратов. Более полный перечень областей применения хроматографических методов можно найти в [2]. Кроме того, здесь уместно вспомнить монографию, изданную к 100-летию юбилею открытия хроматографии [3]. В эту монографию включены статьи ведущих хроматографистов мира, отмеченных всевозможными премиями, включая Нобелевские, за вклад в развитие хроматографических методов. Обобщая мысли, высказанные в этих статьях, ее редакторы – составители приходят к заключению, что хроматография явилась «мостом в науке и технологиях, который является ключевой основой для новых больших достижений и открытий, которые еще придут в науке 21-го века».

Для того, чтобы этот «мост» был открыт для всех, кто ищет новые хроматографические методы и трудится над расширением возможностей уже существующих, а также для тех, кто хочет впервые ступить на него, необходимо, наконец, найти ответ на принципиально важный вопрос: «Что же такое хроматография и как взаимосвязаны между собой многочисленные хроматографические методы?».

Постановка такого вопроса является следствием того, что в химии нет второго такого термина, который воспринимался бы столь же неоднозначно, как хроматография. За последние несколько десятков лет из ста десяти прошедших с момента её открытия предлагались десятки дефиниций, в которых пытались раскрыть смысл этого термина. Цитирование этих дефиниций потребовало бы слишком много места и отдельных комментариев к каждой из них. Тем более что анализ несостоятельности большинства из этих дефиниций был сравнительно недавно сделан В.Г. Березкиным в брошюре с названием, частично тождественным названию предлагаемой вашему вниманию книги [4]. На основании анализа наиболее известных определений автор приходит к выводу «об отсутствии общепринятого определения хроматографии», и, во-вторых, о том, что ранее предложенные определения «нельзя рассматривать как корректные». Чтобы понять обоснованность подобного вывода, достаточно остановиться на определениях хроматографии, предложенных «Научным Советом РАН по хроматографии» [5] и вошедших в рекомендации ИЮПАК. Согласно им понятие хроматография имеет три смысла:

- 1) наука о межмолекулярных взаимодействиях и переносе молекул или частиц в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз.

- 2) процесс дифференцированного многократного перераспределения веществ или частиц между несмешивающимися и движущихся относительно

друг друга фазами, приводящий к обособлению концентрационных зон индивидуальных компонентов исходных смесей этих веществ или частиц.

3) метод разделения смесей веществ или частиц, основанный на различии в скоростях их перемещения в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз.

Глядя на эти определения можно согласиться только с тем, что хроматография – это неоднозначное понятие. А конкретный смысл каждого из возможных толкований этого термина требует детального анализа. Основные противоречия в различных точках зрения на хроматографию заключаются в отсутствии попыток найти компромисс, как в ключевом вопросе: насколько хроматография является неоднозначным понятием, так и в вопросе, о том, насколько взаимосвязаны различные толкования смысла этого термина. Эти противоречия наглядно просматриваются на примере определения Научного Совета по хроматографии. Авторы приводят одновременно три определения хроматографии, но даже не пытаются обсуждать, как и насколько они взаимосвязаны. Это альтернативные или взаимодополняющие определения, каждое из которых имеет право на существование? При этом авторы предлагаемых определений противоречат сами себе, подняв «хроматографию», с одной стороны, до уровня самостоятельной науки, а с другой, рассматривая её как «процесс» и «метод» одновременно, несмотря на то, что эти понятия относятся к различным смысловым категориям. Всем хорошо известен перечень естественных наук, который хотят пополнить авторы определения. Также известно, что процессы бывают физическими, химическими, биологическими, кроме того, с множеством промежуточных вариантов. То же самое относится и к методам. В случае хроматографии нет единства даже в ответе на вопрос это – физический или химический метод? А какая путаница в понимании смысла термина возникнет, если поднять хроматографию до уровня одной из естественной наук.

Далее следует утверждение, что хроматография это – наука о

межмолекулярных взаимодействиях и переносе молекул или частиц в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз. Под первую часть этого определения попадает, во-первых, вся органическая и частично неорганическая химия, изучающие подобные взаимодействия с позиции механизма происходящих при этом химических превращений взаимодействующих молекул, во-вторых, химическая кинетика и ещё многие другие разделы химии.

Согласившись с тем, что хроматография – это неоднозначный термин, можно с небольшими оговорками согласиться со вторым определением, как с одним из возможных толкований смысла этого термина. Необходимо только внести уточнение в предлагаемое определение. «Фаза» по определению – часть термодинамической системы, имеющая границы раздела с другими её частями. Поэтому система из смешивающихся фаз теоретически невозможна. Наконец, невозможно принять заключительную часть этого определения, где говорится об обособлении концентрационных зон веществ или частиц. Разве последние не являются частями первых? И возможно ли подобное противопоставление в принципе.

Наиболее нелогично последнее из предложенных определений. Во-первых, общеизвестно, что «хроматография» это далеко не единичный метод. Во-вторых, здесь спутаны причина и следствия. Различия в скоростях перемещения разделяемых веществ являются не характеристическим признаком хроматографических методов, а следствием различий в распределении веществ в «хроматографической системе», что роднит хроматографические методы с другими методами разделения, основанными на этих различиях. Не лучше обстоит дело с трактовкой термина «хроматография» в англоязычной литературе. В качестве иллюстрации достаточно процитировать определение, приведенное в последнем издании электронной версии Encyclopedia Britanica (2014). Автором статьи «Chromatography» является Гиддингс. «Хроматография – метод разделения компонентов или

растворенных веществ из смеси на основе относительных количеств каждого вещества, распределенных между движущимся потоком текучей среды, называемой подвижной фазой, и непрерывной стационарной фазой. В качестве подвижной фазы может быть либо жидкость, либо газ, в то время как стационарная фаза либо твердая, либо жидкая. Кинетическое молекулярное движение постоянно обменивает растворенные молекулы между двумя фазами. Если для конкретного вещества распределение способствует переносу в движущуюся жидкость, молекулы будут проводить большую часть времени своей миграции в потоке и будут уноситься прочь от других веществ, молекулы которых сохраняются дольше в неподвижной фазе. Для данного вещества отношение времен, проведенных в движущихся и стационарных участках равно отношению его концентраций в этих участках, известное как коэффициент распределения. (Термин изотерма адсорбции часто используется, когда вовлечена твердая фаза). Смесь веществ вводится в систему в органическую область или узкую зону, после чего различные вещества перемещаются с разной скоростью в направлении потока текучей среды. Движущейся силой для миграции вещества является перемещение потока, и силой удерживания является сродство растворенных веществ к неподвижной фазе; сочетание этих сил, которыми манипулирует аналитик, производит разделение». При всем уважении к автору приведённого определения за большой вклад в развитие хроматографической методологии и создание группы методов фракционирования в потоке, дополняющего хроматографические, нельзя согласиться ни с определением в целом, ни с его отдельными деталями. Определение в целом сводит хроматографию к предельно узкому её пониманию, как метода разделения. Что касается частных, то здесь при упоминании возможных вариантов подвижных фаз забыты сверхкритические флюиды. Поэтому, говоря о подвижных фазах более строго необходимо говорить, что они находятся во флюидном состоянии, о чем можно найти упоминание в тексте определения при отсутствии правильно расставленных

акцентов. Похоже, обстоит дело в определении и с разделяемыми веществами, которые могут почему-то разделяться только в молекулярном состоянии.

Исходя из вышесказанного, нельзя безоговорочно принять ни одно из приведенных определений, а соответственно возникает потребность в альтернативе. Предлагаемая статья как раз и направлена на то, чтобы найти такую альтернативу, в какой-то степени примирить различные точки зрения и найти компромисс. При этом авторы исходят из того, что неудачи вышеупомянутой [5] и других попыток разобраться в проблеме связаны с тем, что они, как правило, вырваны из контекста истории хроматографии и в них даже не предпринимаются попытки найти взаимосвязь хроматографии с другими методами разделения и гибридными методами химического анализа [6], в которых органически объединены методы разделения и определения аналитов. Даже в уже упомянутой Юбилейной монографии [3] на фоне восторженного анализа достижений в хроматографии и в решении с ее помощью многих задач в химии и в других естественных науках не просматривается желание переосмыслить сущность открытия М.С. Цвета и систематизировать хроматографические методы. На этом фоне авторы настоящей статьи отдают себе отчет в некоторой нескромности своей попытки разобраться в проблеме и привести в систему все многообразие хроматографических методов. Но кому-то когда-то это необходимо сделать. При этом авторы исходят из того, что дальнейший прогресс в развитии и освоении хроматографических методов в существенной степени зависит от понимания их сущности, что оправдывает предпринимаемую попытку.

В свою очередь для того, чтобы понять, что такое хроматография, необходимо начать с систематизации методов разделения, к числу которых традиционно относят хроматографию, чтобы понять, на каких сваях держится «хроматографический мост». Это нужно еще и потому, что число проблем, для решения которых требуется разделение веществ, постоянно увеличивается. Соответственно, растёт число методов разделения. Тем не менее, до настоящего



времени отсутствует общепринятая система критериев, как для объединения, так и для разграничения как групп, так и отдельных однотипных методов разделения. Об этом в частности свидетельствует использование в качестве такого критерия в названии монографии, посвящённой методам разделения, принципа противопоставления одних методов другим [7]. Более значимым подтверждением отсутствия такой классификации являются современные учебники аналитической химии, в которой методы разделения востребованы в первую очередь. В качестве примера можно привести наиболее часто переиздаваемый в последние годы учебник М. Отто [8] и подготовленный коллективом авторов общеевропейский учебник [9]. В каждом из них можно встретить бессистемные упоминания о некоторых методах разделения. В обоих большое внимание уделяется в частности хроматографическим методам. Бессистемность при упоминании о них проявляется, во-первых, в том, что при их рассмотрении не проводится грань между хроматографическими методами разделения и хроматографическими методами анализа. Во-вторых, в одном из упомянутых учебников [7] хроматография отнесена к «инструментальным методам анализа, основанным на физических взаимодействиях». В другом [9], одним из соавторов которого является автор [8] М. Отто, хроматографические методы рассматриваются в разделе «химические методы анализа». В-третьих, в [8, гл.5) включён подраздел «Обзор хроматографических методов», опять-таки без уточнения каких, в котором без какой-либо логической взаимосвязи упомянут ряд хроматографических методов в форме таблицы, в которой приводится «классификация методов колоночной хроматографии». При этом, почему именно колоночной остаётся непонятным.

Наконец, трудно согласиться с тем [7], что «важнейшими методами разделения и концентрирования являются:

- отгонка летучих компонентов;
- осаждение или соосаждение;
- экстракция и ионный обмен;

- электролитическое выделение;
- колоночная хроматография и сорбция».

Доказательством несостоятельности подобного утверждения будет служить приводимая далее классификация методов разделения. Здесь достаточно отметить только два противоречия. Колоночная хроматография и сорбция – понятия, относящиеся к различным философским категориям. Первое – одна из возможных схема осуществления хроматографического процесса. Второе – процесс межфазного распределения, который в частности используется и в отдельных хроматографических методах разделения. Наконец, почему к важнейшим методам разделения, применяемым в аналитической химии, отнесен очень редкий в настоящее время метод электролитического выделение, тогда как вообще не упомянуты мембранные методы?

Отсутствие соответствующих сведений в учебниках является закономерным следствием ограниченного числа публикаций, посвящённых классификации методов разделения и (или) неудовлетворённостью предложенными ранее классификациями. Немногочисленные попытки классифицировать методы разделения всё же предпринимались. Одна из них была предпринята еще в далёком 1973 г. [10]. Упоминания о других можно найти в статье уже упоминавшегося Дж. Гиддингса [11], в которой автор предлагает собственную классификацию и убедительно доказывает её необходимость. В этом нельзя с ним не согласиться. В условиях отсутствия классификации при наличии множества вариантов методов разделения существенно усложнен выбор методических и технологических решений, адекватных решаемым задачам. Кроме того, отсутствие классификации методов разделения не позволяет найти логически обоснованную схему построения посвящённых им лекционных курсов в университетских программах.

Обсуждая необходимое число классификационных признаков для исчерпывающей классификации методов разделения, Гиддингс остановился на

двух из них: 1. Наличие перемещения в объёме (в потоке). 2. Наличие и направленность воздействия на разделяемые вещества определенных сил.

Таблица 1. Методы распределения и разделения по шести основным группам

Состояние потока	Непрерывные силы	Прерывистые силы
Статическое	Электрофорез, изоэлектрическая фокусировка, диэлектрофорез и электростатическое осаждение, седиментация, изопикническое центрифугирование,	Одностадийная экстракция, адсорбция, кристаллизация, сублимация, диализ
Параллельные потоки	Противоточный электрофорез	Фильтрация, ультрафильтрация, обратный осмос диализ под давлением, зонная плавка
Перпендикулярные потоки	Фракционирование в потоке, термогравитационные методы, электрофорез с конвекцией.	Хроматография, растворение, противоточное распределение, адсорбция и кристаллизация, пенное фракционирование, минеральная флотация

Подобный подход в сочетании с разделением на отдельные категории действующих сил позволил ему распределить методы разделения по шести основным группам (табл.1).

Первую версию своей классификации Giddings дополнил в монографии, изданной в 1991 году [12]. Как и в случае с определением хроматографии, при всём глубочайшем уважении к автору, внёсшему большой вклад в науку о разделении веществ, с рядом положений предложенной им классификации нельзя согласиться. В частности, использование в общей классификации методов разделения в качестве классификационных критериев ведущих сил («driving force») и наличия потока («flow») или его отсутствия представляется весьма спорным, т.к. многие методы разделения не имеют подобных признаков. Не облегчает понимание основополагающих принципов и границ между отдельными методами дополнительное разграничение driving force на непрерывные (continuous) и прерывистые (discontinuous), а также в зависимости от их направленности по отношению к потоку, в котором происходит разделение. Эти критерии понятны по отношению к отдельным группам

методов разделения, в первую очередь к мембранным и к методам разделения в пределах одной фазы. В дальнейшем они будут нами использованы в соответствующих внутригрупповых классификациях, но они не соответствуют уровню общей классификации.

В результате подобного подхода в общей классификации в одних и тех же группах методов оказываются, например, одностадийная экстракция и диализ (по признакам «статической системы» и «прерывистой силы»); фильтрация и зонная плавка (по признакам «параллельных потоков» и «прерывности силы»); наконец, дистилляция, адсорбция и кристаллизация (по признакам «перпендикулярных потоков» и «прерывистой силы»). Трудно воспринимать перечисленные выше методы, весьма далёкие по своим физико-химическим принципам и технологиям осуществления процесса разделения, как родственные, относящиеся к одним и тем же группам.

Идеи Дж. Гиддингса в дальнейшем были поддержаны в монографии F. Mocasand J.D. и Navratil [13]. Раздел монографии, посвящённый “Generalization and Classification of separation process” авторы открывают эпиграфом из статьи Дж. Гиддингса: “By and large history of separation science has been of diverging pathways. The consequence has been much reducing in the independent design and optimization of system that are based on common theory, and lost opportunities in technological spinoff from the more advanced methods to those at less sophisticated stage of development”. Нельзя не согласиться с этой мыслью, но каких-либо новых подходов к классификации авторы не предлагают, ограничившись включением в текст своей монографии вышеупомянувшейся табл. 1, без каких-либо дополнений или изменений.

Наконец, наиболее полную из имеющихся на сегодняшний день классификаций можно найти в 4-ом томе «Reference series» edited by Satinder Ahuja [14]. Но и эту классификацию нельзя принять безоговорочно. Она включает несколько общих принципов разделения гомогенных смесей: межфазное распределение в различных системах фаз, скорость процесса,

диффузия через проницаемый барьер, разделение за счет поля, смешанные методы разделения. Но какая либо внутренняя логика в выборе этих критериев практически отсутствует. Трудно найти логику и в том, что в названии монографии хроматография рассматривается автором отдельно от науки о разделении в целом? Непонятным и неожиданным является переход автора в монографии от предлагаемой им классификации к классификации Дж. Гиддингса [11] и отсутствие комментариев к этому переходу.

Все выше упомянутые классификации, включая классификацию Дж. Гиддингса, с одной стороны, существенно устарели, а с другой, судя по отсутствию упоминаний о них в учебниках аналитической химии, они не привлекли широкого внимания специалистов. Не найдя упоминаний об этих классификациях в последующие после их опубликования годы трудно предположить, что они заинтересуют кого-либо в дальнейшем. Кроме того за прошедшее время появилось много новых методов, для которых нет места в этих классификациях. Несмотря на неудачные попытки своих предшественников, один из авторов книги взял на себя смелость предложить ещё одну версию подобной классификации, по многим позициям принципиально отличающуюся от предыдущих и охватывающую практически все известные методы разделения [15].

## **II. ГЕТЕРОГЕННЫЕ И ГОМОГЕННЫЕ СМЕСИ ВЕЩЕСТВ И МЕТОДЫ ИХ РАЗДЕЛЕНИЯ**

Согласно мысли, высказанной ещё в [10], одним из критериев разграничения методов разделения может являться специфика смесей веществ, подлежащих разделению. В наиболее общем случае смеси веществ, подлежащие разделению, находятся в объёме флюидных фаз – жидкостей или газов. Когда возникает необходимость разделения твёрдофазных смесей, они предварительно измельчаются и диспергируются или растворяются во флюидных фазах. В результате задача их разделения сводится к наиболее общему случаю. В зависимости от степени диспергирования разделяемых веществ во флюидных фазах все методы разделения можно условно разделить на две группы: методы разделения гетерогенных (макроскопически неоднородных) и методы разделения гомогенных (макроскопически однородных) смесей. Такое разграничение является условным, как условна сама граница между гетерогенными и гомогенными средами.

Каждая из выделяемых на первом классификационном уровне групп методов разделения имеет свою преимущественную область применения. С гетерогенными смесями и соответствующими методами разделения чаще всего приходится сталкиваться при решении производственных задач: при добыче полезных ископаемых, при переработке различных видов сырья, при очистке водных сбросов и воздушных выбросов промышленных предприятий. К относительно небольшому числу методов разделения гетерогенных смесей относятся: флотация, фильтрация, седиментация, центробежная и магнитная сепарация. Каждый из названных методов хорошо известен и не требует дополнительных комментариев.

Сложнее обстоит дело с методами разделения гомогенных смесей веществ, с которыми приходится практически одинаково часто сталкиваться при решении как аналитических, так и производственных задач. Причём

появление и развитие новых методов разделения гомогенных смесей, как правило, начинается с решения аналитических задач, а сами аналитические методы разделения часто служат прототипами будущих промышленных технологий. Число методов этой группы значительно больше, и именно они в первую очередь нуждаются в классификации.

Таблица 2. Общая классификация методов разделения гомогенных смесей веществ

№	Характеристические свойства веществ, определяющие возможность их разделения	Внешние воздействия на систему, вызывающее проявление характеристических свойств	Классы методов разделения
1	Способность к переходам в другие агрегатные состояния в результате химических превращений или фазовых переходов	Химические реакции с соответствующими реагентами, подвод или отвод тепловой энергии	Методы, основанные на образовании выделяемыми веществами новых фаз
2	Способность к межфазному распределению в двухфазных системах, характеризуемая величиной коэффициента распределения	Создание определённых условий для межфазного распределения (осуществления межфазного контакта)	Методы, основанные на различиях в межфазном распределении
3	Способность к индуцированному переносу из одной фазы в другую через разделяющую их третью фазу	Градиенты химического или электрического потенциалов, давления и температуры	Мембранные методы
4	Направление и скорость пространственного перемещения в пределах одной фазы в скалярном поле	Гравитационное, электрическое, магнитное или тепловое поля	Методы разделения в пределах одной фазы
5	Несколько характеристических свойств, различающихся по своей природе, одновременно	Одновременно несколько воздействий, соответствующих природе характеристических свойств	Комбинированные методы

Методы разделения гомогенных смесей веществ могут быть классифицированы по природе характеристических свойств веществ,

определяющих возможность их разделения данным методом, и по внешним воздействиям на систему, которые необходимы, чтобы вызвать проявление этих свойств (Табл. 2).

Использование в качестве одного из классификационных признаков «внешнего воздействия на систему» аналогично «эффективной силе», предложенной в качестве классификационного признака в своё время Дж. Гиддингсом [11].

Каждый из перечисленных в табл. 2 классов методов разделения объединяет множество индивидуальных методов, причём их число в каждом классе и их роль в различных областях химии и химических технологий далеко не равнозначны. В пределах каждого класса они в свою очередь нуждаются в классификации. Наиболее многовариантны и востребованы методы, основанные на различиях в межфазном распределении, что найдет отражение в наибольшем внимании к этому классу методов в дальнейшем, и в отдельном рассмотрении входящей в него группы хроматографических методов.



### **III. МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ, ОСНОВАННЫЕ НА ОБРАЗОВАНИИ ВЫДЕЛЯЕМЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ НОВЫХ ФАЗ.**

Разделение гомогенных смесей веществ начиналось с методов, основанных на образовании выделяемыми веществами новых фаз (Табл.3). Первая попытка классификации методов этой группы предпринята в уже упоминавшейся монографии [10], но авторы в ней ограничились только выделением этих методов в отдельную группу без обсуждения объединяющих их признаков.

Основным классификационным критерием методов этой группы является агрегатное состояние исходной смеси веществ и выделяемых фаз. В пределах возможных сочетаний агрегатных состояний исходной смеси и вновь образованных фаз дополнительными классификационными критериями являются характеристические свойства веществ, определяющие возможность их разделения. Согласно последним методам, основанные на переходах из одного агрегатного состояния в другое, делятся на отдельные группы в зависимости от того, чем вызвано изменение агрегатного состояния: химическими превращениями или фазовыми переходами при определённых температурах и давлениях.

Методы разделения рассматриваемой группы первыми вошли в аналитическую, препаративную и производственную практику. Их отличает относительная простота аппаратного оформления, но одновременно довольно высокая трудоемкость и длительность. Интерес к методам рассматриваемой группы далеко не равнозначен.

Методы осаждения сохранили определенную «нишу» в препаративной химии для получения препаратов очищенных веществ с определённой стехиометрией входящих в них компонентов. Помимо решения препаративных задач методы осаждения и методы электроосаждения являются первыми

стадиями в методах анализа: гравиметрии и электрогравиметрии, соответственно. Подробные сведения о методах

Таблица 3. Методы разделения, основанные на образовании выделяемыми веществами новых фаз.

№	Агрегатное состояние		Характеристические свойства выделяемых веществ	Методы разделения
	Исходной смеси веществ	Новой фазы		
1	Жидкое	Твёрдое	Способность к химическим реакциям в растворах, приводящим к образованию малорастворимых соединений	Осаждение
2	Жидкое	Твёрдое	Способность к переходу в твёрдое состояние в результате электропревращений	Электроосаждение
3	Жидкое или газообразное	Твёрдое	Способность к соответствующим фазовым переходам при определённой температуре	Вымораживание
4	Жидкое	Газообразное	Способность образовывать газообразные соединения в результате химических реакций в растворе	Отгонка (дистилляция с конверсией выделяемого вещества в газообразную форму)
5	Жидкое	Газообразное	Способность к фазовому переходу жидкость-газ при определённой температуре	Дистилляция и ректификация, фракционная перегонка, упаривание
6	Твёрдое	Газообразное	Способность к фазовому переходу твёрдое тело-газ при нагревании до определённой температуры	Сублимация,
7	Твёрдое	газообразное	Способность к переходу в газообразное состояние в результате гетерогенной химической реакции	Отгонка в парах реагента
8	Твёрдое	Жидкое, сверхкритический флюид	Способность к растворению во флюидной фазе определённого состава	Селективное растворение, жидкостная и сверхкритическая флюидная экстракция

осаждения, применяемых в них реагентах и об условиях образования и отделения осадков можно найти практически во всех учебниках аналитической химии.

Наиболее востребованными из методов этой группы являются различные варианты дистилляционных методов. Собственно к дистилляции чаще всего прибегают практически только при решении простейших задач разделения веществ, таких как очистка воды от минеральных примесей. Аналогичный приём находит применение и для очистки органических растворителей. Но в последнем случае для повышения эффективности разделения веществ на принципах фазовых переходов жидкость–газ чаще прибегают к методу ректификации, в котором процессы испарения–конденсации многократно повторяются и в конечном итоге коэффициент разделения двух компонентов достигает величины коэффициента относительной летучести в степени  $N$ , равной числу актов испарения–конденсации.

Значительно большую селективность при разделении веществ обеспечивают методы, основанные на образовании газовой фазы из жидкой в результате химических превращений. На принципах дистилляции с конверсией выделяемых веществ в газообразные формы основаны методы глубокой очистки таких практически важных элементов, как бор, кремний и германий, которые селективно выделяются в формах  $\text{BF}_3$ ,  $\text{SiF}_4$  и  $\text{GeCl}_4$ , соответственно. При этом приём растворения соединений этих элементов в соответствующих галогеноводородных кислотах с добавкой окислителей оказывается одинаково удобен, как для решения препаративных и производственных задач глубокой очистки этих элементов, так и для аналитических задач концентрирования находившихся в них примесей, не образующих в тех же условиях газообразных соединений, к числу которых относится большинство элементов Периодической системы.

Для системы твёрдое тело – газ аналогом дистилляции является сублимация – фазовый переход из твёрдого состояния в газообразное, минуя

промежуточное образование жидкой фазы. Кроме того, в качестве одного из методов, основанных на фазовом переходе из твёрдой фазы в газовую в химическом анализе иногда реализуется разновидность метода сублимации с конверсией выделяемых элементов в газообразные соединения в результате гетерогенной реакции твёрдофазного образца с газообразным реагентом. К этому варианту сублимации твердых фаз чаще всего прибегают в случае необходимости конверсии примесей. Примерами является решение таких повседневных аналитических задач, как определение в сталях углерода и серы с их выделением в формах  $\text{CO}_2$  и  $\text{SO}_2$ , соответственно, при прокаливании образцов в токе кислорода или атмосферного воздуха.

Последним из упомянутых в табл. 3 методов являются селективное растворение или жидкостная и сверхкритическая флюидная экстракции. Метод селективного растворения предполагает избирательное растворение одного из компонентов разделяемой смеси веществ: твердофазной матрицы или присутствующих в ней микрокомпонентов. Примером растворения матрицы может служить растворение сталей и сплавов в растворах некоторых минеральных кислот (соляной, фосфорной) с целью определения в них неметаллических включений, например, карбидов и нитридов, которые в этих кислотах практически не растворяются. Аналогичны ему по смыслу и экстракционные методы, с той лишь разницей, что они обычно применяются для выделения органических веществ, таких как используемые в фармацевтике компоненты растительного сырья.

Эти методы применительно к извлечению компонентов биологических сред в последние годы находят все более широкое применение и продолжают активно развиваться и совершенствоваться. Проявился целый ряд вариантов жидкостной экстракции, объединяемых общей аббревиатурой ASE. Этой аббревиатуре соответствуют: “accelerate solvent extraction” и “assisted solvent extraction” [16]. Первая в свою очередь часто упоминается под синонимом “pressurized liquid extraction” (PLE), которая имеет ряд разновидностей:

“pressurized hot solvent extraction “ (PHSE), “pressurized fluid extraction” (PFE) и “subcritical water extraction” (SWE). Последняя, когда авторы желают подчеркнуть механизм интенсификации экстракционного процесса, называется “pressurized low polarity water extraction” (PLPW). Из огромного числа возможных экстрагентов в последнем случае предпочтение отдается воде, как экологически наиболее безопасному соединению, полностью отвечающему требованиям зеленой химии. Основными параметрами, позволяющими управлять экстракционным процессом, являются давление и температура, что нашло отражение в названиях многочисленных вариантов ASE. Подробные сведения о перечисленных разновидностях ASE можно найти в [17].

В свою очередь методы жидкостной экстракции в “assisted” – варианте различаются в зависимости от природы внешних воздействий на экстракционный процесс. Чаще всего это – ультразвук [18] и микроволновое излучение [19].

Конкуренцию разнообразным вариантам метода жидкостной экстракции, особенно при решении проблем выделения биологически активных веществ, оказывает сверхкритическая флюидная экстракция (SFE), основанная на использовании в качестве растворителей веществ в состоянии сверхкритических флюидов. Причем они могут использоваться в качестве экстрагентов непосредственно или с добавками модификаторов. Для извлечения биологически активных веществ таким модификатором чаще всего является этанол. Для извлечения неполярных органических веществ – растительные масла [16].

## **IV. МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ, ОСНОВАННЫЕ НА РАЗЛИЧИЯХ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ ВЕЩЕСТВ МЕЖДУ ФАЗАМИ**

### **4.1. Внутригрупповая классификация и общая характеристика методов**

Среди методов разделения гомогенных смесей веществ независимо от решаемых задач важнейшее значение имеют методы, основанные на различиях в распределении веществ между фазами. Одной из них – отдающей, из которой выделяются целевые компоненты, служит исходная смесь веществ в жидком или газообразном состоянии, а в качестве второй подбирается такая извлекающая фаза, при контакте с которой в максимальной степени обеспечивается проявление характеристических свойств выделяемых веществ. Характеристическими свойствами веществ, на проявлении которых основаны методы этой группы, является их способность к распределению между фазами с преимущественным переходом из отдающей фазы в извлекающую. Специфика методов, входящих в эту группу, помимо агрегатного состояния отдающей и извлекающей фаз, проявляется в условиях осуществления процессов межфазного распределения. Соответственно, последние выбраны в качестве дополнительного критерия разграничения методов этой группы (табл.4). Сам принцип разграничения методов по агрегатному состоянию фаз и фазовым равновесиям уже использовался в [11], но без дополнительного критерия, каковым являются условия осуществления процесса межфазного распределения, в результате чего в одни и те же группы попадали статические, динамические и хроматографические методы.

Условия осуществления процессов межфазного распределения, соответствующих различным методам, характеризуются наличием или отсутствием относительного перемещения фаз в пространстве и реализуемым при их контакте количеством актов перераспределения разделяемых веществ

Таблица. 4. Внутригрупповая классификация методов разделения, основанных на различиях в межфазном распределении веществ в зависимости от условий осуществления процессов межфазного распределения.

Агрегатное состояние отдающей и извлекающей фаз.	Методы или группы методов разделения в зависимости от условий осуществления процессов межфазного распределения		
	Условия однократного равновесного распределения (Single-stage)	Динамические условия (Batch)	Многократное распределение в условиях относительного перемещения фаз (хроматографические условия*)
Жидкость – жидкость	Статическая жидкостно-жидкостная экстракция, пробирная плавка	Динамическая жидкостная экстракция	Жидкостно-жидкостная хроматография (ЖЖХ)
Жидкость – твердое тело	Статическая сорбция, статическая твердофазная экстракция, соосаждение	Динамическая сорбция, динамическая твердофазная экстракция, зонная плавка и направленная кристаллизация	Жидкостно-твердофазная хроматография (ЖТХ)**
Жидкость – газ, газ – жидкость	Статическая газовая экстракция и жидкостная абсорбция	Барботаж, динамические газовая экстракция и жидкостная абсорбция	Газожидкостная хроматография (ГЖХ) Жидкостно-газовая хроматография (ЖГХ)
Газ – твердое тело	Статическая адсорбция	Динамическая адсорбция	Газо–твердофазная хроматография (GSC)
Конденсированная фаза (жидкая или твердая) -вещество в сверхкритическом состоянии	Статическая сверхкритическая флюидная экстракция (СФЭ)	-	Сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ)

\*) Возможность рассмотрения хроматографии, как специфического способа осуществления процессов межфазного распределения, будет обоснована в специальном разделе, посвященном хроматографическим методам разделения.

\*\*) Многочисленные варианты ЖТХ, отличающиеся механизмом удерживания разделяемых веществ стационарной фазой, будут подробно рассмотрены в соответствующем разделе, табл. 5.

между фазами. По первому признаку все способы осуществления межфазного распределения веществ подразделяются на 2 группы: однократное равновесное распределение (Single-stage) и динамические условия межфазного распределения(batch), предполагающие многократное повторение актов межфазного распределения. По критерию специфических хроматографических условий межфазного распределения разделяемых веществ между фазами в отдельную группу выделяются хроматографические методы разделения.

Все методы рассматриваемой группы многовариантны и нуждаются в собственных классификациях. Особенно это касается хроматографических методов, которые помимо многообразия и особой важности в методологии разделения веществ имеют свои теоретические основы. Поэтому в дальнейшем хроматографические методы выделены в самостоятельный класс методов разделения и рассматриваются отдельно от других методов, основанных на различиях в межфазном распределении веществ.

#### **4.2. Жидкостно - жидкостная экстракция и ее внутригрупповая классификация**

Понятие жидкостная экстракция включает два различных по смыслу метода: упомянутую в предыдущем разделе жидкостную экстракцию из твёрдотельных фаз, обеспечивающую извлечение целевых компонентов из твёрдых фаз в жидкие, и метод, основанный на различиях в распределении веществ между двумя жидкими фазами – жидкостно-жидкостную экстракцию. Наиболее часто из вышеупомянутых методов применяется жидкостно-жидкостная экстракция. Чаще всего из водных растворов в органические растворители. При этом для краткости очень часто в названии метода присутствует только один эпитет. Указывается, что речь идёт о жидкостной экстракции, а агрегатное состояние отдающей фазы не уточняется. При этом



можно догадаться, о каком из методов идет речь, только из конкретного контекста.

Учитывая многообразие экстракционных систем и технологий осуществления экстракционных процессов в варианте жидкостно-жидкостной экстракции, эта группа методов нуждается в своей классификации. Помимо вариантов, различающихся в зависимости от условий осуществления экстракционного процесса (табл. 4), есть множество вариантов, в зависимости от механизмов экстракционных процессов. В самом общем случае жидкостно-жидкостные экстракционные системы в зависимости от механизма межфазных переходов выделяемых веществ, можно разделить на две большие подгруппы: на экстракцию по механизму физического распределения и реакционную экстракцию. В первом случае выделяемое вещество переходит в извлекающую фазу в той же химической форме, в которой оно находится в отдающей фазе. При этом движущей силой процесса являются различия энергий сольватации и гидратации молекул разделяемых веществ. В этом случае процесс экстракции всегда обратим. По этому механизму в органические растворители хорошо экстрагируются большие неполярные или малополярные молекулы. В случае неорганических веществ это такие соединения как  $\text{GeCl}_4$ ,  $\text{I}_2$ ,  $\text{OsO}_4$  и т.д. Учитывая, что число подобных неорганических соединений крайне невелико, основное применение экстракция по механизму физического распределения находит для выделения из водных растворов примесей неполярных и малополярных органических веществ, например, нефтепродуктов. В качестве экстрагентов для выделения веществ по механизму физического распределения чаще всего применяются нейтральные органические растворители такие, как гексан, хлороформ и тетрахлорид углерода. Извлечение неполярных органических веществ по механизму физического распределения происходит не селективно, так как для большинства из них энергии сольватации различаются несущественно и всегда больше энергии их гидратации. Поэтому экстракция по этому механизму, как правило, обеспечивает только групповое выделение и

концентрирование примесей неполярных органических веществ из различных водных сред.

Для экстракционного выделения неорганических веществ наибольшие возможности открывает реакционная экстракция – процесс, протекающий как гетерогенная химическая реакция, характеризуемая константой, называемой в данном случае константой экстракции  $K_{ex}$ . Поскольку в случае реакционной экстракции далеко не всегда известно и сохраняет постоянную величину стехиометрическое соотношение выделяемого вещества и экстрагента в экстрагируемом соединении, для характеристики жидкостно-жидкостных экстракционных процессов  $K_{ex}$  используется сравнительно редко. Предпочтение отдается универсальной характеристике – коэффициенту распределения.

Учитывая большое разнообразие органических соединений, которые применяются и гипотетически могут применяться в качестве экстрагентов в процессах «реакционной экстракции», существует целый ряд принципов их внутригрупповой классификации. Чаще всего за основу подобных классификаций принимается тип экстрагента: нейтральный, кислотный, основной. Но подобная классификация слишком неопределенна, так как многие экстрагенты изменяют свои свойства в зависимости от состава водного раствора, например, наиболее часто применяемые в аналитической химии хелатообразующие экстрагенты имеют одновременно кислотные и основные группы. Поэтому в качестве более информативного варианта предлагается классификация экстрагентов одновременно по двум критериям: по природе донорных атомов в молекулах экстрагентов, ответственных за образование химической связи с экстрагируемым веществом, и по структурному подобию молекул экстрагентов. По первому признаку выделяются три основных класса экстрагентов: кислород-, азот- и серосодержащие. По критерию структурного подобия молекул выделяются хелатообразующие [20] и макроциклические [21,22] экстрагенты. Кроме того в последние годы в качестве самостоятельного

класса экстрагентов привлекли внимание ионные жидкости [23,24]. Из перечисленных классов экстрагентов для решения производственных задач, таких как выделение урана при переработке сырья и облучённого ядерного топлива, наибольшее распространение находят кислородсодержащие, обеспечивающие обратимость экстракционного процесса. Для экстракции ионов металлов в аналитических целях наиболее предпочтительными являются хелатообразующие экстрагенты. Во многих случаях они образуют с выделяемыми аналитами окрашенные или люминесцирующие соединения. Это позволяет совместить операции экстракционного выделения веществ и их последующего определения одним из соответствующих оптических методов непосредственно в фазе экстрагента. Возможности применения в жидкостно-жидкостной экстракции макроциклических соединений и ионных жидкостей до настоящего времени ещё не до конца раскрыты.

Как у всех методов разделения, основанных на различиях в межфазном распределении веществ, дополнительным критерием разграничения экстракционных методов служат условия осуществления процесса межфазного распределения. В простейшем случае в химическом анализе применяется одноступенчатая экстракция. Для решения задач разделения веществ в промышленных масштабах наиболее предпочтительна противоточная экстракция [25]. Кроме того на принципах жидкостно-жидкостной экстракции существует множество методических приёмов, отличающихся техникой осуществления экстракционного процесса, адаптированных под конкретные аналитические методы или химические технологии. Таковы экстракция в сегментированных потоках [26], применяемая в проточных методах анализа, и различные варианты мембранной экстракции, которые будут рассмотрены в разделе, посвящённом мембранным методам.

### 4.3. Сорбционные методы и их внутригрупповая классификация.

В качестве первого разграничительного признака сорбционных методов, когда речь идёт об извлечении целевых компонентов из флюидных фаз в твёрдую, может служить механизм удерживания сорбатов сорбентом. В зависимости от механизма удерживания сорбатов твердофазными сорбентами выделяются:

– молекулярная адсорбция, вызванная действием ван-дер-ваальсовых сил между молекулами сорбата и атомами на поверхности сорбента или возникновением между ними водородных связей;

– ионный обмен, являющийся гетерогенной химической реакцией обратимого стехиометрического обмена ионами между контактирующими жидкой и твёрдой фазами;

– комплексообразующая сорбция, при которой функциональные группы сорбента выступают в роли лигандов, координируемых сорбируемыми ионами металлов;

- биоспецифическая сорбция, обеспечивающая возможность выделения и разделения биологически активных веществ, лежащая в основе метода аффинной хроматографии;

- стереоспецифическая сорбция, являющаяся следствием проникновения молекул сорбатов в соответствующие им по размерам поры специальных сорбентов с регулярными порами заданных размеров и конфигурации;

- сорбция «материалами ограниченной доступности» (RAM) [26], обладающими способностью исключения макромолекул, в то время как поверхность их внутреннего порового пространства с гидрофобными или ионообменными функциональными группами способна удерживать низкомолекулярные аналиты за счёт гидрофобных или электростатических взаимодействий.

Независимо от механизма удерживания сорбатов сорбентами дополнительным отличительным признаком сорбционных методов являются условия осуществления сорбционного процесса. По этому критерию, как и в случае жидкостно-жидкостной экстракции, выделяются: single-stage, batch и хроматографические сорбционные методы.

*Молекулярная адсорбция.* Сорбция по механизму слабых межмолекулярных взаимодействий находит преимущественное применение для выделения примесей из газовой фазы и разделения газообразных и (или) легколетучих органических веществ различной полярности, чаще всего в условиях газодсорбционной хроматографии. В случае жидких сред по этому механизму обычно выделяются и концентрируются органические вещества. Прочность молекулярной адсорбции помимо индивидуальных свойств молекул сорбатов определяется удельной поверхностью адсорбента и химической природой его поверхности. В зависимости от природы функциональных групп на поверхности сорбентов они делятся на полярные и неполярные. К числу первых относятся силикагели, цеолиты, оксид алюминия, титана, циркония и т.п., а также полимерные сорбенты с привитыми полярными группами. Подобные адсорбенты используются для разделения и концентрирования полярных соединений. Межмолекулярное взаимодействие молекул сорбата с поверхностью этих сорбентов обусловлено универсальными дисперсионными, индукционными и ориентационными силами. Применение этих сорбентов для концентрирования веществ из влажного газа и водных растворов ограничено в силу их высокого сродства к молекулам воды, которые адсорбируются гораздо сильнее, чем многие даже относительно высокомолекулярные соединения. Поэтому эти сорбенты используются для концентрирования полярных соединений из неполярных органических и газообразных сред. При этом они, как правило, дополнительно являются высокоэффективными осушителями последних.

Свойства неполярных проявляют углеродные и неполярные полимерные адсорбенты, а также силикагели, модифицированные прививкой неполярных, прежде всего, алкильных групп. Среди углеродных сорбентов, применение которых начиналось с активных углей, в последнее время наибольшее внимание привлекают фуллерены и нанотрубки [27]. Неполярные адсорбенты используются для выделения и концентрирования из газовой и полярных жидких фаз примесей неполярных и слабополярных веществ, а также для их разделения. Межмолекулярное взаимодействие сорбатов с поверхностью неполярных адсорбентов обусловлено гидрофобными взаимодействиями.

*Ионный обмен.* Сорбенты, способные к поглощению веществ по механизму ионного обмена, называемые ионитами, представляют собой полимерные вещества, содержащие функциональные группы, способные при контакте с растворами электролитов к обмену ионов. В зависимости от химической природы полимерной матрицы иониты делятся на два больших класса: неорганические и органические. Первые в свою очередь делятся на природные и синтетические. Ионному обмену и ионообменным материалам посвящены многочисленные монографии и обзоры, опубликованные преимущественно в 50-70 г.г. прошлого века. К числу последних публикаций, где можно найти сведения о предшествующих относятся [28,29]. В настоящее время неорганические ионообменники, как природного, так и синтетического происхождения практически не привлекают внимания, ни как объекты исследования, ни как объекты практического применения. В качестве исключения можно назвать цианоферратные сорбенты, отличающиеся исключительной селективностью к ионам цезия, что позволяет выделять радионуклиды последнего даже из морской воды.

Основным классом ионообменных сорбентов являются органические иониты – органические полимерные материалы с привитыми к матрице функциональными группами, придающим им катионо- или анионообменные свойства. Селективность ионообменных смол с кислотными и основными

функциональными группами в отсутствие в растворах комплексообразователей практически ограничена возможностью разделения ионов с различным знаком заряда и в меньшей степени ионов с одноименным зарядом, если они существенно отличаются по величине ионных радиусов. Для увеличения селективности ионообменного разделения прибегают к изменению химических форм разделяемых веществ за счёт реакций комплексообразования в контактирующих с ионообменниками растворах.

*Комплексообразующая сорбция.* Учитывая ограниченную селективность ионообменных смол, с середины 50-х годов 20-го века начался активный поиск сорбентов, которые могли бы обеспечить селективное извлечение из водных растворов определенных ионов металлов, независимо от солевого фона. Основным направлением создания подобных сорбентов явилась прививка к полимерным матрицам хелатообразующих функциональных групп. Первой была осуществлена прививка наиболее популярного хелатообразующего реагента – 8-гидроксихинолина. В результате был получен сорбент для группового выделения тяжелых металлов на фоне щелочных и щелочноземельных элементов. В настоящее время практически не осталось хелатообразующих реагентов, нашедших применение в аналитической практике в мономерном состоянии, на основе которых не были бы синтезированы полимерные аналоги, называемые хелатообразующими или комплексообразующими сорбентами (КС) [30]. Основной механизм удерживания веществ сорбентами этого класса - донорно-акцепторное взаимодействие сорбатов с функциональными группами сорбента. При этом сорбент выступает в роли полимерного лиганда. В качестве полимерных матриц КС предпочтительно используются те же сетчатые сополимеры, что и в ионообменных смолах. Чаще всего – это сополимеры стирола и дивинилбензола, метилметакрилата и акрилонитрила, а также целлюлоза. В отличие от ионообменных смол, выпускаемых только в гранулированном виде, одной из разновидностей КС являются волокнистые сорбенты с полимерной

матрицей в виде ваты, ткани, нитей и жгутов, обладающие лучшими кинетическими характеристиками по сравнению с гранулированными аналогами. Влияние полимерной матрицы на свойства КС более существенно, чем в случае ионообменных смол. Поскольку сорбируемые ионы металлов, как правило, координируют несколько функциональных групп сорбента, возможность такой координации существенно зависит от гибкости полимерной матрицы, ее способности к конформации – определенной пространственной ориентации функциональных групп. Сорбция координирующих эти группы ионов сопровождается конформационным переходом. Необходимая для него энергия компенсируется энергией связи при образовании координационного соединения. Поэтому чем большей устойчивостью обладает образующееся соединение, тем более жестко сшитую полимерную основу может иметь сорбент и наоборот.

*Биоспецифическая сорбция.* Для селективного выделения биологически активных веществ были созданы биспецифические сорбенты, первое упоминание о которых можно найти в [31]. Биоспецифическая сорбция, характеризующаяся тем, что в отличие от других сорбционных методов удерживания сорбатов сорбентами определяется сродством биологически активных веществ к определённым, характерным для каждого из них другим биологическим активным веществом, называемым аффианными лигандами или аффиантами. Биоспецифическая сорбция, в частном случае взаимодействия антител с антигенами, называемая иммуносорбцией, находит основное применение в аффинной хроматографии, являющейся основным аналитическим и препаративным методом в химии биологически активных веществ [32].

*Стереоспецифическая сорбция.* В общем случае повышение селективности выделения органических веществ достигается в условиях стереоспецифической сорбции. Появление этого, сравнительно нового метода связано с созданием полимерных сорбентов с молекулярными отпечатками (Molecularimprintedpolymers, MIPs) [33,34]. Селективность MIPs обеспечивается



специальными технологиями синтеза. В результате введения на стадии синтеза полимера в реакционную смесь вещества – формообразователя (шаблона) в структуре полимера создаются высокоспецифичные центры связывания (сайты молекулярного распознавания) комплементарные по размеру, форме и структуре определённым органическим молекулам. Подобные стереоспецифические сорбенты уже нашли широкое применение в химическом анализе: в качестве средства селективного выделения органических примесей из разнообразных водных сред [35] и для разделения сходных по структуре органических соединений, включая энантиомеры [36] и т.д. и т.п. До создания MIPs эффект стереоспецифической сорбции использовался в гель-хроматографии. В этом случае удерживание молекул разделяемых веществ стационарной фазой определяется так называемым ситовым эффектом. Последний проявляется в удерживании молекул разделяемых веществ в порах твёрдофазных материалов, имеющих пористую структуру, поры в которой имеют размеры, близкие к размерам молекул выделяемых веществ. Подобные материалы носят название гелей и лишь условно могут быть отнесены к классу сорбентов, исходя из их способности к выделению из жидких фаз определённых веществ. Условность в данном случае заключается в том, что разделяемые вещества удерживаются гелями в растворе, заполняющем их поровое пространство. Проявление адсорбции при гель-хроматографическом разделении веществ является лишь нежелательным сопутствующим фактором. Подробные сведения о гелях, применяемых в гель-хроматографии, можно найти практически в любой монографии, посвящённой жидкостной хроматографии.

*Сорбция RAM.* Среди сравнительно новых сорбционных методов, применяемых на стадии пробоподготовки биологических сред, особое место занимает сорбция уже упоминавшимися выше «материалами ограниченной доступности» (RAM), появившимися сравнительно недавно [26]. В сорбентах этого типа внутренняя поверхность пор с функциональными группами,

определяющими её сорбционную способность, доступна только для небольших молекул, в то время как макромолекулы исключаются и взаимодействуют только с внешней поверхностью частиц сорбента, покрытой гидрофильными группами, что сводит к минимуму адсорбцию молекул белков. RAM различаются в зависимости от механизма исключения белков. Макромолекулы могут быть исключены физическим барьером, создаваемым порами определённого диаметра, или химическим мембранным барьером, создаваемым белковой или полимерной сеткой, покрывающей внешнюю поверхность частиц. Сорбенты RAM могут различаться и внутренней поверхностью пор, доступной для небольших молекул. Это может быть «внутриповерхностная обращённая фаза» (ISRP). В другом случае на этой внутренней поверхности могут находиться карбоксильные группы, придавая этой поверхности свойства слабокислотного катионита. Эти сорбенты существенно упрощают анализ биологических сред. Типичный размер пор в сорбентах с физическим барьером около 8 нм, что позволяет исключать белки с размерами молекул более 20000 Да. В результате в хроматографическую колонку для жидкостной хроматографии можно непосредственно вводить пробу крови. При этом такой белок, как альбумин с молекулярной массой 65600 будет сразу элюироваться из колонки, в то время как молекулы низкомолекулярных аналитов будут удерживаться в порах на ISRP- фазе или по ионообменному механизму.

*Сорбционные методы в зависимости от условий осуществления процесса сорбции.* Single-stage, batch и хроматографические сорбционные методы, как следует из их названий в первую очередь отличаются условиями осуществления сорбционных процессов и соответственно областями применения. Single-stage- сорбция до недавнего времени не находила широкого применения ни в технологических, ни аналитических целях. Первым исключением из этого правила явился аналитический метод твердофазной микроэкстракции (ТФМЭ) [37], предложенный в конце 1980-ых годов. В случае ТФМЭ выделение аналитов производится из анализируемой газовой или

водной фазы в тонкий (несколько мкм) слой сорбирующей фазы, нанесенной на поверхность кварцевой нити, которая способна выдвигаться из металлической иглы микрошприца и вновь возвращаться в нее. ТФМЭ используется для группового концентрирования неполярных и слабополярных органических аналитов из водных растворов и аналитов различной полярности из воздуха с целью их последующего газохроматографического определения. В качестве сорбирующей фазы при осуществлении ТФМЭ из водной фазы, как правило, используются различные неполярные полимерные материалы, например, полидиметилсилоксан или полиакрилат, реже - углеродные адсорбенты, например, графитированная сажа. После завершения сорбционного выделения игла микрошприца с возвращенной в нее кварцевой нитью вводится в нагретый испаритель газового хроматографа, стержень вновь выдвигается и производится термодесорбция и последующее определение сорбированных аналитов.

Batch вариант сорбции реализуется по схеме пропускания потока отдающей жидкой или газовой фазы через колонку, заполненную твёрдофазным сорбентом, и находит практическое применение для концентрирования микрокомпонентов в аналитических и технологических целях. В первом случае для снижения пределов обнаружения аналитов, во втором – чаще всего для очистки сточных вод и газоздушных выбросов от токсичных примесей. Для последующего определения сконцентрированных веществ, как правило, производят их десорбцию, то есть переводят из фазы сорбента в жидкую или газовую фазу. В случае молекулярной сорбции аналитов из газовой фазы обычно применяется термодесорбция, осуществляемая путем нагревания концентрационной колонки с сорбентом. В случае комплексообразующей, ионообменной и специфических разновидностей сорбции десорбция производится пропусканием через сорбционную колонку растворов содержащих ионы или молекулы, способные к замещению сорбатов, или реагенты, обеспечивающие их перевод в несорбируемые формы. Общим

требованием к веществам, применяемым для десорбции является отсутствие мешающего влияния при последующем определении сконцентрированных аналитов или при их утилизации в случае препаративного или технологического применения метода. В силу своей универсальности и многообразия механизмов сорбционных процессов динамическая сорбция в настоящее время является наиболее распространенным методом концентрирования в химическом анализе газовых и жидких сред при определении как органических, так и неорганических микропримесей. Не менее широкое распространение batch сорбционные процессы нашли при решении препаративных и производственных задач.

Наиболее широкая область применения сорбции по всем вышеперечисленным механизмам – хроматографические методы разделения в варианте LSC, которые будут подробно рассмотрены в разделе, посвященном этим методам.

#### **4.4. Методы разделения, основанные на распределении веществ в системе жидкость – газ**

*Газовая экстракция.* По аналогии с системой жидкость-жидкость в системе жидкость-газ основным методом является экстракция, в данном случае – газовая. Газовая экстракция – метод разделения, основанный на распределении веществ между отдающей конденсированной (жидкой или твердой) и извлекающей газовой фазами. Если проводить параллели с жидкостно-жидкостной экстракцией, основной механизм процесса в этом случае – физическое распределение. В тоже время возможен вариант и реакционной газовой экстракции, когда выделяемые летучие соединения являются продуктами реакции целевых компонентов, находящихся в исходной смеси, с вводимыми в пробу реагентами, обеспечивающими их перевод в газообразное состояние.

Основная область применения газовой экстракции – аналитическая химия, на её принципах основан аналитический метод *head space analysis* [38], являющийся методом получения информации о примесном составе жидких и твердых сред на основании анализа контактирующей с ними газовой фазы. При этом анализ газовой фазы, как правило, производится с помощью метода газовой хроматографии. Газоэкстракционное выделение аналитов из твердых сред имеет ограниченное применение обычно для определения мономеров, присутствующих в полимерных материалах. Ещё одним примером аналитического применения газовой экстракции из твёрдофазных образцов является выделение газов из металлов. В этом случае речь идёт о вакуумной экстракции [39]. Несмотря на приведённые примеры, понятие газовая экстракция без дополнительных уточнений, как правило, распространяется только на случай извлечения в газовую фазу летучих веществ из жидкой фазы.

Важнейшей характеристикой газоэкстракционных процессов является коэффициент распределения  $K_{LG}$ . В отличие от жидкостной экстракции коэффициент распределения в этом случае представляет собой отношение равновесных концентраций компонента в отдающей жидкой фазе к его концентрации в извлекающей газовой, то есть по своему физическому смыслу он является величиной, обратной коэффициенту распределения в жидкостно-жидкостной экстракции. Поэтому чем меньше  $K_{LG}$ , тем больше концентрация компонента в извлекающей газовой фазе и тем целесообразнее применение газовой экстракции. Эта нелогичность является данью традициям в истории развития метода газовой экстракции, который возник и развивается независимо от других методов разделения, основанных на различиях в межфазном распределении веществ.

Важнейшими факторами, от которых зависит  $K_{LG}$ , являются природа жидкой фазы, экстрагируемого компонента и температура процесса. Природа же газовой фазы практически не влияет на эту величину, поскольку силы межмолекулярного взаимодействия в газовой фазе значительно меньше, чем в

конденсированных фазах. Поэтому выбор газа-экстрагента обычно определяется практически только его совместимостью с условиями последующего газохроматографического анализа экстракта и экономическими соображениями.

Эффективность газоэкстракционного выделения веществ, как и в других методах, основанных на различиях в межфазном распределении, наряду с коэффициентами распределения зависит от условий осуществления процесса газовой экстракции: *single-stage* или *batch*.

*Batch* газовая экстракция по сравнению с *single-stage* позволяет более полно извлекать выделяемые вещества из одного и того же объема жидкой пробы в меньший объем газа-экстрагента. При её осуществлении поток газа-экстрагента, выходящий из экстрактора, анализируется либо непосредственно, либо пропускается через сорбционную колонку с целью дополнительного концентрирования аналитов. Сочетание динамической газовой экстракции с газоадсорбционным концентрированием аналитов получило название *purge and trap* [40]. В случае последующей термодесорбции сорбированных аналитов подобная схема анализа позволяет на 2 – 4 порядка снизить пределы газохроматографического определения аналитов по сравнению со статической «*single-stage*» газовой экстракцией.

Один из вариантов «*batch*» в газовой экстракции реализуется в условиях относительного перемещения обеих фаз. В этом случае происходит непрерывное извлечение аналитов из потока анализируемой жидкости в поток газа-экстрагента. При этом встречные потоки обменивающихся фаз могут контактировать между собой либо непосредственно при прохождении потока газа над поверхностью потока жидкости или в условиях, когда они разделены газопроницаемой мембраной. В последнем случае полностью исключается загрязнение газа-экстрагента частицами жидкой фазы, так как полностью исключается её капельный унос потоком газа-экстрагента, и появляется возможность регулирования расходов обеих фаз в более широком диапазоне,

чем при их прямом контакте. В тоже время система с мембраной более инерционна, и стабилизация концентрации выделяемых веществ в потоке газа-экстрагента после изменения их концентрации в анализируемой жидкости происходит существенно медленнее, чем при непосредственном контакте жидкой и газовой фазы, и необходимое для этого время обычно составляет несколько десятков минут.

Газовая экстракция во всех рассмотренных выше вариантах широко используется как метод пробоподготовки при газохроматографическом определении летучих органических веществ в различных водных средах (природных и сточных водах, водопроводной воде), в биологических объектах (цельной крови, сыворотке и плазме крови, моче, слюне и др.), в пищевых продуктах (алкогольных и безалкогольных напитках, молочных, мясных и рыбных продуктах и др.). «Batch» варианты газовой экстракции применяют, в частности, для непрерывного определения микропримесей галогенуглеводородов, прежде всего, хлороформа и тетрахлоридауглерода в подвергаемой хлорированию водопроводной воде.

*Жидкостная абсорбция.* Вторым вариантом методов разделения, основанных на распределении веществ в системе жидкость-газ является жидкостная абсорбция. Она является процессом, обратным газовой экстракции. При осуществлении жидкостной абсорбции абсорбируемые компоненты переходят из газовой фазы в объем жидкой. Для характеристики жидкостноабсорбционных процессов используют тот же коэффициент распределения  $K_{LG}$ , что и в газовой экстракции. В этом случае, чем больше величина  $K_{LG}$ , тем при прочих равных условиях выше достигаемые коэффициенты концентрирования аналитов, и, соответственно, ниже пределы их обнаружения.

Различают физическую и химическую абсорбцию (хемосорбцию). В случае хемосорбции происходит химическое взаимодействие извлекаемого из газовой фазы абсорбата с компонентами абсорбента с образованием нелетучего

продукта. В результате процесс выделения довольно часто бывает необратимым, что позволяет достигать практически неограниченных значений коэффициентов концентрирования выделяемых веществ.

В отличие от газовой экстракции в случае жидкостной абсорбции используется исключительно динамический вариант процесса, чаще всего барботирование через сосуд-абсорбер. Динамическая жидкостная абсорбция является универсальным методом выделения и концентрирования органических и неорганических веществ при анализе воздуха и легко сочетается с любыми методами анализа абсорбатов. Этот метод особенно эффективен при определении в воздухе примесей химически активных неорганических веществ, таких как оксиды азота и серы, аммиак, пары минеральных кислот. В тоже время для газохроматографического определения относительно инертных летучих органических веществ, например, углеводородов, предпочтительным является адсорбционное выделение аналитов с их последующей термодесорбцией, которое обеспечивает значительно более низкие пределы обнаружения за счет более высоких коэффициентов концентрирования.

#### **4.5. Сверхкритическая флюидная экстракция.**

Последним из теоретически возможных вариантов методов, основанных на различиях в межфазном распределении веществ, классифицируемых по критерию агрегатного состояния фаз, является сверхкритическая флюидная экстракция (СФЭ). При этом название метода полностью тождественно упомянутому в предыдущем разделе методу извлечения целевых компонентов сверхкритическими флюидами (СФ) из твердофазных объектов, т.е. имеет место полная аналогия с жидкостной экстракцией, но если там в первом случае говорится об экстракции растворителями, а во втором о жидкостно-жидкостной экстракции, в случае SFE подобные различия в названиях метода не



фиксируются. Хотя по физическому смыслу можно выделить методы, реализующие различия в распределении веществ в системах жидкость – СФ и твердая фаза – СФ.

Промежуточное по вязкости и сольватационной способности состояние сверхкритических флюидов (СФ) между газами и жидкостями делает их предпочтительными при необходимости разделения и выделения определённых классов веществ. В первую очередь это – высокомолекулярные соединения природного происхождения. Соответственно, основной областью применения сверхкритической флюидной экстракции является решение препаративных и производственных задач химии высокомолекулярных соединений и в частности биохимии. Кроме того, в последние годы на СФЭ обратили внимание в радиохимии, где флюид  $\text{CO}_2$  нашёл применение как удобный растворитель при экстракции актинидов [41]. Во всех случаях одним из основных достоинств метода является простота очистки выделенных веществ от примесей экстрагента, для чего достаточно изменить давление и температуру до значений, соответствующих существованию вещества, образующего СФ, в газообразном состоянии. Это достоинство особенно существенно при решении препаративных и производственных задач. Широкого применения для разделения и концентрирования в аналитических целях метод (СФ) пока не находит. Здесь существенно больший интерес представляет сверхкритическая флюидная хроматография, о которой более подробно будет сказано в дальнейшем.

## **V. Что же такое хроматография?**

### **5.1. Истоки противоречий в понимании термина «хроматография»**

Завершив рассмотрение методов разделения, основанных на различиях в распределении веществ между фазами, необходимо снова вернуться к хроматографическим методам и в первую очередь попытаться понять, откуда возникли противоречия в понимании самого термина «хроматография». Если вслед за авторами [11] принять, что хроматография это – неоднозначное понятие, необходимо признать, что в зависимости от того, какой смысл придается этому термину, к нему приложимы различные эпитеты, а соответствующие словосочетания характеризуют отдельные хроматографические методы. Подобный подход и выбран в качестве логического ключа к их систематизации. Противоречия в понимании термина хроматография заложил его автор М.С. Цвет. В своем докладе «О новой категории адсорбционных явлений и об их применении к биохимическому анализу» на заседании биологического отделения Варшавского общества естествоиспытателей М.С.Цвет говорил о хроматографии, как, с одной стороны, об открывающейся «возможности выработать новый метод физического отделения различнейших в органических жидкостях веществ», а с другой о том, что дальнейшее изучение адсорбционных явлений позволит разработать «определенные адсорбционно-аналитические приемы» [42, стр.251 и 253].

Заложенное М.С. Цветом двойственное понимание хроматографии, с одной стороны, как метода разделения, а с другой, - как метода анализа прослеживается на всех этапах ее дальнейшего развития. После того как А. Мартин и Р. Синг [43] осуществили хроматографический процесс в системе двух жидких фаз, а позднее в системе жидкость-газ, стало очевидным, что хроматография – это нечто большее, чем адсорбционный анализ или «новый

метод физического отделения веществ» за счет различий в их способности адсорбироваться. Можно спорить с Марином и Сингом, было ли оправданным называть предложенный ими вариант метода «распределительной хроматографией». Хроматография М.С. Цвета изначально была распределительной, но только в другой системе фаз и не распределительной хроматография в принципе быть не может. Но очевидно одно, что после неоднозначной трактовки смысла термина «хроматография» самим М.С. Цветом, по крайней мере, в своих ранних статьях [43] Мартин рассматривал предложенный им вариант жидкостно-жидкостной хроматографии, как один из методов разделения, что дает основания принять в качестве отправной точки для классификации хроматографических методов трактовку хроматографии, как совокупности методов разделения, имеющих свои характеристические признаки.

## **5.2. Хроматографические методы разделения**

### ***5.2.1. Характеристические признаки, по которым различаются хроматографические методы разделения***

Первой группой характеристических признаков, по которым различаются хроматографические методы разделения является агрегатное состояние фаз, в системе которых осуществляется хроматографический процесс. Достаточно вспомнить, что М.С. Цвет впервые реализовал его в системе: твёрдое тело – жидкость, а Мартин с коллегами нашли ей развитие в варианте двух жидких фаз. В последующие годы развитие хроматографических методов разделения вслед за Марином шло в первую очередь по пути создания новых методов за счет расширения числа двухфазных и трехфазных систем, процесс межфазного распределения в которых осуществлялся в хроматографических условиях (Табл. 5). Кроме различий в агрегатном состоянии фаз, участвующих в хроматографическом процессе межфазного распределения, вновь создаваемые хроматографические методы различались и по их относительной полярности.

До этих пор специфику каждому из вновь создаваемых хроматографических методов разделения придавало в первую очередь агрегатное состояние фаз. Одновременно с развитием хроматографических методов по пути варьирования агрегатного состояния фаз, участвующих в хроматографическом процессе, а также по их относительной полярности и механизму удерживания разделяемых веществ стационарной фазой, производился поиск новых условий осуществления этого процесса. Соответственно условия, в которых осуществляется хроматографический процесс, стали ещё одной группой хроматографических признаков, по которым обособлялись новые хроматографические методы разделения. Одним из таких характеристических условий осуществления хроматографического процесса явилась геометрическая форма пространства, в котором он осуществляется. Варьирование хроматографического способа осуществления процесса межфазного распределения по изменению геометрической формы разделительного пространства было дополнено варьированием его размеров.

Ещё одной группой характеристических признаков, внесших разнообразие в хроматографические методы разделения, явились условия ввода в разделительное пространство разделяемой смеси веществ и элюентов. Наконец, во всех перечисленных вариантах хроматографическое разделение веществ осуществляется в дискретном режиме. В разделительное пространство последовательно вводится смесь разделяемых веществ элюентов, а на выходе из него последовательно выделяются фракции разделённых веществ в индивидуальном виде или в виде смесей с новым качественным и количественным составом по отношению к исходной смеси веществ. Последнюю группу составили методы непрерывного разделения веществ, осуществляемого за счёт непрерывного относительного перемещения фаз, участвующих в хроматографическом процессе, в пространстве.

### ***5.2.2. Методы, различающиеся в зависимости от агрегатного состояния фаз, участвующих в хроматографическом процессе, и их относительной полярности***

Специфику каждому из хроматографических методов разделения придаёт в первую очередь агрегатное состояние фаз.

История хроматографических методов разделения начиналась с предложенного М.С. Цветом варианта жидкостно-твёрдофазной хроматографии (ЖТХ) в ее нормально-фазовом варианте (НФЖТХ), в котором в качестве стационарной фазы используются полярные адсорбенты, а в качестве подвижной – неполярные или смешанные растворители. При использовании в качестве подвижных фаз смесей воды и смешивающихся с ней полярных органических растворителей был обнаружен эффект обогащения водой слоя подвижной фазы, контактирующего с гидрофильным сорбентом, и соответственно, обеднения ею раствора, непосредственно не контактирующего с сорбентом. Следствием этого эффекта явилось влияние на параметры удерживания разделяемых веществ в дополнение к адсорбции на сорбенте из раствора, обогащенного водой, их распределения между водно-органическими растворами с различным содержанием воды. При этом в зависимости от анализа и состава подвижной фазы механизм удерживания может быть чисто адсорбционным в системе полярный сорбент – смесь воды с органическим растворителем и параллельно, если пользоваться терминологией А. Мартина, распределительным в системе двух жидких фаз и, наконец, смешанным с аддитивным вкладом в интегральные параметры удерживания – удерживания по каждому из названных механизмов. Такой комбинированный механизм удерживания явился основой метода хроматографии гидрофильных взаимодействий (ННЛС), концепция которого впервые была сформулирована Альпертом в 1990 г.[44], и который не очень строго рассматривался в качестве одного из вариантов НФЖТХ. Нестрогость здесь проявляется в том, что для

любого варианта НФЖТХ характерен только адсорбционный механизм удерживания, а здесь мы имеем дело с комбинированным механизмом.

В середине 20-го века нормальнофазный вариант ЖТХ был дополнен обращеннофазным, в котором стационарной фазой служит неполярный сорбент, а подвижной – полярный растворитель. В рамках общего, наиболее востребованного в настоящее время обращенно-фазного варианта жидкостно-адсорбционной хроматографии (ОФЖТХ) применительно к разделению биомолекул в 70-х годах 20-го века выделилась хроматография гидрофобных взаимодействий (НИС) [45].

Помимо отмеченных частных случаев ЖТХ, специфика которых проявлялась в относительной полярности фаз, образующих хроматографическую систему, в рамках НФЖТХ появился еще целый ряд методов, различающихся механизмами удерживания разделяемых веществ стационарными фазами: помимо «цветовского» варианта жидкостно-адсорбционной хроматографии появились ионообменная [46], эксклюзионная [47], лигандообменная [48] и аффинная [49] хроматографии. В каждом из упомянутых здесь хроматографическом методе можно более подробно прочитать в последних монографиях, посвященных этим методам: ионообменной [50], аффинной [51], эксклюзионной [52], лигандообменной [53].

В следующем по времени появления случае хроматографического процесса в системе двух жидких фаз варианты хроматографических методов дополнительно различаются в зависимости от роли, выполняемой полярной и неполярной фазами. Как и в случае ЖТХ существует нормально-фазный вариант НФЖЖХ, когда неподвижной является полярная фаза, а подвижной – неполярная, и обращенно-фазный (ОФЖЖХ) [54], когда роли полярной и неполярной фаз меняются. В последнем случае в рамках общего метода сформировались его самостоятельные варианты: экстракционная [55] и ионпарная [56] хроматографии. О каждом из этих методов более подробно можно прочитать в [57] и [58]. Первая возникла как метод разделения

неорганических веществ, основанный на данных, полученных в рамках метода жидкостно-жидкостной экстракции. Отсюда возник и сам термин экстракционная. Основные области её применения – препаративное выделение радионуклидов в радиохимии и решение задач неорганического анализа. В органическом анализе большее распространение нашёл другой вариант ОФЖЖХ – ионпарная хроматография. Последняя выделяется в самостоятельный метод по механизму удерживания разделяемых веществ стационарной фазой – это ион-ионные взаимодействия диссоциирующих органических веществ, приводящие к образованию гидрофобных ассоциатов, удерживаемых неполярными стационарными фазами. При этом далеко не всегда это – жидкие фазы. Ионпарная хроматография рассматривается и как в вариант ОФЖТХ, как и ОФЖЖХ отличающийся от остальных методов, реализуемых в данной системе фаз, механизмом удерживания разделяемых веществ.

В истории развития хроматографических методов разделения, различающихся в зависимости от агрегатного состояния фаз, следующим этапом явилось появления методов с подвижной газовой фазой. Первое упоминание о методе газотвёрдофазной хроматографии (ГТХ), обычно называемой в русскоязычной литературе по механизму удерживания разделяемых веществ газоадсорбционной хроматографией (ГАХ) [59], относится к 1950 г. [60], а о жидкостногазовой хроматографии (ЖГХ) к 1952 г. [61]. Оба эти метода по механизмам удерживания разделяемых веществ до настоящего времени остаются одновариантными [62]. Различия внутри каждого из них проявляются только в условиях осуществления хроматографического процесса: в насадочном или капиллярном вариантах, о которых будет сказано в дальнейшем. Развитие хроматографии по пути варьирования различных по агрегатному состоянию сочетаний фаз закончилось лишь в начале 80-х годов 20-го века появлением жидкостногазовой (ЖГХ) [63] и жидкостногазоадсорбционной [64] хроматографий. В первой из которых в качестве

удерживающей выступает газовая фаза, а во второй удерживающими являются газовая фаза и ее твердофазный носитель одновременно. При этом экспериментальное доказательство возможности осуществления хроматографического процесса в системе: подвижная полярная жидкая фаза и неподвижная газовая на год опередило теоретическое предсказание метода ЖГХ, сделанное уже не раз упоминавшимся специалистом в области методов разделения Дж. Гиддингсом [65]. Эти открытия явились последним доказательством универсальности хроматографического метода в плане его приложения к различным по агрегатному состоянию системам фаз. И одновременно был исчерпан лимит подобных сочетаний. Возможности уже упоминавшегося обращенно-фазного по отношению к ГЖХ варианта жидкостно-газовой хроматографии (ЖГХ) пока ещё до конца не выяснены, и она находит применение только как метод определения газов, растворённых в воде [66]. При оценке её перспектив пока можно ориентироваться только на теоретическое предсказание Дж. Гиддингса, что это будет самый эффективный метод жидкостной хроматографии [65].

Наконец, помимо сочетаний фаз, находящихся в традиционных агрегатных состояниях: твердом, жидком и газообразном, разработчики хроматографических методов не смогли пройти мимо сверхкритических флюидов, как во многом идеальных подвижных фаз.

Сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ) [67] нашла широкое применение как препаративный метод в первую очередь в биохимии и фармацевтике [68]. Меньшая вязкость сверхкритических флюидов по сравнению с жидкими подвижными фазами позволяет в СФХ работать при более высоких скоростях элюирования по сравнению с ВЭЖХ и соответственно сокращать время анализа и препаративного разделения, а выделенные в среде сверхкритического флюида конечные продукты легко получить в чистом виде простым приемом сброса давления. Особое место среди работ в области СФХ занимают исследования в области использования в качестве флюида воды в



суб- и в сверхкритическом состоянии [69], как идеального реагента с позиций «зеленой» химии.

Появление хроматографических методов разделения одновременно с двумя стационарными фазами связано с тем, что в тех случаях, когда стационарными являются жидкие или газовые фазы, не имеющие своей формы и размеров, их диспергирование с целью обеспечить максимальную площадь межфазного контакта в хроматографической колонке достигается за счет пористых твердофазных носителей стационарной фазы. Как правило, в качестве носителей используются вещества, инертные по отношению к компонентам разделяемых смесей и обеим фазам, участвующим в хроматографическом процессе, и, следовательно, не влияющие на процесс межфазного распределения между удерживаемой на носителе фазой и подвижной фазой, перемещающейся относительно нее. Но далеко не всегда удаётся найти носители полностью сорбционно инертные по отношению к разделяемым веществам, т.е. на удерживание разделяемых веществ, помимо распределения между двумя флюидными фазами, влияет их адсорбция на носителе из флюидной удерживающей фазы. В результате реализуются хроматографические методы, в названии которых необходимо упоминать все три фазы, участвующие в межфазном распределении: например, газо-жидкостно-твёрдофазная хроматография [70]. В этом случае удерживающими фазами являются и жидкость, и твёрдофазный носитель одновременно с аддитивным вкладом каждой из фаз в удерживание веществ в хроматографической колонке. Максимальный дополнительный вклад в удерживание веществ их адсорбции на твёрдофазном носителе проявляется в случае стационарных газовых фаз [64]. Более того, учитывая, что на пористых гидрофобных носителях при использовании полярных подвижных фаз практически всегда присутствует плёнка неподвижной газовой фазы, влияние адсорбции на носителе из неподвижной газовой фазы проявляется и в случае ОФЖТХ [66].

Все многообразие хроматографических методов, различающихся по критериям агрегатного состояния и относительной полярности фаз, а также механизмам удерживания разделяемых веществ стационарными фазами создавались в течение практически всего 20-го века. Эти методы обобщены в табл. 5.

Таблица 5. Хроматографические методы разделения веществ, характеризующиеся агрегатным состоянием фаз, механизмом удерживания разделяемых веществ удерживающей фазой и (или) относительной полярностью фаз и их ролью в хроматографическом процессе.

	Агрегатное состояние фаз, участвующих в хроматографическом процессе, и их роль в нем		Хроматографические методы и их варианты в зависимости от механизма удерживания разделяемых веществ удерживающей фазой	Дата открытия. Приоритетная публикация*
	Удерживающая (стационарная) фаза или фазы	Транспортная (подвижная) фаза		
1	Твердое тело	Жидкость	Жидкостнотвердофазная (ЖТХ):	1903 [42]
			нормально-фазная (НФЖТХ)	1903 [42]
			обращенно-фазная	1969 [48]
			Ионообменная	1939[49]
			Эксклюзионная	1955[50]
			Лигандообменная	1961 [51]
			Аффинная	1968[52]
2	Полярная жидкость	Неполярная жидкость	Нормально-фазная жидкостно-жидкостная хроматография	1941 [43]
3	Неполярная жидкость	Полярная жидкость	Жидкостно-жидкостная хроматография с обращенными фазами (ОФЖЖХ),	1950[58]
			экстракционная хроматография,	1959[58]
			ионпарная хроматография	1975[59]
4	Твердое тело	Газ	Газотвёрдофазная (газоадсорбционная) хроматография (ГТХ) или (ГАХ)	1950[63]
5	Жидкость	Газ	Газожидкостная хроматография (ГЖХ)	1952[64]
6	Газ	Жидкость	Жидкостногазовая хроматография (ЖГХ)	1981[44]
7	Твердое тело или жидкость	Сверхкритический флюид	Сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ)	1962 [67]
8	Твердое тело и жидкость	Газ	Газо-жидкостнотвердофазная хроматография (ГЖТХ)	1986 [70]
9	Твердое тело и газ	Жидкость	Жидкостно-газотвёрдофазная хроматография (ЖГТХ)	1983 [45]

\*Вместо приоритетных публикаций могут приводится наиболее ранние обзорные публикации или монографии, где можно найти сведения об открытии соответствующего метода

### 5.2.3. Методы, различающиеся в зависимости от условий осуществления хроматографического процесса

В дополнение к изначальной «цветовской» схеме, в которой удерживающая фаза помещалась в цилиндрическую трубку – колонку, появились варианты плоскостной (планарной) хроматографии. Сначала нашим соотечественником Н.А. Измайловым [см. 71] была предложена тонкослойная хроматография, а немного позднее Мартин и Синг предложили хроматографию на бумаге [см. 72], в которой хроматографический процесс осуществлялся в пористой структуре листа специальной хроматографической бумаги, характеризующейся высокой однородностью этой структуры.

В тонкослойной хроматографии разделительное пространство, выполненное в форме плоской пластины, заполняется мелкодисперсной твердофазной стационарной фазой, подобной тем, что используются в обычной колоночной ЖТХ. Во многом совпадают и составы подвижных жидких фаз. Различия с колоночной хроматографией проявляются практически только в геометрической форме разделительного пространства. Причем в планарной геометрии упрощается детектирование разделенных веществ непосредственно в удерживающей фазе – вариант хроматографии, названный М.С. Цветом «проявительным», с той лишь разницей, что он наблюдал зоны разделенных окрашенных веществ визуально, а в настоящее время для количественного определения аналитов в тонкослойных пластинках появились инструментальные средства – денситометры [71].

В частном случае планарной хроматографии, вошедшем в историю хроматографических методов как «бумажная», роль стационарной фазы выполняет или сама целлюлоза, являющаяся материалом, из которого изготовлена бумага, или она служит носителем жидкой стационарной фазы. Соответственно могут реализовываться адсорбционный и

«распределительный» в системе жидкость-жидкость, а также смешанный механизмы удерживания. Перемещение подвижной фазы по слою бумаги обеспечивалось за счет проявления капиллярных сил. Бумажная хроматография, несмотря на такое ее преимущество, как простота выполнения хроматографического разделения веществ, в настоящее время практически не находит применения, но не вспомнить о ней нельзя, так с нее начиналась НФЖЖХ, за открытие которой Мартин и Синг получили Нобелевскую премию.

В плане варьирования масштабов хроматографического процесса наряду с обычными «насадочными» вариантами хроматографии, в котором используются стационарные фазы в гранулированном виде появился капиллярный вариант хроматографии, сначала газовой [73], а потом и жидкостной [74], в которой диаметр хроматографической колонки или зазор между стенками в планарном варианте был уменьшен до нескольких десятков микрон. При этом роль удерживающей фазы могли выполнять стенки капилляра или капиллярного зазора в планарном варианте или для ее создания к этим стенкам прививались специальные функциональные группы, обеспечивающие проявление заданных сорбционных свойств. Наконец, в капиллярном варианте возможно применение и жидких удерживающих фаз. В этом случае они наносятся в виде пленки на стенки, ограничивающие разделительное пространство. В капиллярном варианте хроматографического процесса удается свести к минимуму диффузионные ограничения в скорости установления межфазных равновесий при его осуществлении. При решении аналитических задач определения микроконцентраций аналитов, не требующих существенной емкости хроматографических колонок, капиллярный вариант хроматографии оказался альтернативой традиционной насадочной схеме, когда пространство, в котором осуществляется хроматографический процесс, заполнено диспергированной стационарной фазой, называемой насадкой. В дополнение к традиционным вариантам насадочной и капиллярной хроматографии в последние годы появился новый вариант устройств для

хроматографического разделения веществ – колонки с монолитными сорбентами [75-77], представляющими собой сплошную пористую среду, обладающую сорбционными свойствами, которая синтезируется непосредственно в объёме колонки. Монолитные стационарные фазы позволили резко улучшить эффективность хроматографического процесса.

Дополнительное разнообразие в хроматографический способ осуществления процесса межфазного распределения веществ вносят три различные схемы его осуществления, различающиеся условиями ввода в разделительное пространство разделяемой смеси веществ и элюентов. Следствием этих различий являются различия концентрационных профилей разделяемых веществ в потоке элюента как в самом разделительном пространстве, так и на выходе из него (Рис.1)

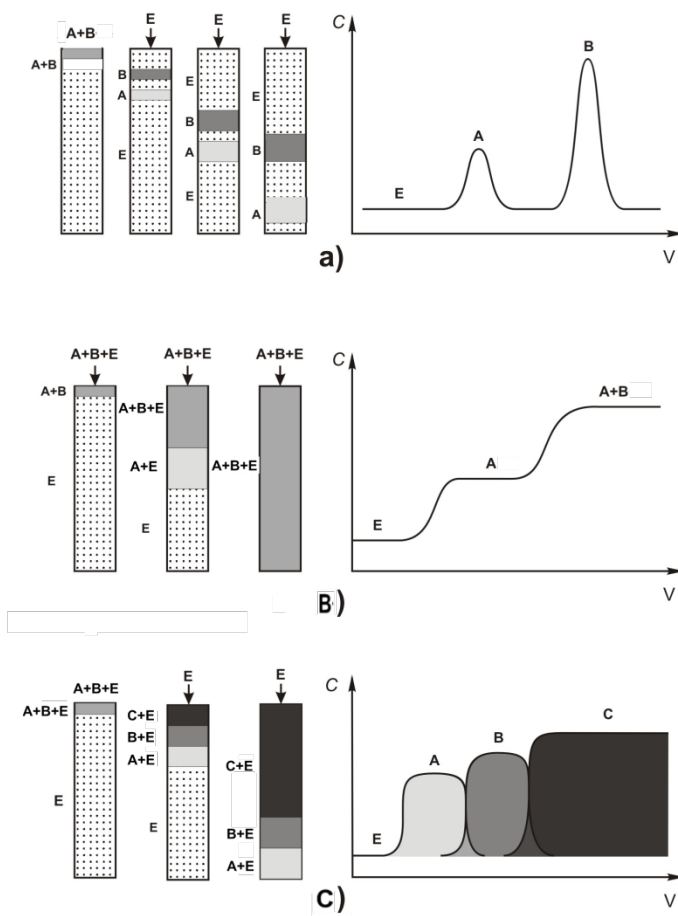


Рис.1. Схемы формирования концентрационных профилей разделяемых веществ в элюентах для различных вариантов осуществления хроматографического процесса: зонного (а), фронтального (б), вытеснительного (в). Обозначения: А,В – разделяемые вещества, Е – элюент, С – вытеснитель.

Первая схема, которую обычно называют элюентной, хотя ее более логично назвать зонной хроматографией, предполагает последовательный ввод в разделительное пространство: в колонку или в плоский слой, заполненные стационарной фазой, исходной смеси веществ и элюентов. В процессе элюирования первоначальная общая зона исходной смеси веществ, перемещаясь с потоком элюента по разделительному пространству, разделяется на зоны индивидуальных компонентов в соответствии с их коэффициентами распределения в используемой системе фаз.

Две другие схемы хроматографического разделения: фронтальная и вытеснительная применяются сравнительно редко. Первая предполагает пропускание через колонку непосредственно разделяемой смеси веществ. При этом концентрационные фронты каждого из компонентов движутся по разделительному пространству с присущей им скоростью, определяемой как и в случае зонного варианта коэффициентами их распределения в используемой системе фаз. При этом фронтальная схема позволяет выделить в индивидуальном виде только один наименее прочно удерживаемый стационарной фазой компонент, да и то только частично. Фронты каждого последующего по прочности удерживания компонента перекрывают полосу элюирования предыдущего. Перекрывание полос элюирования характерно и для вытеснительного варианта, в котором для элюирования используется вещество, удерживаемое стационарной фазой более прочно, чем любой из разделяемых компонентов. Вытеснительная схема представляет интерес в частном случае препаративного хроматографического разделения, где частичное перекрытие зон разделяемых веществ компенсируется максимальной загрузкой ими колонки.

#### ***5.2.4. Методы непрерывного хроматографического разделения веществ***

Помимо перечисленных выше хроматографических методов, в которых хроматографический процесс межфазного распределения осуществляется в

условиях, при которых удерживающая фаза остаётся в разделительном пространстве неподвижной, существуют разновидности хроматографических методов, в которых обе фазы находятся в движении относительно друг друга: «moving-bed chromatography» [78], вошедшая в русскоязычную литературу, как «хроматография с движущимися слоями» [79]. В результате осуществления подобного процесса проявляются различия в скоростях движения фронтов или дискретных зон отдельных веществ в потоках каждой из фаз, участвующих в хроматографическом процессе и открывается возможность непрерывного разделения этих веществ. В связи с появлением хроматографических методов, в которых обе фазы являются подвижными, возникают проблемы с терминологией. Вместо неподвижной или стационарной фазы в данном случае уместнее говорить об удерживающей, а вторую фазу, участвующую в хроматографическом процессе, называть транспортной. Учитывая, что непрерывные хроматографические методы привлекают к себе все большее внимание в решении препаративных проблем [80], такие или с аналогичные им уточнения в терминологии неизбежны.

Идея наиболее универсального варианта непрерывного хроматографического разделения веществ – непрерывной двухмерной хроматографии (НДХ) высказана Мартином еще на начальном этапе развития хроматографии (рис. 2) [77].

Согласно этой идее для непрерывного разделения смеси веществ на произвольное число фракций необходимо, чтобы слой сорбента бесконечной длины АСВД непрерывно перемещался с одной стороны относительно неподвижных систем подачи в него разделяемой смеси веществ и элюентов ( $A_1$  –  $B_1$ ) на рис. 2, а с другой – сборников элюата ( $C_1$  –  $D_1$ ).



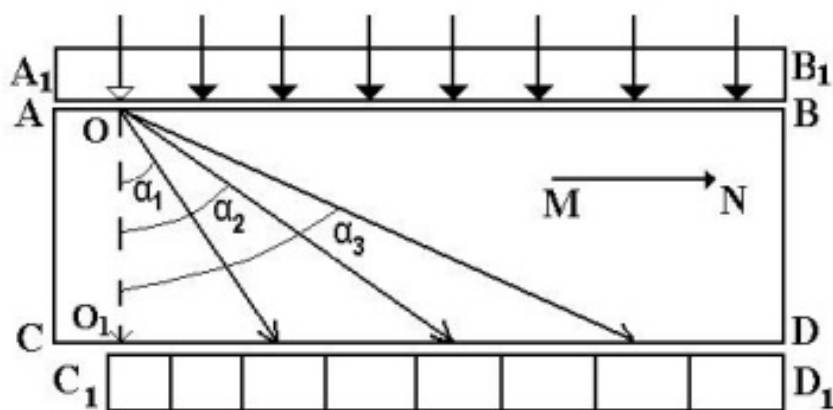


Рис. 2. Схема непрерывного двухмерного хроматографического разделения.

Для имитации бесконечного слоя сорбента Мартин предложил изготовить его в форме полого вращающегося цилиндра (рис. 3).

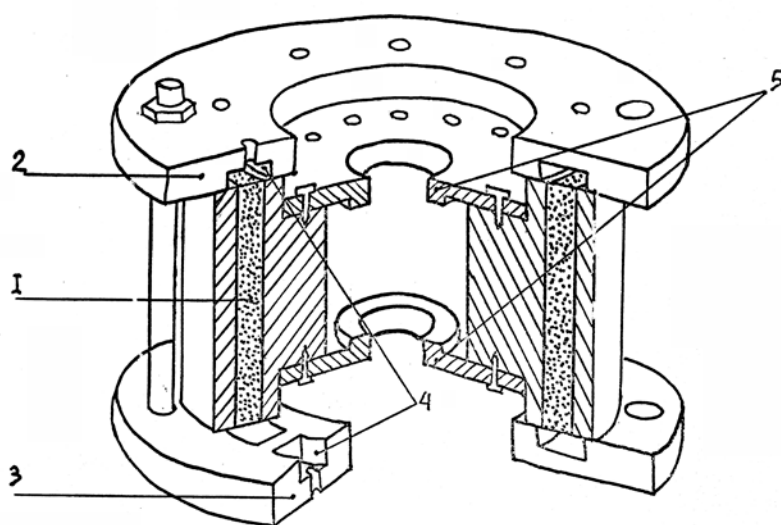


Рис. 3. Устройство для осуществления непрерывной двухмерной хроматографии. 1 – слой удерживающей фазы, 2 – неподвижная система подачи разделяемой смеси и элюентов, 3 – система сбора элюата, 4 – отдельные секции систем подачи элюентов и сбора элюата, соответственно; 5 – корпус вращающегося разделительного бока с удерживающей фазой.

В качестве альтернативного решения был предложен вариант газожидкостной НДХ, в которой хроматографический процесс осуществлялся в узком (капиллярном) зазоре между двумя плоскими полированными кольцами, удерживающими на контактирующих поверхностях слои жидкой фазы [82]. Система из двух колец непрерывно вращается, а в узкий зазор между пластинами по всей внутренней окружности колец через неподвижный колпак, соединенный с вращающимися кольцами ртутным затвором, постоянно подается газ-носитель. В тоже время в одну из точек внутренней окружности через капилляр подается разделяемая смесь. Фракции разделенных компонентов в потоке газа-носителя отбираются по внешней окружности кольца.

В 50 – 70 гг. 20 века предпринимались многочисленные попытки создания непрерывных двухмерных хроматографов на принципах большинства хроматографических методов разделения, начиная с бумажной хроматографии [80] и включая различные варианты газовой [82-85], экстракционную [86], обращенно-фазную жидкостно-жидкостную [87] и ионообменную [88]. Во всех перечисленных вариантах реализации схемы НДХ слой удерживающей фазы выполнен в виде сплошного цилиндра или плоского кольца.

Оригинальным решением в НДХ явились хроматографы, в которых движение сплошного слоя сорбента имитировалось перемещением системы идентичных по размерам и применяемым насадкам хроматографических колонок, расположенных по образующей цилиндра [89]. Несколько позже были разработаны многочисленные варианты многоколоночных хроматографов для непрерывного контроля состава газообразных сред. При их разработке в качестве наиболее предпочтительного решения выбраны схемы, включающие многоходовые краны, переключаемые с определенной периодичностью. Принцип работы одного из возможных вариантов кранов-переключателей поясняет рис. 4.

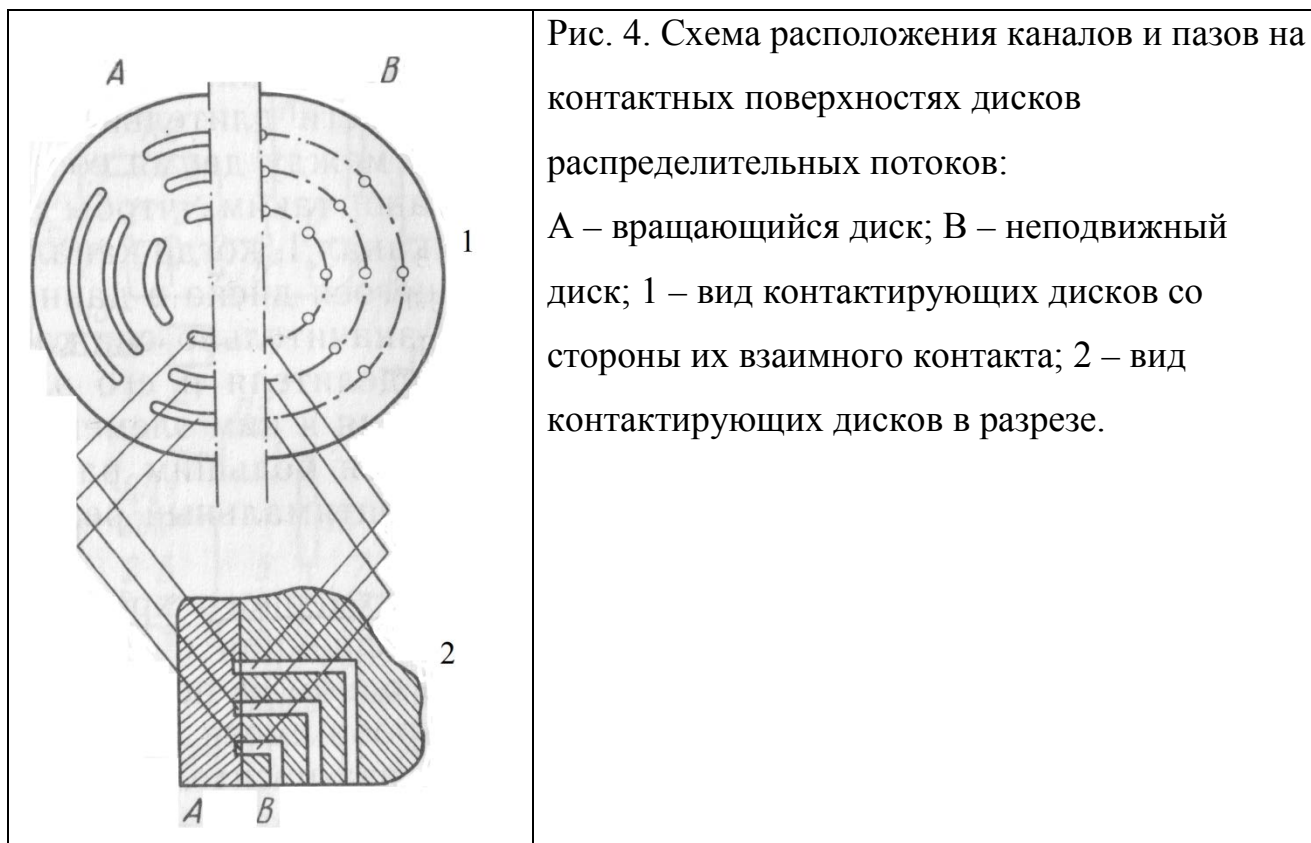


Рис. 4. Схема расположения каналов и пазов на контактных поверхностях дисков распределительных потоков:  
 А – вращающийся диск; В – неподвижный диск; 1 – вид контактирующих дисков со стороны их взаимного контакта; 2 – вид контактирующих дисков в разрезе.

Переключатель выполнен из двух соосно расположенных и герметично контактирующих дисков, один из которых связан с приводом, а другой неподвижен. На неподвижном диске выполнены две системы концентрически расположенных каналов. В каждой системе один канал из каналов разделен на отдельные секции, соединенные, соответственно, с входами либо с выходами хроматографических колонок. Остальные кольцевые каналы предназначены для подачи разделяемой смеси и элюента и сбора элюента. На вращающемся диске выполнены две системы соединительных каналов, входы которых расположены напротив соответствующих кольцевых каналов, а выходы – напротив секций неподвижного диска. Число пар соединительных каналов на вращающемся диске равно числу однотипных колонок. Разделяемая смесь подается через один из кольцевых каналов, затем через соединительные каналы вращающегося диска и секции неподвижного, поступает последовательно в каждую из колонок. В это же время в остальные колонки подается элюент.

Разделенные фракции в той же последовательности, в которой производилось дозирование смеси в процессе разделения, поступают в соответствующие кольцевые каналы, а оттуда – в сборники фракций либо в детекторы. При этом соответствующие кольцевые каналы последовательно соединяются с каждой из колонок, но всегда с одним и тем же кольцевым каналом. В результате каждый компонент анализируемой смеси поступает в свой индивидуальный детектор или сборник элюата. Так как кольцевые каналы каждой системы идентичны, конструкция устройства позволяет произвольно регулировать скорость подачи элюента, а при необходимости – изменять направление элюирования.

В многоколоночной хроматографии для непрерывного контроля газообразных сред удалось найти решение проблемы программированного изменения скорости и направления элюирования [90], отдельного термостатирования системы колонок и системы распределения газовых потоков [91]. В отличие от непрерывного разделения в условиях перемещения слоя сорбента системы колонок относительно систем подачи разделяемой смеси и элюентов, а также неподвижных сборников элюата в данном случае это относительное перемещение в пространстве имитируется кранами-переключателями потоков. В одном из вариантов подобных хроматографов для непрерывного разделения веществ в условиях имитации двумерного хроматографического процесса решена задача непрерывного последовательного группового разделения исходной смеси веществ, а затем последовательного покомпонентного разделения каждой из выделенных на первом этапе фракций [92]. Во всех случаях предусмотрены различные режимы ввода пробы от фронтально-ступенчатого до точечного, а также различные схемы: одновременно из двух анализируемых потоков, с предварительным отбором и консервацией пробы, поочередного ввода пробы из разных анализируемых потоков с помощью одной и той же дозирующей петли и т.д.

На принципах имитации двухмерного хроматографического процесса на многоколоночном хроматографе была разработана серия хроматографов «Аква» для непрерывного контроля состава газообразных сред на ядерных энергетических установках (рис.5).

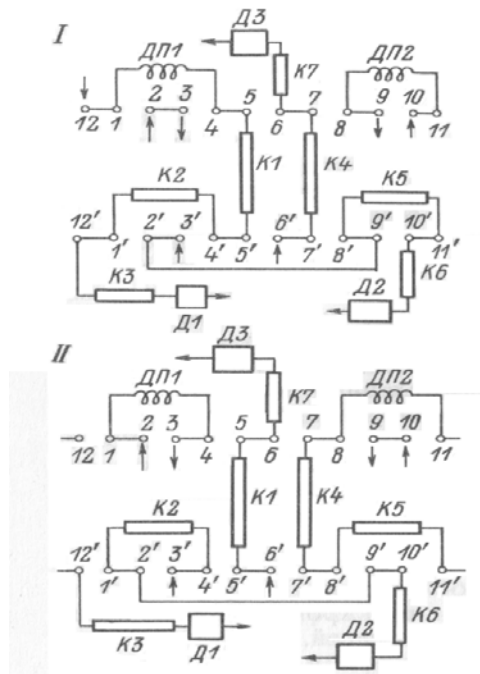


Рис. 5. Схема хроматографа «Аква» для непрерывного анализа трехкомпонентной газовой смеси (пояснения в тексте)

Хроматограф «Аква» в первой версии (рис. 5) предназначен для разделения смеси на три фракции с индивидуальным детектированием каждой из них. В I-ом положении 24-канального распределителя потоков проба смеси, отобранная в дозирующую петлю ДП1, в потоке газа-носителя, подаваемого через канал 12, разделяется на последовательно соединенных колонках К1, К2 и К3. Режим разделения подобран таким образом, чтобы до переключения потоков одна фракция смеси оставалась в колонке К3, либо поступала на детектор Д1. После переключения в другом положении распределителя (II) аналогичный процесс осуществляется в системе, состоящей из дозирующей петли ДП2, колонок К4, К5, К3 и детектора Д1, а фракции из колонок К1, К2 поступают в потоках газа-носителя, подаваемых через каналы 6' и 3', в детекторы Д2 и Д3 (при обратной продувке каналы, к которым подключаются детекторы и источники газа-носителя, меняются местами), фракции из колонок

К4 и К5 поступают в эти детекторы в первом положении распределителя. Для дополнительного разделения фракций, выделенных на колонках К1, К2, К4 и К5 перед детекторами Д2 и Д3 устанавливаются колонки К6 и К7. Пары колонок К1, К4 и К2, К5 по своим параметрам должны быть одинаковы. Рассмотренная схема позволяет также осуществлять одновременный анализ двух сред или контролируемой среды и эталонной смеси, в последнем случае значительно повышается точность анализа.

При этом одна из версий этих хроматографов была ориентирована на контроль газов, растворенных в водном теплоносителе. В этих хроматографах для предварительного выделения растворенных газов из теплоносителей был использован метод ЖГХ. Схема такого хроматографа приведена на рис.6.

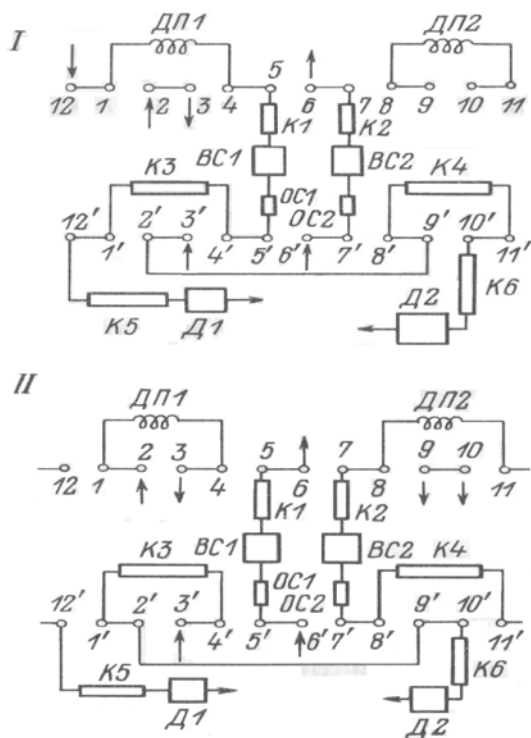


Рис. 6. Схема хроматографа «Аква» для непрерывного анализа газов, растворённых в жидкости (пояснения в тексте)

В случае хроматографа «Аква» для анализа газов, растворенных в теплоносителе (рис. 6), извлечение растворенных газов осуществляется по методу жидкостно-газовой распределительной хроматографии (см. разд. 5.5.2) при фильтрации раствора через колонку, заполненную гидрофобным

носителем. Система извлечения растворенных газов состоит из колонок К1, К2, заполненных гидрофобным носителем, дозирующих петель ДП1, ДП2, влагоотделительных сосудов ВС1, ВС2 и осушителей ОС1, ОС2. В одном из положений распределителя (I) проба воды, отобранная в петлю ДП1, под давлением газа-носителя фильтруется через колонку К1 во влагоотделительный сосуд ВС1. После перекачки всей жидкости выделенные на колонке газы через осушитель ОС1 поступают в разделительную колонку. В это время дозирующая петля ДП2 заполняется новой порцией анализируемого раствора, а осушитель ОС2 и влагоотделитель ВС2 продуваются газом-носителем в обратном направлении. В другом положении распределителя (II) происходит заполнение пробой петли ДП1 и слив воды из влагоотделителя ВС1, а извлечение растворенных газов осуществляется на колонке К2 из пробы, отобранной в петлю ДП2.

Преимущества двумерной хроматографии при ее использовании в аналитических целях проявляется в двух аспектах. При изучении или контроле химических процессов, приводящих к относительно быстрому изменению состава анализируемой среды, метод позволяет получать информацию с практически любой заданной периодичностью. Не менее удобен он и при наблюдении за случайными, непредсказуемыми во времени процессами, требующими минимального времени отклика на любое отклонение от нормы. Например, хроматограф «Аква» разрабатывался для контроля растворенных газов в теплоносителе ядерного реактора. Как исследовательский инструмент он позволяет проследить за радиоаналитическими и массообменными процессами в переходных режимах работы реактора. Но и при стационарных режимах, характеризующихся постоянством состава растворенных газов, нельзя исключить, что в какой-то момент времени произойдет подсос воздуха в конденсатор, попадут в 1-ый контур сорбенты из ионообменных фильтров и подвергнутся радиотермическому разложению. Тут же зафиксированное изменение газового состава позволит принять оперативное решение.

Второе преимущество связано с большей технической простотой создания автоматизированных систем хроматографического контроля сложных многокомпонентных смесей, требующих применения различных типов детекторов. Но есть и одно общее ограничение в применимости методы. Учитывая отсутствие полной воспроизводимости отдельных колонок, двухмерный хроматографический анализ обеспечивает одинаковую точность с традиционной схемой только при хорошем разрешении хроматографических пиков.

Параллельно с попытками реализовать хроматографический процесс по двухмерной схеме, предложенной Мартином, предпринимались многочисленные попытки реализации схемы непрерывной противоточной хроматографии (НПХ) [93]. В отличие от НДХ, последняя обеспечивает возможность непрерывного разделения смеси веществ только на две фракции. Но в тоже время НПХ интересна возможностью имитировать разделение смеси веществ на хроматографической колонке бесконечной длины с бесконечным числом теоретических тарелок, что теоретически должно позволить разделять сколь угодно близкие по свойствам вещества.

Ввиду технических проблем, возникающих при необходимости герметизировать скользящие контакты между слоем удерживающей фазы, системой подачи элюента и сбора элюата, ни одно из перечисленных направлений НДХ в дальнейшем не нашло развития, если не считать найденную ей альтернативу для вариантов хроматографических методов разделения в системах двух флюидных фаз, одной из которых является полярная жидкость, в виде хроматомембранных методов, о которых будет сказано в разделе, посвященном комбинированным методам. Тоже самое произошло с НПХ, ввиду технической сложности реализации противоточного движения сорбента. Неожиданным техническим решением для этого варианта непрерывного хроматографического разделения явился метод противоточной центробежной хроматографии (ССС) [94], реализуемый в системе двух жидких



фаз. В этом методе в отличие от других вариантов ЖЖХ не требуется носитель одной из фаз. Диспергирование одной фазы в потоке другой и ее движение навстречу этому потоку обеспечивается действием центробежных сил, возникающих в колонках спиралевидной формы при их вращении вокруг внешней оси центрифуги или одновременно вокруг двух осей – собственной и оси центрифуги. Если в такую вращающуюся спиралевидную колонку с разных сторон вводить фазы, участвующие в хроматографическом процессе, произойдет их взаимное диспергирование и будет осуществляться встречное движение одной фазы относительно другой, а находящиеся в этой системе вещества будут распределяться между этими фазами согласно закономерностям НПХ. Метод ССС нашел развитие и практическое применение преимущественно в препаративной биохимии.

Параллельно с ССС для решения аналогичных задач в противоточном варианте ЖТХ был предложен метод *Simulated Moving Bed Chromatography (SMBC)* [95], вошедший в русскоязычную литературу под не совсем адекватным термином «хроматография с псевдодвижущимся слоем» [80]. В нем решили проблему создания встречного потока сорбента в НПХ подобно тому, как ее решил Taramasso в НДХ. Движение сплошного слоя сорбента имитируется (*simulated*) системой соединенных друг с другом ячеек, каждая из которых представляет собой хроматографическую колонку. Выход из каждой ячейки коммутируется с входом в следующую ячейку и в конечном итоге все ячейки оказываются связанными в петлю.

Идеи ССС и SMBC доведены до уровня промышленных устройств и находят практическое применение для разделения биологически активных веществ. В частности SMBC, обеспечивающая возможность имитировать хроматографическую колонку любой длины, позволяет решать одну из сложнейших проблем разделения веществ: разделение оптических изомеров [96].

После появления такого многообразия хроматографических методов разделения веществ стало понятно, что термин хроматография имеет не один, а несколько смыслов. С одной стороны, он означает сложный многовариантный метод или, что то же самое, существует множество хроматографических методов разделения веществ, соответствующих различным по агрегатному состоянию и полярности сочетаниям фаз, к тому же отличающихся механизмами удерживания разделяемых веществ стационарными фазами. Кроме того различия между методами вносят и условия осуществления хроматографического процесса. С другой стороны, стал очевиден и второй смысл термина «хроматография». Согласно ему помимо многовариантного метода разделения хроматография может одновременно рассматриваться как универсальный методический приём или способ осуществления процессов межфазного распределения веществ, создающий условия для их разделения, отличные от условий, реализуемых при статическом и динамическом способах осуществления подобных процессов. Этот способ заключается в относительном перемещении фаз в замкнутом разделительном пространстве различной конфигурации, что в конечном итоге приводит к многократному последовательному перераспределению веществ между фазами, результатом чего и является их разделение. Хроматографический способ осуществления процесса межфазного распределения веществ, как было показано выше, имеет целый ряд вариантов, каждый из которых, как правило, рассматривается как отдельный хроматографический метод.

Наконец, смысл термина хроматография дополнительно усложнился и приобрёл ещё одно содержание с момента появления газовых, а позднее и жидкостных хроматографов, в которых хроматографическое разделение было совмещено с определением содержания разделённых веществ в потоке элюата. С этого момента термин «хроматография» приобрёл третий смысл. Она стала восприниматься как многовариантный метод анализа. При этом последний

СМЫСЛ термина для многих «хроматографистов» в настоящее время стал основным и часто единственным.

## VI. Хроматографические методы анализа

Первым общим классификационным признаком хроматографических методов анализа является агрегатное состояние транспортной фазы: соответственно появляются газовая, жидкостная и сверхкритическая флюидная хроматографии. Частным случаем жидкостной хроматографии, выделяемым по признаку химической формы аналитов, является ионная хроматография. Понятие ионная хроматография многими неправильно отождествляется с понятием ионообменная. Более строго в этом случае необходимо говорить об аналитическом варианте применения ионообменной хроматографии, в котором условия детектирования разделенных аналитов оптимизируются за счет применения ионитов с низкой обменной емкостью.

Вторым общим признаком хроматографических методов анализа является схема регистрации аналитического сигнала, различия в которой проявляются в зависимости от того, аналиты определяются в транспортной фазе на выходе из разделительного пространства или в удерживающей фазе непосредственно в его пределах. Первому случаю соответствует элюентная схема хроматографического анализа. Второму – проявительная.

Развитие элюентной схемы, ставшей в настоящее время основной, началось с создания газового хроматографа, в котором было совмещено хроматографическое разделение и детектирование разделенных веществ в потоке газа-носителя, выходящего из хроматографической колонки. Несмотря на широкое распространение газовых, а теперь, жидкостных и сверхкритических флюидных хроматографов, принцип функционирования которых основан на элюентной схеме анализа, необходимо отметить, что вариант схемы хроматографического анализа, в котором детектирование разделенных веществ производится в элюате, выходящем из колонки, имеет один общий недостаток. При прочих равных условиях концентрации веществ в элюате в  $K_{Di}$  раз меньше, чем в стационарной фазе, где  $K_{Di}$  – коэффициент

межфазного распределения  $i$ -компонента в условиях элюирования. Вынужденное разбавление аналитов в  $K_{Di}$  раз по сравнению с их концентрацией в удерживающей фазе при элюировании приводит к закономерной потере чувствительности при элюентной схеме хроматографического анализа по сравнению с той, которая может быть достигнута при детектировании аналитов непосредственно в удерживающей фазе. С учетом того, что элюирование, как правило, производится при  $K_{Di} \leq 10$ , потери по чувствительности составляют до одного порядка.

Поэтому схема хроматографического анализа с определением веществ непосредственно в удерживающей фазе в пределах хроматографической колонки или плоского слоя является более предпочтительной с точки зрения достигаемых пределов обнаружения аналитов. Тем не менее, эта схема пока используется сравнительно редко, что объясняется ограниченными техническими возможностями детектирования веществ непосредственно в удерживающей фазе. Во всех видах планарной хроматографии, где такую схему детектирования реализовать значительно проще, чем в колоночной, ей отдается предпочтение [71]. Детектирование в удерживающей фазе наиболее просто реализуется в радиохимическом анализе, когда определение аналитов, которыми являются радионуклиды, можно осуществлять по их собственному  $\gamma$ -излучению. На этом принципе основан метод экспрессного хроматографического радиохимического анализа [97]. На новом этапе развития хроматографии фактически происходит возврат к «цветовскому» варианту наблюдения хроматограммы непосредственно на колонке. Но при этом вместо визуального наблюдения на качественном уровне производится сканирование пластин или колонок, соответственно, по длине или по высоте с определением содержания веществ в разделенных зонах и получением количественных результатов. Как уже отмечалось выше, следуя терминологии автора метода М.С. Цвета и смысловому содержанию термина, именно эта схема хроматографического анализа является проявительной хроматографией. В

процессе прохождения элюента через слой удерживающей фазы в ней проявляются зоны индивидуальных компонентов анализируемой смеси веществ, подобно тому, как при обработке в соответствующих растворах проявляется «скрытое» изображение на фотопластинке. Подводя итоги рассмотрению хроматографических методов разделения и анализа можно констатировать, что с учетом многообразия существующих на сегодняшний день хроматографических методов можно утверждать, что М.С. Цвет сделал не одно, а сразу три открытия. Во-первых, он открыл специфический колоночный способ осуществления процесса межфазного распределения веществ – хроматографический процесс. Во-вторых, конкретный хроматографический метод разделения: жидкостно-твердофазную хроматографию в нормальнофазном варианте - метод, в котором разделение веществ обеспечивается за счёт различий в их распределении между твёрдой стационарной фазой – адсорбентом и жидкой подвижной фазой. Наконец, в-третьих, он предложил новый вариант методов анализа, получивших в настоящее время название гибридных [98], в которых совмещены операции разделения и определения веществ, и один из его вариантов – метод жидкостной хроматографии в проявительном варианте.

## **VII. Общая классификация хроматографических методов**

### **7.1. Обобщённая классификационная схема**

Согласившись с тем, что «хроматография» – неоднозначное понятие, мы пришли к тому, что в зависимости от того, какой смысл ему придается, оно охватывает целые совокупности методов, имеющих свои характеристические признаки и назначение, адекватные этому смыслу. В первую очередь это – методы разделения, различающиеся, во-первых, агрегатным состоянием фаз, их ролью в хроматографическом процессе и относительной полярностью. Дополнительными отличительными признаками в этой группе методов являются механизм удерживания разделяемых веществ стационарной фазой, условия элюирования из стационарной фазы и назначение. Вторую совокупность составляют методы анализа, различающиеся агрегатным состоянием транспортной фазы и схемой определения аналитов в одном из двух вариантов: в транспортной фазе на выходе из разделительного пространства или непосредственно в стационарной фазе. При этом в жидкостной хроматографии по дополнительному классификационному признаку, каковым является химическая форма аналита, в отдельный аналитический метод выделилась ионная хроматография. Таким образом, появилась возможность создать обобщенную классификационную схему, охватывающую все хроматографические методы, взяв в качестве основного классификационного признака – смысл термина «хроматография» (Табл. 6).

Помимо уже упоминавшихся выше эпитетов к названиям хроматографических методов, в табл. 6 используются характеристики, практически не нуждающиеся в дополнительных пояснениях. Изотермическая, с программированием температуры, градиентная, изократическая хроматографии – варианты методов разделения по зонной

Таблица 6. Общая классификация хроматографических методов в зависимости от смысла, придаваемого термину “хроматография”.

№	Смысл термина “хроматография”	Критерии разграничения методов	Варианты хроматографических методов
1	Способ осуществления процесса межфазного распределения	Схема разделения	зонная, фронтальная, вытеснительная
		Геометрическая форма пространства, в пределах которого осуществляется хроматографический процесс	колоночная, планарная
		Способ диспергирования и фиксации удерживающей (стационарной) фазы относительно потока транспортной (подвижной)	насадочная, капиллярная
		Степень дисперсности или тип насадок и толщина пленки удерживающей фазы	классическая, высокоэффективная
		Условия и направление относительного перемещения фаз	обычная (с неподвижной удерживающей фазой), противоточная и двухмерная
2	Многовариантный метод разделения	агрегатное состояние фаз и их роль в хроматографическом процессе	жидкостно-твердофазная, Жидкостно-жидкостная, Газо-жидкостная и т. п.
		относительная полярность фаз	нормальнофазная, обращеннофазная
		механизм удерживания разделяемых веществ со стационарной фазой	жидкостно-адсорбционная, ионообменная, ионпарная, газоадсорбционная и т. п.
		условия элюирования при зонной схеме разделения	изотермическая, с программированием температуры, градиентная, изократическая и т.п.
		назначение	аналитическая, препаративная
3	Многовариантный метод анализа	агрегатное состояние транспортной фазы или химическая форма определяемых веществ	газовая, жидкостная, сверхкритическая флюидная, ионная
		схема определения разделенных веществ	элюентная, проявительная



схеме, соответственно характеризующиеся: постоянством температуры в процессе разделения, ее изменением по заданной программе, непрерывным или ступенчатым изменением состава транспортной фазы, ее неизменным составом. Наконец, совсем очевидным, не нуждающимся в специальных комментариях, является выделение в хроматографических методах разделения двух направлений по назначению методов – аналитического и препаративного. Последний, в свою очередь, можно разделить на исследовательский и технологический варианты. Первый нашел преимущественное развитие в радиохимии для выделения радионуклидов, в частности – трансплутониевых элементов, что способствовало открытию Am и Cm Сиборгом.

Содержание таких терминов, как классическая и высокоэффективная, также используемых для характеристики хроматографических методов разделения вытекает из основных положений теории хроматографии. Термин эффективность в приложении к хроматографическим методам характеризует возможность достижения максимального эффекта в разделении веществ за минимальное время. Поэтому эффективность определяется, во-первых, разрешением хроматографических пиков разделяемых веществ, зависящим от ширины их зон на выходе из разделительного пространства, а во-вторых, временем, затрачиваемым на получение конечного результата. Улучшение разрешения и сокращение временных затрат достигается за счет использования удерживающих фаз с минимальными размерами частиц насадок или с минимальной толщиной их плёнок в капиллярном варианте и, наконец, использованием специальных пленочных или поверхностно-пористых сорбентов «coreshell» design [99], позволяющих уменьшить длину диффузионного пробега разделяемых частиц в фазе сорбента. Наконец, качественный скачок в повышении эффективности хроматографических методов достигнут за счет создания уже упоминавшихся монолитных сорбентов [75-79]. При этом понятие высокоэффективной хроматографии

часто подменяется термином «хроматография высокого давления» (HPC), который далеко не адекватен сущности характеризуемого хроматографического процесса. Если первый термин отражает конечный результат – хорошее разрешение хроматографических пиков, второй – подчеркивает сам факт использования мелкодисперсных сорбентов, а, соответственно, высокого давления, чтобы продавить через слой такого сорбента элюент. Еще одним объяснением подмены этих понятий является тождественность англоязычных аббревиатур словосочетаний «хроматография высокого давления» и высокоэффективная хроматография». В обоих случаях это HPC.

Тем не менее, стремление к повышению эффективности жидкостной хроматографии и необходимость использования для этого колонок, заполненных мелкодисперсными насадками вызывает потребность в насосах, обеспечивающих все более высокое давление для пропускания через колонки элюентов. Поэтому на новом этапе развития высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) появился ее вариант, который вошел в научную литературу, как хроматография ультравысокого давления (UHPLC) [91].

Согласно табл. 5 для исчерпывающей характеристики любого из хроматографических методов разделения необходимо включение признаков хроматографии как способа осуществления процесса межфазного распределения и одного из вариантов хроматографических методов разделения.

Соответственно для полной характеристики хроматографического метода анализа дополнительно необходимы признаки хроматографических методов разделения и хроматографического способа межфазного распределения. примером полной характеристики метода разделения могла бы быть: «колоночная насадочная высокоэффективная жидкостно-адсорбционная зонная изократическая хроматография». На практике

необходимость в таком обилии эпитетов к слову хроматография отсутствует. Обычно в определенном контексте достаточно одного из них, раскрывающего важнейшие признаки метода с точки зрения решаемой аналитической или препаративной задачи, однако для понимания сущности используемого метода и его возможностей необходимо иметь в виду все характеристические признаки хроматографических методов, как это продемонстрировано в приведенном примере.

## **7.2. Исключения из правила**

Классификационная схема, представленная в табл. 6, охватывает практически все хроматографические методы, и, если какие-то методы не приведены в таблице, речь идет о давно забытых методах, таких как осадочная хроматография. Авторы надеются, что это относится и к еще неоткрытым хроматографическим методам. К числу редких исключений из предлагаемой классификации относятся внесистемные варианты хроматографических методов, такие как уже упоминавшаяся противоточная центрифужная хроматография (ССС) [93], в которой используется нетрадиционный приём диспергирования одной из фаз и создания их встречных потоков за счёт центробежных сил. В качестве второго исключения можно рассматривать «однофазную» хроматографию Гиддингса [100], вошедшую в научную литературу как метод фракционирования в потоке. Это исключение связано с тем, что в данном случае речь идет о совокупности методов, которые по своей природе, строго говоря, не могут быть отнесены к хроматографическим, поскольку, как было показано выше, хроматография в принципе не может быть однофазной. Это нисколько не умаляет заслуг Гиддингса в расширении методологии разделения веществ. Скорее наоборот. Можно утверждать, что он открыл в ней новое направление, а не дополнил отдельным методом многочисленную группу хроматографических методов. Таким самостоятельным направлением в

методологии разделения веществ явилась группа, так называемых FFF-методов [93]. Буквальный перевод словосочетания, соответствующего этой аббревиатуре, - поле, поток, фракционирование, что соответствует фракционированию в потоке под действием сил, направленных перпендикулярно этому потоку. FFF-методы также как хроматография могут рассматриваться, как две совокупности методов: разделения и анализа.

Говоря об исключениях из правила, необходимо также отметить, что в приведенную в табл. 6 классификацию, кроме того, не входят комбинированные методы, в которых объединены принципы сразу двух методов разделения, одним из которых является хроматографический. Те и другие исключения достойны отдельного рассмотрения.

### ***FFF-методы***

Разделение веществ FFF-методами осуществляют в плоском канале, образованном двумя плоскопараллельными пластинами с максимально гладкими поверхностями, образующими канал. Толщина канала выбирается такой, чтобы обеспечить максимально крутой параболический профиль скоростей потока раствора-носителя по сечению канала. В промышленно выпускаемых приборах, фракционаторах, эта толщина  $W$  обычно не превышает 250 мкм. Частицы веществ, введенные с потоком носителя в подобный канал подвергаются воздействию поля, направленного поперёк потока в канале (рис. 7.).

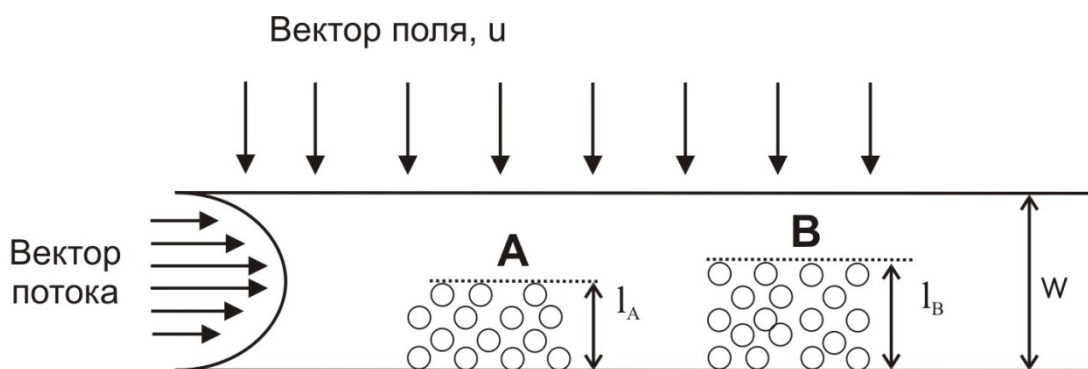


Рис. 7. Схема разделения веществ методами проточного фракционирования в поперечном поле. А, В – компоненты с разными

молекулярными массами ( $M_A > M_B$ );  $l_A, l_B$  – толщина диффузионного слоя компонента А и В, соответственно;  $W$  – толщина канала.

В результате этого воздействия молекулы или более крупные частицы смещаются к одной из стенок канала, называемой аналитической, и попадают в область меньших скоростей потока. При этом величина смещения зависит от размеров частиц и силы, с которой на них воздействует поле. Формирующиеся около аналитической стенки зоны частиц определённых размеров подвергаются диффузионному размытию до некоторой, соответствующей их размерам величины  $l_A$  или  $l_B$ , где А и В – индексы разделяемых веществ. Суммарная скорость движения этих зон по каналу будет зависеть от того, в область каких скоростей потока преимущественно попадут эти зоны. Если компонент В, попадает в область более высоких скоростей, чем компонент А, он будет выходить из канала первым, а компонент А – вторым. Как уже отмечалось выше, подобно хроматографии фракционирование в поперечном поле является не конкретным методом, а общей методологией или общим принципом разделения веществ, объединяющим целую группу методов. Для их индивидуальной классификации важнейшим признаком является природа действующего поперечного силового поля, который автор метода рассматривал в качестве общего классификационного критерия всех методов разделения [11].

Измеряя концентрацию разделяемых веществ в носителе на выходе из канала, можно получить фрактограмму – кривую в координатах время (объем) – отклик детектора, аналогичную хроматограммам, на которой каждому компоненту будут соответствовать пики со своими параметрами удерживания.

Теоретически в FFF-методах может быть применено любое поле, воздействующее на макромолекулы или коллоидные частицы. Чем больше диффузное размытие зоны  $l$ , тем с большей скоростью она будет двигаться с

потоком вдоль щели, так как скорость потока увеличивается по мере удаления от ограничительных стенок. К числу важнейших методов этой группы, уже прошедших практическую апробацию, относятся методы, перечисленные в табл. 7.

Таблица 7. Широко используемые FFF-методы

п/п	№	Действующие силы	Метод
	1	Гравитационное поле или центробежные силы	Седиментационное FFF (SFFF)
	2	Тепловое поле	Термическое FFF (TFFF)
	3	Электрическое поле	Электрическое FFF (EFFF)
	4	Поперечный поток	FFF с поперечным потоком (FFFF)

Одним из первых и наиболее детально изученных вариантов FFF-методов является SFFF. В этом случае в поперечном направлении к потоку раствора-носителя действует гравитационное поле или центробежная сила, создаваемая центрифугой. Значения молекулярных масс разделяемых частиц определяются силой действующего поля. В плоском канале под действием только гравитационного поля легко разделяются крупные частицы размером более 1 – 2 мкм. Разделение более мелких частиц требует помещения разделительной щели в поле центробежных сил. Для достижения нижнего предела молекулярной массы, равного  $\sim 5 \cdot 10^5$  необходимо, чтобы величина центробежного ускорения достигла значения  $\sim 10^5 G$ . Метод нашел применение для определения размеров частиц суспензий как неорганического, так и органического происхождения. Наибольший интерес к методу связан с возможностью разделения биополимеров и частиц биологического происхождения, например вирусов [101].

К числу ранних FFF-методов относится также термическое проточное фракционирование. В случае TFFF разделительная система отличается наибольшей простотой. Диапазон разделяемых по массе и размеру молекул у TFFF существенно шире, чем у СППФ. С помощью TFFF можно разделять

молекулы, начиная от молекулярных масс, равных  $\sim 10^3D$ , а наилучших результатов в SFFF добиваются в диапазоне молекулярных масс  $10^7 - 10^9D$ .

Наиболее однородное и легко регулируемое по силе поле поперек канала удастся создать в случае EFFF. Для этого стенки канала делаются из электропроводящих мембран, непроницаемых для разделяемых электрoзаряженных частиц.

Одним из наиболее активно реализуемых вариантов FFF-методов в силу своей относительной простоты является FFFF. "Поле" в этом варианте FFF заменяет вспомогательный поток носителя, движущийся в направлении, перпендикулярном его основному продольному потоку в канале. Чтобы создать в канале перекрестный поток, одну из стенок разделительного пространства делают из пористого материала, проницаемого для раствора-носителя и непроницаемого для разделяемых веществ. Нижний предел разрешающихся молекулярных масс и, следовательно, размеров молекул в этом случае зависит от размеров пор пористого материала, а верхний предел достигает 1 мкм.

В целом FFF-методы оказались удачным дополнением эксклюзионной хроматографии. Они позволяют быстро и эффективно разделять смеси высокомолекулярных органических веществ – латексов, полимерных материалов, протеинов, ДНК, полимеров, а также коллоидные растворы и суспензии неорганических веществ. Сравнение аналитических возможностей эксклюзионной хроматографии и FFF-методов показало, что диапазон разделяемых веществ по молекулярным массам в первом случае ограничен величиной  $10^6D$ , а во втором простирается до  $10^{18}D$  [101].

## **VIII. Комбинированные хроматографические методы разделения и анализа**

Потребности химического анализа в плане чувствительности и селективности практически не ограничены. Требования к методикам анализа по пределам обнаружения и селективности определения аналитов постоянно растут. Поэтому, несмотря на существование множества рассмотренных хроматографических методов, ориентированных на решение разнообразных аналитических и препаративных задач, еще одним направлением расширения их возможностей явилось создание комбинированных методов в двух вариантах. В варианте объединения возможностей хроматографических методов и других методов разделения и в варианте объединения хроматографических методов с другими методами анализа. К первой группе комбинированных методов относятся электрохроматографические и хроматомембранные методы. Вторая группа комбинированных методов предполагает объединение хроматографических методов разделения с двухмерными аналитическими методами детектирования, обеспечивающими получение аналитического сигнала в форме двухмерных зависимостей, таких как масс-спектры и спектры электромагнитных излучений.

### **8.1. Электрохроматографические методы**

Электрохроматография (ЭХ) сочетает в себе принципы хроматографических и электрофоретических или электроосмотических методов разделения. Соответственно, фактором, влияющим на скорость движения зон разделяемых веществ в электрохроматографическом процессе, помимо составов транспортной и удерживающей фаз, определяющих скорость движения хроматографических зон разделяемых веществ, является электрофоретическая подвижность электрозаряженных частиц в транспортной фазе и (или) скорость электроосмотического потока (ЭОП)



транспортной фазы. При этом возможны три варианта электрохроматографического процесса. В первом из них, когда аналиты находятся в транспортной фазе в электрозаряженных формах, на их перемещение с потоком транспортной фазы может накладываться электрофоретическое перемещение в объеме транспортной фазы. Во втором случае возникающий ЭОП накладывается на гидродинамическое перемещение транспортной фазы, а с ней и на перемещение находящихся в ее пределах зон аналитов. Наконец, в третьем случае электроосмос является альтернативой гидродинамическому перемещению транспортной фазы и является единственной причиной ее движения относительно стационарной фазы.

Из рассмотренных вариантов в электрохроматографии наибольшее практическое применение нашел третий вариант, в котором электроосмос вызывает движение транспортной фазы. В этом случае электрическое поле, создающее электроосмотический поток, фактически заменяет насос. Преимущества при этом проявляются не только в возможности отказаться от механических насосов, но и в повышении эффективности разделения. Поскольку электроосмотический поток вызывается коллективным движением ионов, образующих диффузную часть двойного электрического слоя на границе со стенками капилляра или с поверхностью частиц насадок, уменьшение радиусов капилляров или размеров частиц последних не только не приводит к торможению потока жидкости, а, наоборот, вызывает увеличение скорости ЭОП, а, соответственно, и скорости движения зон разделяемых веществ. В результате в этом случае становится возможным работать с очень длинными тонкими капиллярными и микронасадочными колонками, обеспечивая эффективность, недоступную в аналогичном по составу фаз варианте обычной ВЭЖХ, где лимитирующим фактором при уменьшении радиусов капилляров и размеров частиц насадок оказывается гидродинамическое сопротивление колонок. Помимо возможности

преодоления ограничений, вызванных увеличением гидродинамического сопротивления, электроосмос обеспечивает ламинарный поток с практически плоским профилем, что дополнительно способствует повышению эффективности разделения. Совокупность отмеченных преимуществ реализуется в специальном электрохроматографическом методе, получившем название, капиллярной электрохроматографии (КЭХ) [102]. При этом в названии метода КЭХ термин «капиллярная» имеет особый смысл, отличный от традиционного для обычной хроматографии. Он характеризует не только геометрические размеры и конфигурацию колонки, а принцип перемещения подвижной фазы по капиллярам за счет возникающего в них ЭОП при наложении достаточной для этого разности потенциалов. Этими капиллярами могут служить как сами капиллярные колонки, так и зазоры между частицами гранулированных удерживающих фаз и даже поровое пространство монолитных фаз [103].

Учитывая, что ЭОП определяется величиной  $\xi$ -потенциала поверхности, вдоль которой возникает ЭОП, в КЭХ предъявляются дополнительные требования к материалу колонок и к удерживающим фазам. В качестве материала колонок обычно используется плавленный кварц, который наряду с химической стабильностью и механической прочностью характеризуется высоким электрическим сопротивлением и достаточно большой величиной  $\xi$ -потенциала. Благодаря высокой эффективности КЭХ и возможности использования в колонках монолитных стационарных фаз с помощью этого метода удалось добиться хорошего разделения энантиомеров [103].

Для КЭХ выпускаются специальные хиральные фазы с физически или химически связанными хиральными селекторами, в которых реализуется сочетание высокой эффективности и энантиоселективности. В целом, благодаря отмеченной специфике, метод КЭХ обеспечивает большую эффективность хроматографического разделения, чем этого удавалось

добиться в случае ВЭЖХ. Возможности КЭХ, как и капиллярного электрофореза объективно ограничены разделением электрозаряженных соединений. Это ограничение преодолено в методе мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ) [104]. Разделение нейтральных соединений стало возможным благодаря введению в состав ведущего электролита поверхностно-активных веществ (ПАВ) – мицеллообразователей. Образующиеся в транспортной фазе мицеллы включают вещества, способные взаимодействовать с разделяемыми анализитами. Поэтому они с одной стороны обладают электрофоретической подвижностью и способны выполнить транспортную функцию, а с другой участвуют в процессе межфазного распределения нейтральных молекул разделяемых веществ, выступая в роли псевдостационарной фазы – адсорбента.

В дополнение к методу МЭКХ появился метод аффинной электрокинетической хроматографии [105], реализуемый в условиях добавления в буферный электролит белков. В частном случае этого метода белки иммобилизуют на стенках кварцевого капилляра (капиллярный аффинный электрофорез). Эти методы нашли применение для разделения хиральных лекарственных препаратов на принципах различного связывания энантиомеров белками.

## **8.2. Хроматомембранные методы**

Хроматомембранный массообменный процесс (ХМП) [106, 107] является общей методологией разделения веществ в системах жидкость-жидкость и жидкость-газ, основанной на сочетании принципов хроматографических и мембранных методов разделения. Принципы первых проявляются в реализуемом в этих методах хроматографическом способе межфазного распределения разделяемых веществ. Общность с мембранными методами проявляется в двух аспектах. С одной стороны, в ХМП мембраны

необходимы для введения и выведения из разделительного пространства, в котором осуществляется хроматографический процесс, неполярной жидкой или газовой фазы. С другой, родство с мембранными методами проявляется в самой возможности непрерывного разделения веществ.

По реализуемому принципу непрерывного относительного перемещения двух фаз ХМП может рассматриваться как альтернатива рассмотренным выше методам непрерывной противоточной и двухмерной хроматографии, которые не нашли широкого распространения из-за технической сложности создания встречных или пересекающихся потоков двух фаз и систем пространственного перемещения удерживающей фазы относительно потока транспортной. ХМП предполагает создание потоков двух контактирующих друг с другом флюидных фаз, участвующих в хроматографическом процессе, в пределах одного разделительного пространства, образованного бипористой матрицей. При этом массообмен между потоками двух несмешивающихся жидкостей или полярной жидкости и газа осуществляется в бипористой среде из гидрофобного материала с открытыми порами, несмачиваемого полярной жидкой фазой, использование которого в ХМП является обязательным условием его осуществления. Чтобы обеспечивалась возможность одновременного независимого движения через пористую матрицу потоков двух фаз, эта матрица должна иметь два типа однородных по размерам пор, причём размеры пор каждого типа должны существенно различаться. Размеры макропор должны быть такими, чтобы возникающее в них капиллярное давление по отношению к полярной фазе было пренебрежимо мало и не препятствовало ее прохождению через них. Поры второго типа условно называются микропорами. Условность здесь состоит в том, что термин «микро»- не соответствует классификации ИЮПАК пор по размерам, а говорит только об их меньших размерах относительно макропор. Эти размеры отвечают условию компромисса. С одной стороны, они должны быть настолько малы, чтобы возникающее в них

капиллярное давление по отношению к полярной жидкой фазе препятствовало её проникновению в поры этого типа. С другой – они должны обеспечивать достаточную проницаемость для потока газов или неполярных жидкостей, смачивающих поверхность пористой гидрофобной матрицы.

В случае методов, реализуемых в системах жидкость-газ, в ХМП воспроизводится биохимический процесс – массообмен между вдыхаемым воздухом и кровью в легких человека и животных. Вдыхаемый воздух поступает в легкие через бронхи, которые разветвляются, переходя в бронхиолы, оканчивающиеся множеством пузырьков – альвеол. На стенках альвеол, пронизанных сетью капиллярных кровеносных сосудов, осуществляется газообмен между воздухом и кровью. Различия с ХМП здесь проявляются только в масштабном факторе. В хроматомембранных ячейках (ХМЯ) полярная жидкость (в частном случае – кровь) перемещается по макропорам, а газовая фаза по микропорам. Тогда как в легких макропоры – альвеолы заполняет воздух, а микропоры, в качестве которых выступают микрокапилляры, заполняет кровь. Массообмен в обоих случаях осуществляется по границам пересечения пор того и другого типа, что позволяет рассматривать ХМЯ в качестве искусственных лёгких.

С другой стороны, в случае методов, основанных на массообмене в системах жидкость-жидкость, пористая структура внутреннего объема ХМЯ аналогична структуре насадки хроматографической колонки в ОФЖЖХ. Микропоры в бипористой матрице также как в частицах носителя заполнены неполярной фазой, а макропоры, представляющие собой пространство между частицами носителя, образуют каналы, по которым проходит поток полярной фазы. В соответствии с этой аналогией движение зоны выделяемого вещества в хроматомембранной ячейке с потоком полярной фазы подчиняется тем же законам, как и движение зон в хроматографической колонке в случае ОФЖЖХ. Различия проявляются в условиях непрерывного хроматомембранного процесса, когда зона перемещается одновременно в

потоках двух фаз. Здесь имеет место полная аналогия с закономерностями перемещения зон в непрерывной двухмерной и (или) противоточной ОФЖЖХ.

ХМП может быть реализован при любом сочетании флюидных фаз, одна из которых не смачивает поверхность бипористой матрицы, необходимой для его осуществления, а вторая смачивает её. При этом в зависимости от того, какая из фаз является отдающей, а какая поглощающей, возможен целый ряд хроматомембранных методов разделения [108]. В число важнейших из них входят: хроматомембранная жидкостная экстракция (ХМЖЭ), хроматомембранная газовая экстракция (ХМГЭ) и обратный последний метод хроматомембранной жидкостной абсорбции (ХМЖА). Несмотря на общность принципов, каждый из названных методов имеет свою специфику и свои области применения.

Метод ХМЖЭ приложим практически к любой из экстракционных систем, в которых одной из фаз является вода или водные растворы, а другой – органический экстрагент. По сравнению с традиционными схемами реализации экстракционных процессов ХМЖЭ позволяет в несколько раз сократить продолжительность стадии экстракционного выделения и обеспечивает возможность проводить это выделение в непрерывном или в легко автоматизируемом дискретном режиме. При этом полностью исключается возможность образования эмульсий. Возможные ограничения связаны только с высокой вязкостью экстрагентов. Основная область применения ХМЖЭ – концентрирование и выделение из водных растворов наиболее распространенных органических загрязнителей гидросферы: нефтепродуктов, фенолов и ПАВ в схемах непрерывного проточного и проточно-инжекционного анализа [109].

Благодаря значительно меньшей вязкости газообразных сред по сравнению с жидкими экстрагентами, наибольшее распространение находят методы разделения на принципах ХМП с участием газовых фаз – ХМГЭ и ХМЖА. Первая открыла возможность реализации непрерывного headspace

анализа [110], вторая – непрерывного жидкостного абсорбционного выделения полярных газообразных примесей из атмосферного воздуха [111].

Непрерывную ХМГЭ помимо экспериментальных удобств автоматизации процедуры газоэкстракционного выделения выгодно отличает от традиционных вариантов проточной газовой экстракции существенно меньшая инерционность. Стабилизация концентраций выделяемых веществ в потоке газа-экстрагента после изменения их концентраций в анализируемой жидкости в случае ХМГЭ наступает через несколько секунд вместо нескольких минут при традиционных схемах газовой экстракции в условиях барботажа. Ещё одним преимуществом является удобство совмещения газоэкстракционного выделения аналитов с их адсорбционным концентрированием из потока газа-экстрагента. Определёнными достоинствами обладает и дискретный вариант ХМГЭ. По сравнению с барботированием дискретный вариант ХМГЭ позволяет при прочих равных условиях извлекать аналиты в гораздо меньший объем газа-экстрагента и увеличить полноту их извлечения.

При осуществлении ХМЖА аналиты из потока газовой фазы извлекаются в полярную жидкую фазу, обычно в воду или в водные растворы. Подобно ХМГЭ в случае ХМЖА возможны непрерывный и дискретный варианты извлечения аналитов. Важным преимуществом ХМЖА, связанным с более высокой эффективностью массообмена в ХМП, является возможность пропускать поток анализируемого газа через абсорбирующий раствор без проскока аналитов с гораздо большими расходами, чем в традиционном барботажном варианте жидкостной абсорбции. Основная область применения ХМЖА – извлечение из анализируемого воздуха химически активных органических и неорганических веществ, способных образовывать в водных растворах нелетучие производные. В этом случае легко выбрать абсорбирующий раствор, обеспечивающий выделение аналитов с практически

неограниченными коэффициентами концентрирования, а в случае очистки газов – с практически неограниченными коэффициентами их очистки от полярных реакционноспособных примесей.

### **8.3. Хроматографические методы анализа с двухмерным детектированием**

История развития этого направления комбинированных методов достаточно подробно описана в [112]. Первым вариантом подобных методов явилась газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС), в которой объединено газохроматографическое разделение аналитов с масс-спектральным детектированием. В настоящее время этот комбинированный метод в органическом анализе можно уже считать общепринятым. Утверждается, что он является наилучшим инструментом для проведения количественного анализа смесей органических соединений, который позволяет получать «полную качественную и количественную информацию» об объекте анализа [113]. Основная проблема, с которой пришлось столкнуться в ГХ-МС, - ввод пробы из области повышенного давления, под которым газ-носитель находится в хроматографической колонке, в область вакуума в ионизационной камере масс-спектрометра. Эта проблема легче решается в случае капиллярных колонок с минимальным расходом газовой фазы, где количество вводимой газообразной пробы не нарушает вакуум. Расход через насадочные колонки слишком велик для прямого ввода пробы в ионизационную камеру и в этом случае потребовались специальные технические решения в виде сепараторов для отделения избыточного газ-носителя, устанавливаемых между хроматографической колонкой и масс-спектрометром. Эта проблема уже достаточно давно успешно решена в серийно выпускаемых приборах – хромато-масс-спектрометрах. Подробную



информацию о найденных инструментальных и методических решениях можно найти в специальных изданиях [114].

Следующим шагом в создании комбинированных методов явилась хромато-масс-спектрометрия в варианте объединения жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. В этом случае задача стыковки хроматографа с масс-спектрометром оказалась еще более сложной задачей. Среди многочисленных версий решения этой задачи практически применяются две [115]. В обоих случаях поток жидкости на выходе из колонки диспергируется до состояния струи, образованной из мелких капель, которая далее попадает в нагреваемую камеру, в которой происходит испарение растворителей и удаление их паров с помощью вакуумирования. Заряженные частицы, остающиеся в газовой фазе после удаления растворителей, могут быть непосредственно направлены в масс-спектрометр без какой-либо их дополнительной ионизации. Такой вариант, фактически представляющий собой способ регистрации ионов, изначально содержащихся в жидкой фазе, получил название термораспыления (Thermo Spray Ionization – TSI) [116]. Главный недостаток ионизации термораспылением – невозможность регистрации сигналов аналитов, не ионизованных в условиях хроматографического разделения – в ВЭЖХ преодолевается дополнительной ионизацией органических соединений непосредственно в камере, в которой происходит испарение летучих компонентов растворителей, или после нее. Испытаны сочетания ионизации термораспылением с ионизацией электронным ударом, химической ионизацией, фотоионизацией, в том числе при атмосферном давлении, но широкого распространения они пока не получили. Наиболее удачным решением оказалось удаление растворителей в электрическом поле (потенциалы 1 – 5 кВ) – так называемое электрораспыление (Electro Spray Ionization - ESI), т.е. фактически представляющее собой сочетание термораспыления с мягкой полевой ионизацией. В этом варианте можно

получать масс-спектры как положительно, так и отрицательно заряженных ионов многих органических соединений.

Еще одним вариантом комбинированного метода является сочетание газовой хроматографии с атомно-эмиссионной спектрометрией, обладающей значительно большей информативностью по сравнению с газовой хроматографией с традиционными инструментальными методами детектирования при идентификации и определении металлоорганических соединений и органических соединений с другими гетероатомами [117].

В решении проблем идентификации органических веществ помимо метода, объединяющего газовую хроматографию и масс-спектрометрию, большой интерес представляет более сложный комбинированный метод, в основе которого лежит сочетание газохроматографического разделения с одновременной регистрацией масс-спектров и ИК-фурье-спектров. Использование ИК-спектров, особенно наборов сигналов в областях «отпечатки пальцев», где лежат характеристические линии для данного типа соединений, считается одним из самых надежных методов идентификации органических соединений [118]. Возможности метода несколько ограничены тем, что имеющиеся в многочисленных базах данных ИК-спектры органических соединений приводятся для конденсированных фаз. Базы данных для газовой фазы весьма ограничены. В тоже время существует ряд задач установления строения органических соединений, которые могут быть решены за счет дополнения масс-спектров данными ИК-спектроскопии, например, при определении положения заместителей в ароматических соединениях (замещенных бензолах, фенолах и др.). Последнее способствовало развитию этого направления.

В целом комбинированные методы разделения и анализа, в которых одним из методов является хроматографический, явились существенным дополнением в методологии хроматографического анализа.



## Список литературы

1. Даванков В.А., Яшин Я.И. Сто лет хроматографии // Вестник РАН. 2003/ Т. 73. № 7. С. 637–646.  
Davankov V.A., Yashin Ya. I. One hundred years of chromatography // Russian Chemical Bulletin. 2003. V. 73. № 7. P. 637-646.
2. Яшин Я.И., Яшин А.Я. Основные тенденции развития хроматографии после 110-летия со дня ее открытия М.С. Цветом // Сорбционные и хроматографические процессы. 2014. Т. 14. № 2. С. 203–213.  
Yashin Ya.I., Yashin A.Ya. Major trends in chromatography after 110 the anniversary of its opening M.S.Tsvetom // Sorption and chromatographic processes. 2014. V. 14. № 2. P. 203-213.
3. Chromatography: A Century of Discovery, 1900-2000. (Eds. C.W.Gehrke, R.L.Wixom, E.Bayer.) Elsevier, New York, 2001.
4. Березкин В.Г. Что такое хроматография? О новом подходе к определению хроматографии. М.: Наука. 2003. 75 с. Berezkin V.G. What is chromatography? A new approach to the definition of chromatography. М.: Nauka. 2003. 75 s.
5. Хроматография. Основные понятия. Терминология. Под ред. В.А. Даванкова. Сборники научно-нормативной терминологии. Вып. 114. М.: Комитет по научной терминологии РАН. 1997. 23 с. Chromatography. Basic concepts. Terminology. Ed. By Davankov V.A. Collections of scientific and regulatory terminology. № 114. М.: Committee for Scientific Terminology RAS. 1997. 23 s.
6. Zolotov Yu.A. / Analyst. 1978. V.103, N 1222. P. 56/
7. Valcarcel, M., Luque de Castro, M.D. (1991) *Non-chromatographic continuous separation techniques*; Royal Society of Chemistry: Cambridge.
8. Otto, M. (2011) *Analytische Chemie*; Wiley-VCH: Weinheim.

9. Kellner, R., Mermet, J.-M., Otto, M., Valcárcel, M., Widmer, H. M. (2004) *Analytical Chemistry: A Modern Approach to Analytical Science*; Wiley-VCH Verlag : Weinheim.
10. Karger, B.L., Snyder, L.R., Horvath, C. (1973) *An Introduction to Separation Science*; Wiley, John & Sons: NY.
11. Giddings, J.C. (1978) Basic Approaches to Separation. Analysis and Classification of Methods According to Underlying Transport Characteristics. *Sep. Sci. Technol.*, 13: 3-24.
12. Giddings, J.C. (1991) *Unified Separation Science*; Wiley, John & Sons: NY.
13. Macasek, F., Navratil, J.D. (1992) *Separation Chemistry*; Chichester: Ellis Horwood limited, England.
14. Ahuja, S. (2003) *Chromatography and separation science*; Academic Press: NY.
15. Москвин Л.Н. Классификация методов разделения // Separation and Purification. 2016. V. 1. P.
16. Sun, H., Ge, X., Lv, Y., Wang, A. (2012) Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed. *J. Chromatogr. A*, 1237: 1-23.
17. Herrero, M., Castro-Puyana, M., Mendiola, J.A., Ibanez, E. (2013) Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. *Trends Anal. Chem.*, 43: 67-83.
18. Pico, Y. (2013) Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *Trends Anal. Chem.* 43: 84-99.
19. Michel, T., Destandau, E., Elfakir, C. (2011) Evaluation of a simple and promising method for extraction of antioxidants from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries: Pressurised solvent-free microwave assisted extraction. *Food Chem.*, 126: 1380-1386.

20. Zolotov, Yu. A. (1970) *Extraction of Chelate Compounds*; Humphrey Sci. Publ.: Ann Arbor, USA.
21. Zolotov, Yu.A. (1997) *Macrocyclic Compounds in Analytical Chemistry*; Wiley; NY., USA.
22. Menon, S.K., Hirpara, S.V., Harikrishnan, U. (2004) Synthesis and applications of cryptands. *Rev. Anal. Chem.*, 23: 233-268.
23. Sun, P., Armstrong, D.W. (2010) Ionic liquids in analytical chemistry. *Anal. Chim. Acta*, 661: 1-16.
24. Vidal, L., Riekkola, M.-L., Canals, A. (2012) Ionic liquid-modified materials for solid-phase extraction and separation: A review. *Anal. Chim. Acta*, 715: 19-41.
25. Treybal, R.E. (1963) *Liquid Extraction*; McGraw-Hill book Company INC: NY., USA.
26. Souverain, S., Rudaz, S., Veuthey, J.-L. (2004) Restricted access materials and large particle supports for on-line sample preparation: an attractive approach for biological fluids analysis (Review). *J. Chromatogr. B*, 801: 141-156.
27. Ravelo-Perez, L.M., Herrera-Herrera, A.V., Hernández-Borges, J., Rodríguez-Delgado, M. Á. (2010) Carbon nanotubes: solid-phase extraction. *J. Chromatogr. A*, 1217: 2618-2641.
28. Clearfield, A. (2000) Inorganic Ion Exchangers, Past, Present and Future. *Solvent Extr. Ion Exch.*, 18: 655-678.
29. Zagorodni, A.A. (2006) *Ion Exchange Materials: Properties and Applications*; Elsevier: Amsterdam, Netherland.
30. Herling, H.R. (1967) *Chelatbildende Ionenaustauschern*; Akademie-Verlag Berlin, Germany.
31. Campbell D.H., Leuscher E., Lerman. Immunologic adsorbents. I. Isolation of antibody by means of a cellulose-protein antigen. *Proc.Nat.Acad.Sci.*, U.S., v.37, N 9, pp. 575-578 (1951)

32. Hage, D.S., Anguizola, J.A., Bi, C., Li, R., Matsuda, R., Papastavros, E., Pfaunmiller, E., Vargas, J., Zheng, X. (2012) Pharmaceutical and biomedical applications of affinity chromatography: Recent trend and developments. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 69: 93-105.
33. Sellergren, B. (2001) *Molecularly imprinted polymers: Man-made mimics of antibodies and their application in analytical chemistry*; Elsevier: Amsterdam.
34. Andersson, L.I. (2001) Selective solid-phase extraction of bio- and environmental samples using molecularly imprinted polymers. *Bioseparation*, 10: 353-364
35. Haginaka, I. (2004) Molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction. *Anal. Bioanal. Chem.*, 379: 332-338.
36. Hu, S., Li L., He, X. (2005) Molecularly Imprinted Polymers: A New Kind of Sorbent with High Selectivity in Solid Phase Extraction. *Progress in Chemistry*, 17: 531-543.
37. Thurman, E.M., Mills, M.S.(1998) *Solid-phase extraction*; Wiley: NY, USA.
38. Ioffe, B.V., Vitenberg, A.G. (1984) *Head-Space Analysis and Related Methods in Gas Chromatography*; Wiley: NY.
39. Melnick, L. M., Levis, L.L., Holt, B.D. (1975) *Determination of Gaseous Elements in Metals*; Wiley-Interscience. Publ.: NY-London-Sydney-Toronto.
40. Chary, N.S., Fernandez-Alba, A.R. (2012) Determination of volatile organic compounds in drinking and environmental waters. *Trends Anal. Chem.*, 32: 60-75.
41. Enokida, Y., Sawada, K., Shimada, T., Yamamoto, I., (2007). An option making for nuclear fuel reprocessing by using supercritical carbon dioxide. *Global 2007: Advanced Nuclear Fuel Cycles and Systems*; American Nuclear Society, Boise, Idaho, USA, 1029–1032.

42. *Цвет М.С.* // В кн. М.С.Цвет. Избранные труды. М: Наука, 2013. С. 241. Tzvet M.S. // In book M.S. Tzvet Selected Works. M.: Nauka. 2013. С. 241.
43. *Martin A.J.P., Synge R.L.M.* A new form of chromatogram employing two liquid phases // *Biochem. J.* 1941. Vol. 35, P. 1358–1368.
44. *Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) and Advanced Applications* / Eds. Wang P.G., He W. CRC Press, Boca Raton, 2011. 610 p.
45. *Halász I., Sebestian I.* New Stationary Phase for Chromatography // *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1969. Vol. 8. P. 453-454.
46. Samuelson O. Über die Verwendung von basenaustauschenden Stollen in der analytischen Chemie I. *Z.anal.Chem.*, Bd.116, N 9-10, S.328-334 (1939)
47. Lathe G. H., Ruthven C. R. J. The separation of substances on the basis of their molecular weights, using columns of starch and water. *Biochem J.*, v. 60, N4, xxxiv (1955).
48. Helfferich F. Ligand exchange. A novel separation technique, *Nature (London)* 189, N4769, pp.1001-1002 (1961).
49. Cuatrecasas P., Wilchek M., Anfinsen C.B. Selective enzyme purification by affinity chromatography. *Proc.Nat.Acad.Sci., U.S.*, v.61, N 2, pp. 636-643 (1968)
50. Marhol M. Ion exchangers in Analytical Chemistry: In two parts. M.: Mir. 1985. Part 1 – 264 s., part 2 – 280 s.
51. *Handbook of Affinity Chromatography, Second Edition* / Eds. D.S.Hage, J. Cazes. CRC Press, Boca Raton, 2005. 968 p.
52. Striegel A., Yau W.W., Kirkland J.J., Bly D.D. *Modern Size-Exclusion Liquid Chromatography: Practice of Gel Permeation and Gel Filtration Chromatography*, 2nd Edition. J. Wiley&Sons, Hoboken, New Jersey, 2009. 494 p.
53. Даванков В.А., Навратил Дж., Уолтон Х. Лигандообменная хроматография. М.: Мир, 1989. 294 с. Davankov V.A., Navratil G., Wolton H. *Ligandchange chromatography*. M.: Mir. 1989. 294 s.



54. *Howard G.A., Martin A.J.P.* The separation of the C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> fatty acids by reversed-phase partition chromatography // *Biochem. J.* 1950. Vol. 46, P. 532–538.
55. Секерский С., Котлинская Б. Разделение смесей циркония и ниобия методом распределительной хроматографии с обращенными фазами. *Атомная энергия*, т.7, № 2, 160-162 (1959)
56. Eksborg, S.; Lagerstrom, P.; Modin, R.; Schill, G.; Ion Pair Chromatography of Organic Compounds *J. Chrom.*, v. 83, 99-110 (1973).
57. Экстракционная хроматография. Сб. Под ред. Г. Траун и Г.Герсишш пер. с англ. М.: Мир 1978. 627 с.
58. *Cecchi T.* Ion-Pair Chromatography and Related Techniques. CRC Press, Boca Raton, 2009.
59. *Киселев А.В., Яшин Я.И.* Газо-адсорбционная хроматография. М.: Наука, 1967. 256 с. Kiselev A.V., Yashin Ya. I. Gas-adsorption chromatography. M.: Nauka. 1975. 256 s.
60. Туркельтауб Н.М. Хроматографический метод отдельного определения микроконцентраций углеводов в воздухе. *ЖАХ*, т.5, № 4, 200-210 (1950)
61. James A. T., Martin A. J. P. Gas-liquid partition chromatography: the separation and micro-estimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid. *Biochem J.*, v. 50, N 5, pp. 679–690 (1952).
62. *Кейлеманс А.* Хроматография газов. М.: Изд-во ИЛ. 1959. 320 с. Keilemans A. Chromatography of gases. M.: IL. 1959. 320 s.
63. *Москвин Л.Н., Горшков А.И., Гумеров М.Ф.* Жидкостно-газовая распределительная хроматография // Докл. АН, 1982. Т. 265, С. 378–381.
64. *Москвин Л. Н., Родинков О. В.* Жидкостно-газовая адсорбционная хроматография // Журн. аналит. химии. 2004. Т. 59. С. 1289–1294. Moskvin L.N., Rodinkov O.V. Liquid-gas adsorption chromatography // *Journal of analytical chemistry.* 2004. V. 59. P. 1289-1294.

65. *Giddings J.C., Myers M.N.* Liquid-gas partition chromatography (LGC): An LC system with a gaseous stationary phase for gas analysis. // *J. High Resolut. Chromatogr.* 1983. Vol. 6. P. 381–382.

66. *Москвин Л. Н., Родинков О. В.* Жидкостно-газовая адсорбционная хроматография // *Журн. аналит. химии.* 2004. Т. 59. С. 1289–1294.

67. *Klesper E., Corvin A.H., Turner D.A.* High Pressure Gas Chromatography above Critical Temperature. *J.Org.Chem.*, v.27, N 2, pp.700-701 (1962)

68. *Supercritical Fluid Chromatography: Advances and Applications in Pharmaceutical Analysis.* / Ed. G.K.Webster. Pan Stanford Publishing, 2014. 418 p.

69. *Yang Y.* Subcritical water chromatography: A green approach to high-temperature liquid chromatography. Review. // *J. Sep. Sci.* 2007. Vol. 30. P. 1131–1140.

70. *Березкин В.Г.* Газо-жидко-твердофазная хроматография. М.: Химия, 1986. 112 с. *Berezkin V.G.* Gas-liquid-solid phase chromatography. M.: Chemistry. 1986. 112 s.

71. *Красиков В.Д.* Основы планарной хроматографии. СПб: Химиздат. 2005. 231 с. *Krasikov V.D.* Fundamental of planar chromatography. SPb: Chimizdat. 2005. 231 s.

72. *Хроматография на бумаге / под ред. И.М. Хайса и К. Мацека.* М.: Изд-во ИЛ. 1962. 851 с. *Chromatography on paper / Ed. By I.M. Hise and K. Masek.* M.: IL. 1962. 851 s.

73. *Высокоэффективная газовая хроматография / Под ред. К.Хайвер.* М.: Мир. 1993. 288 с. *High-performance gas chromatography / Ed. By K.Hiver.* M.: Mir. 1993. 288 s.

74. *Беленький Б.Г., Ганкина Е.С., Мальцев В.Г.* Капиллярная жидкостная хроматография. Л.: Наука. 1987. 208 с. *Belenkii B.G., Gankina E.S., Maltsev V.G.* Capillary Liquid Chromatography. L.: Nauka. 1987. 208 s.

75. Jiang T., Jiskra J., Claessens H.A., Cramers C.A. Preparation and characterization of monolithic polymer columns for capillary electrochromatography // J. Chromatogr. A. 2001. Vol.923, P. 215–227.

76. Tanaka N., Kobayashi H., Ishizuka N., Minakuchi H., Nakanishi K., Hosoya K., Ikegami T. Monolithic silica columns for high-efficiency chromatographic separations // J. Chromatogr. A. 2002. Vol. 965. P. 35–49.

77. Wankat P.C. Large-Scale Adsorption and Chromatography, v.II. CRC Press, Boca Raton, 1986. 179 p.

78. Martin A.J.P. Summarizing paper // Disc. Far. Soc. 1949. Vol.7. P. 332–336.

79. Imanoglu S. Simulated Moving Bed Chromatography (SMB) for Application in Bioseparation // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 2002. Vol. 76. P. 212–230.

80. Solms J. Kontinuierliche Papierchromatographie // Helv. chim. Acta. 1955. Vol. 38. P. 1127–1133.

81. Препаративная жидкостная хроматография /под ред. Б.Бидлингмейера. М.: Мир, 1990. 360 с. Preparative Liquid Chromatography . Ed. By B. Bidlingmere. M.: Mir. 1990. 360 s.

82. Sussman N.V., Huang C.C. Continuous Gas Chromatography // Science. 1967. Vol. 156. P. 974–976.

83. Cole L.G., Hall L.G. Patent US 2891630 (1959).

84. Heaton W.B. Patent US 3077103 (1963).

85. Moiser L.G. Patent US 3078647 (1963).

86. Москвин Л.Н., Царицына Л.Г. Непрерывное хроматографическое разделение многокомпонентных смесей веществ. II. Положение максимумов выходных кривых // Радиохимия. 1970. Т.1. С. 731–736.

87. Кожин С.А., Москвин Л.Н., Флейшер А.Ю., Епифанова И.О. Разделение эфирных масел методом жидко-жидкостной распределительной

хроматографии с обращенной фазой // Журн. общей химии.1973. Т. 43.С. 428–434.

88. Москвин Л.Н.,Мозжухин А.В., Царицына Л.Г. Непрерывное разделение многокомпонентных смесей веществ в ионообменной хроматографии // Журн. аналит. химии. 1975. Т. 30. С. 39–43.

89. Taramasso M. Considerations for the design of a rotating unit for continuous production by gas chromatography and its applications//J. Chromatogr. 1970. Vol. 49. P. 27–35.

90. Л. Н. Москвин, М. О. Гумеров и А. И. Горшков / Многоколоночный хроматограф непрерывного действия. Авт.свид. СССР № 492803

Заявлено 16.11.73. Опубликовано 25.11.75. Бюллетень № 43. Дата опубликования описания 23.02.76.

91. Л. Н. Москвин, М. Ф. Гумеров и А. И. Горшков / Многоколоночный хроматограф для непрерывного разделения смесей. Авт. свид. СССР № 641340. Заявлено 22.07.1976. Опубликовано 05.01.1979. Бюллетень №1. Дата опубликования описания 08.01.79

92. Л. Н. Москвин, М. Ф. Гумеров, А. И. Горшков / Многоколоночный хроматограф непрерывного действия. Авт.свид. СССР № 817581. Дополнительное к авт. свид-ву 492803. Заявлено 19.10.78. Опубликовано 30.03.81. Бюллетень №12. Дата опубликования описания 30.03.81.

93. Khun W., Narten A., Thürkauf M. Kontinuierliche Gas-Chromatographie (Verfahren Zurkontinuierlichen Trennung eines Gemisches mit mehreren Komponenten in einem Zweiphasen-Gegenstrom mit Temperaturgefälle). 1 // Helv.Chim.Acta. 1958. Vol. 41. P. 2135–2148.

94. Modern Countercurrent Chromatography / Eds. W. D. Conway, R. J. Petroski. Washington: ACS, DC, 1995. 238 p.

95. Ito Y., Conway W.D. Anal. Chem. 1984. V. 56. N 4. P. 534A-552A.

96. Pais L.S., Loureiro J.M., Rodrigues A.E. Chiral separation by SMB chromatography // Separation and Purification Technology. 2000. Vol. 20. P. 67–77.
97. Епимахов В.Н., Москвин Л.Н. Развитие экспрессного хроматографического радиохимического анализа применительно к решению задач технологического и радиоэкологического контроля в атомной энергетике // Радиохимия. 2007. Т.49, С. 188-192.
98. Золотов Ю.А. Гибридные методы анализа // Журнал аналит. химии. 1977. Т. 32. № 10. С. 2085.
99. Hayes R., Ahmed A., Edge T., Zhang H. Core-shell particles: Preparation, fundamentals and applications in high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. A. 2014. Vol. 1357. P. 36–52.
100. Giddings, J.C., Fisher, S.R., Myers, M.N. (1978) Field-flow fractionation – One phase chromatography for macromolecules and particles. *Am. Lab.* 10: 15.
101. Wahlund, K.-G. (2013) Flow field-flow fractionation: Critical review. *J. Chromatogr. A*, 1287: 97-112.
102. Deyl Z., Svec F. Capillary Electrochromatography. Amsterdam: Elsevier. 2001.
103. Lämmerhofer M., Gargano A. Monoliths with chiral surface functionalization for enantioselective capillary electrochromatography // J. Pharm. Biomed. Anal. 2010. Vol. 5. P. 1091–1123.
104. Vindevogel J., Sandra P. Introduction to micellar electrokinetic chromatography. Heidelberg: Hüthig. 1992.
105. Silva M. Micellar Electrokinetic chromatography: a review of methodological and instrumental innovations focusing on practical aspects // Electrophoresis. 2013. Vol. 34. P. 141–158.
106. Moskvin L. N. Chromatomembrane method for the continuous separation of substances // J. Chromatogr. A. 1994. Vol.669. P. 81–89.

107. Москвин Л. Н., Хроматомембранный метод разделения веществ // Докл. АН. 1994. Т. 334. С. 599–603.
108. Москвин Л. Н., Родинков О. В. Хроматомембранный метод: физико-химические принципы, аналитические и технологические возможности // Изв. АН. Сер. Хим. 2012. № 4. С. 719–736.
109. Moskvin A. L., Moskvin L. N., Moszhuchin A. V., Fomin V. V. Extraction-chromatographic preconcentration with chromatomembrane separation of extract from aqueous phase for luminescence determination of oil products and phenols in natural water by flow injection analysis // Talanta. 1999. Vol. 50. P. 113–120.
110. Moskvin L. N., Rodinkov O. V. Continuous chromatomembrane headspace analysis // J. Chromatogr. A. 1996. Vol. 725. P. 351–359.
111. Erxleben H., Moskvin L. N., Nikitina T. G., Simon J. Determination of small quantities of nitrogen oxides in air by ion chromatography using a chromatomembrane cell for preconcentration // Fresenius J. Anal. Chem. 1998. Vol. 361. P. 324–325.
112. Wilson I. D., Brinkman U. A. Th. Hyphenation and hypernation: The practice and prospects of multiple hyphenation // J. Chromatogr. A. 2003. Vol. 1000. P. 325–356.
113. Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии. М.: Бином. 2003. 334 с. Lebedev A.T. Mass-spectrometry in organic chemistry. M.: Binom. 2003. 334 s.
114. Hubschmann H.-J. Handbook of GC/MS: Fundamentals and Applications, 2-nd Edition. Weinheim: Wiley-VCH Verlag. 2009. 719 p.
115. Holcapek M., Jirasko R., Lisa M. Recent developments in liquid chromatography – mass spectrometry and related techniques // J. Chromatogr. A. 2012. Vol. 1259. P. 3–5.
116. Niessen W.M.A. Liquid Chromatography: Mass Spectrometry, Third Edition. CRC Press, Boca Raton, 2006. 632 p.

117. *Van Stee L. L. P., Brinkman U. A. Th.* Developments in the application of gas chromatography with atomic emission (plus mass spectrometric) detection. A Review // *J. Chromatogr. A.* 2008. Vol. 1186. P. 109–122.

118. *Tomlinson M. J., Sasaki T. A., Wilkins C. L.* Applications of multidimensional-gas chromatography – mass spectrometry and gas chromatography – furrier transform infrared-mass spectrometry // *Mass Spectrometry Reviews.* 1996. Vol. 15. P. 1–14.