

Хроматография: перспективы развития

В. Г. Березкин

ВИКТОР ГРИГОРЬЕВИЧ БЕРЕЗКИН — доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией хроматографии Института нефтехимического синтеза им. А. В. Топчиева РАН, лауреат Государственной премии РФ. Область научных интересов: физическая и аналитическая химия, методы аналитического разделения, хроматография.

117912 Москва, Ленинский пр., 29, Институт нефтехимического синтеза РАН,
тел. (095)955-42-74, (095)955-41-13, факс (095)230-22-24, E-mail berezkin@ips.ac.ru

Хроматография является одним из наиболее ярких открытий XX столетия. Хроматографические методы оказали мощное стимулирующее воздействие на развитие химии и химической промышленности, медицины, методов контроля окружающей среды, атомной и фармацевтической промышленности и т.д.

Активное развитие хроматографических методов и хроматографической науки продолжается и в настоящее время. Основную задачу автор данной статьи видел в том, чтобы определить и предложить вниманию читателей наиболее перспективные направления в области хроматографии, в ряде которых активно работает автор.

В статье сделана попытка осветить некоторые аспекты развития хроматографии. При этом автор обращается не только к тем идеям и оригинальным техническим решениям, которые были опубликованы относительно недавно, а также и к более «старым», которые по непонятным причинам не получили должного развития и практически не используются и не разрабатываются в настоящее время. На эту особенность («инертность») нашего общества к новому обратил внимание еще Т. Эдисон, который много лет тому назад писал: «Общество никогда не бывает готово к тому, чтобы принять какое-либо изобретение. Каждая новая вещь встречает сопротивление, и изобретателю требуются годы, чтобы люди начали понимать его, и еще годы, чтобы внедрить это изобретение». Само собой разумеется, что это высказывание можно отнести и к ученым.

Открытие хроматографии М. С. Цветом и ее современное содержание

История открытия и развития хроматографии полна драматических моментов [1, 2]. Всеобщее признание и практическое применение хроматографии началось спустя несколько десятилетий после ее открытия (уже после смерти ее автора М.С. Цвета).

Явление хроматографии было открыто в начале XX века русским ученым М. С. Цветом (1872—1919) во время его работы в Варшавском университете [1—3]. В своих работах Цвет, будучи ботаником, обращал внимание прежде всего на аналитические аспекты хроматографии. Содержание понятия «хроматография» естественно несколько изменялось и расширялось в связи с ее интенсивным развитием. Суть этого понятия впервые достаточно подробно описал ее автор. В своей первой статье по хроматографии «О новой ка-

тегории адсорбционных явлений и о применении их к биохимическому анализу» он писал: «На основании всего предыдущего выясняется возможность выработать новый метод физического отделения различнейших в органических жидкостях веществ. В основе метода лежит свойство растворенных веществ образовывать физические адсорбционные соединения с различнейшими минеральными и органическими твердыми веществами» [3].

В последующих работах эта идея развивается более подробно: «Существует определенный адсорбционный ряд, по которому вещества могут замещать друг друга. Из этой закономерности вытекает следующее важное следствие. Если петролейно-эфирный раствор хлорофилла профильтровать через столбик адсорбента (я применяю для этого главным образом углекислый кальций, плотно набитый в узкие стеклянные трубки), то пигменты по расположению их в адсорбционном ряду отлагаются отдельными окрашенными зонами по столбику сверху вниз, благодаря тому, что пигменты с более сильно выраженной адсорбцией вытесняют книзу слабее удерживаемые. Это разделение становится практически совершенным, если после пропуска вытязки пигментов сквозь столбик адсорбента его промывать струей чистого растворителя. Как лучи света в спектре, в столбике углекислого кальция закономерно располагаются различные компоненты смеси пигментов, давая возможность своего качественного и количественного определения. Получаемый таким образом препарат я называю хроматограммой, а предлагаемую методику — хроматографической.

Само собой разумеется, описанные явления адсорбции присущи не только хлорофильным пигментам; ясно, что самые разнообразные окрашенные или бесцветные химические соединения подлежат тем же закономерностям» [3].

Приведенное описание хроматографической методики и открытого М. С. Цветом хроматографического явления, лежащего в основе хроматографии, принципиально близки к их современному пониманию.

Приоритет Цвета в открытии хроматографии признан во всем мире. «Истинным изобретателем хроматографии во всех виднейших чертах является Цвет» — отмечал Л. Цехмейстер, один из крупнейших хроматографистов, активно пропагандирующий хроматографию в 30—50-е годы XX века. Высокую оценку методу Цвета давали многие выдающиеся ученые. Так, лауреат Нобелевской премии П. Каррер, выступая на Меж-

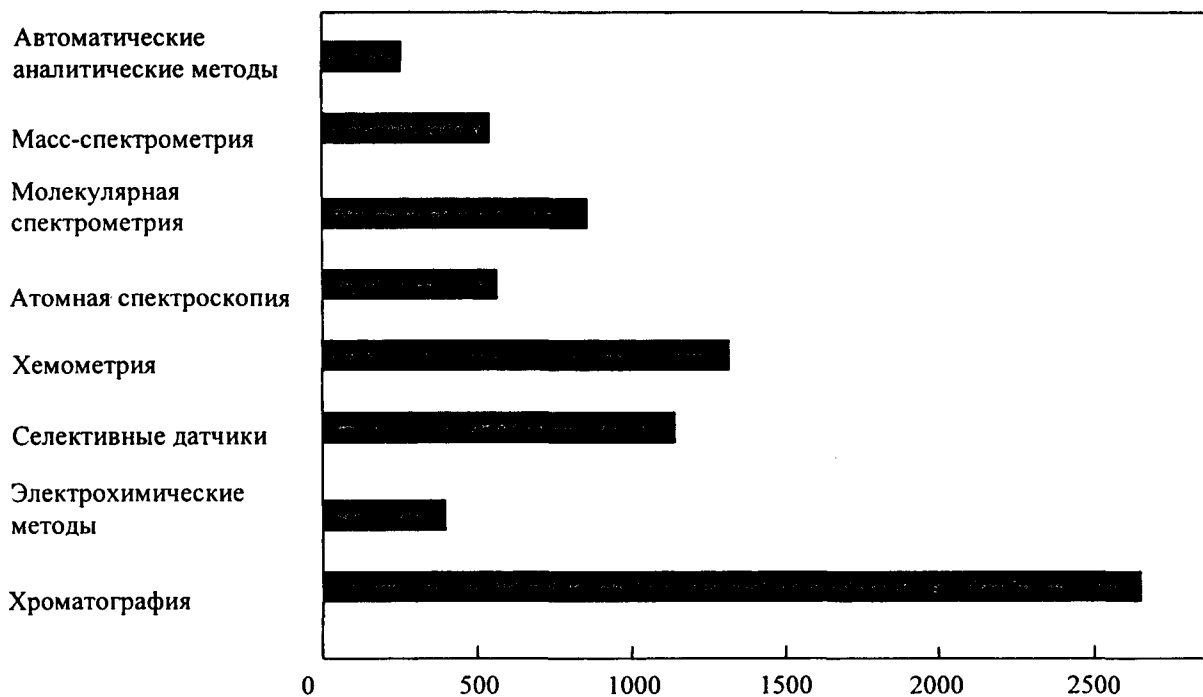


Рис. 1. Интенсивность публикаций статей по различным методам аналитической химии в 1998 г. (по данным А. Гуланицкого [13])

дународном конгрессе по теоретической и прикладной химии (Лондон, 1947), говорил: «Ни одно другое открытие не оказало столь большого влияния на органическую химию и не расширило в такой мере ее области исследования как хроматографический адсорбционный анализ Цвета. Исследования в области витаминов, гормонов, каротиноидов и многочисленных других природных соединений никогда не могли бы так быстро прогрессировать и достичь таких успехов, если бы не этот новый метод, который позволил обнаружить в природе наличие невероятного разнообразия близких по природе соединений».

Естественно, что в результате векового развития само содержание хроматографии изменилось, оно стало более широким, однако по-прежнему в основе хроматографии лежит открытое Цветом хроматографическое явление. Под хроматографическим явлением следует понимать образование и движение концентрационных зон веществ в потоке одной фазы, движущейся относительно другой фазы в условиях межфазного массообмена (более подробно см. [4]), а предложенный Цветом хроматографический метод разделения является практическим приложением открытого им явления. Важно подчеркнуть, что хроматография — это не только результат активной работы интеллекта человека, который создал новый метод разделения, основанный на использовании неизвестного ранее хроматографического явления, и применил его в своей практической работе. Хроматографические явления уже миллионы лет существуют в природе, оказывая определенное влияние на процессы, происходящие в земной коре (см., например, [5,6]).

Принимая во внимание современное состояние хроматографии, приведем ее определение, которое является более широким (по сравнению с традиционно используемым [7]) и которое, по нашему мнению, наиболее точно отражает ее современное состояние [4, 8, 9]. «Хроматография — научная дисциплина, изу-

чающая движение концентрационных зон веществ (частиц) в потоке подвижной фазы относительно сорбирующей фазы или в поле сил» [4]. Это определение охватывает не только традиционные виды хроматографии, но также и новые методы разделения, например проточное фракционирование в поперечном поле сил [10].

Активное развитие хроматографии и расширение областей ее практического применения продолжают и в настоящее время [11, 12]. Рис. 1* [13] показывает распределение публикаций по основным методам аналитической химии. Как следует из этого рисунка, из всех указанных методов хроматографии уделяется особо большое внимание.

Перспективы развития неэлюентных видов хроматографии

В настоящее время в традиционной хроматографии известны следующие ее основные виды, различающиеся по способу введения в колонку анализируемой пробы и последующему ее разделению на отдельные зоны: элюентную, фронтальную, вытеснительную [7].

Согласно номенклатуре ИЮПАК [7], «фронтальная хроматография — метод, в котором образец (жидкость или газ) поступает непрерывно в хроматографическую насадку (сорбент)»; «вытеснительная хроматография — метод, в котором подвижная фаза содержит соединение (вытеснитель) более сильно удерживаемое, чем компоненты исследуемого образца, который импульсно вводят в хроматографическую систему»; «элюентная хроматография — метод, в котором подвижная фаза непрерывно проходит через (или вдоль) хроматографическую насадку, а образец вводят в хроматографическую систему в форме импульса конечной

* Автор выражает благодарность польскому ученому проф. А. Гуланицкому за предоставление этого рисунка.

Элюентный, фронтальный и вытеснительный варианты хроматографии

Вариант хроматографии	Исходная проба	Разделение (хроматограмма)	Комментарий к хроматограммам												
Элюентный	<table border="1"> <tr><td>c_3</td></tr> <tr><td>c_2</td></tr> <tr><td>c_1</td></tr> </table>	c_3	c_2	c_1		Разделение четкое, но максимальная концентрация разделяемых компонентов на выходе из колонки обычно меньше, чем в исходной пробе; пики чистых компонентов отделены друг от друга промежуточными зонами чистого газа-носителя									
c_3															
c_2															
c_1															
Фронтальный	<table border="1"> <tr><td>c_3</td></tr> <tr><td>c_2</td></tr> <tr><td>c_1</td></tr> </table>	c_3	c_2	c_1	<table border="1"> <tr><td>1</td><td>2</td><td>3</td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>3</td><td>3</td><td></td></tr> </table>	1	2	3	2			3	3		Образовавшиеся зоны примыкают друг к другу; третий компонент смеси образует первую зону, содержащую чистый компонент; второй компонент образует вторую зону, содержащую также третий компонент в исходной концентрации; третья зона по составу идентична исходной смеси
c_3															
c_2															
c_1															
1	2	3													
2															
3	3														
Вытеснительный	<table border="1"> <tr><td>c_3</td></tr> <tr><td>c_2</td></tr> <tr><td>c_1</td></tr> </table>	c_3	c_2	c_1	<table border="1"> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>В</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td></tr> </table>					В	1	2	3	Разделяемые зоны примыкают друг к другу, зоны содержат чистые компоненты анализируемой смеси (В — вытеснитель)	
c_3															
c_2															
c_1															
В	1	2	3												

ширины». Отметим, что элюентная и фронтальная виды хроматографии были предложены Цветом [1, 3, 14], вытеснительная хроматография — Тизелиусом [15, 16].

На практике сегодня используется в основном элюентная хроматография. Однако наибольший интерес для развития хроматографии и ее практического приложения, по мнению автора, несомненно представляют неэлюентные виды хроматографии — фронтальная и вытеснительная, причем особое внимание исследователей должно быть направлено на разработку и реализацию простых методов вытеснительной хроматографии. Применение последнего вида хроматографии позволяет одновременно решать две важнейшие аналитические и технологические задачи: концентрирование и разделение компонентов хроматографируемой пробы. Наглядное сопоставление трех основных видов хроматографии представлено в табл. 1. Как следует из этой таблицы, с помощью хроматографии, используя различные ее варианты, можно не только разделять, но и концентрировать отдельные компоненты (или их группы) исследуемой смеси. К сожалению, неэлюентные методы сегодня практически не применяются, особенно в аналитической химии, несмотря на их высокую потенциальную ценность.

Между тем аналитическое использование неэлюентных вариантов хроматографии весьма перспективно. Они позволяют, во-первых, упростить технологию всего эксперимента и, во-вторых, резко увеличить чувствительность определения. Само собой разумеется, что здесь речь идет необязательно об использовании «чистой» фронтальной или вытеснительной хроматографии. По-видимому, более целесообразным во многих случаях будет совместное применение неэлюентной хроматографии (положительные функции: концентрирование и предварительное разделение) и элюентного хроматографического метода (поло-

жительная функция: тонкое разделение на зоны, отделенные газом-носителем). Отметим, что в работах Цвета часто используется подобная комбинация фронтальной и элюентной хроматографии. Для реализации в аналитической практике фронтального и вытеснительного вариантов хроматографии несомненно требуется разработка специальной аппаратуры.

Практически важное направление использования неэлюентных методов — препаративная хроматография. Она позволяет резко увеличить производительность хроматографических препаративных процессов, поскольку концентрация разделяемых соединений в хроматографических зонах резко увеличивается. Поэтому развитию неэлюентных методов хроматографии целесообразно уделить особое внимание.

Перспективные фазовые варианты хроматографии

Классификация вариантов хроматографии по фазовому состоянию участвующих в хроматографическом процессе подвижной и неподвижных фаз является общепринятой (см., например, [17, 18]).

В последней классификации ИЮПАК [7] описаны следующие фазовые варианты хроматографии: газо-[жидкостная]* хроматография (ГЖХ), газо-[твердофазная] хроматография (ГТХ), жидко-[жидкостная] хроматография (ЖЖХ), жидко-[твердофазная] хроматография (ЖТХ).

Отметим, что указанная классификация не является строгой. На практике газо-[жидкостная] хроматография пока никем не реализована, а тот вариант, который обычно называют газожидкостной хроматографией в действительности является газо-[жидко-твердофазной] хроматографией (ГЖТХ). В этом варианте неподвижная

* Здесь и далее в квадратных скобках указана неподвижная фаза.

фаза представляет собой твердое тело (твердый носитель), на поверхность которого нанесена пленка неподвижной жидкой фазы (НЖФ). Столь же, строго говоря, ошибочен термин жидко-[жидкостная] хроматография, который обычно используют для обозначения жидко-[жидко-твердофазной] хроматографии (Ж[ЖТ]Х).

Классическую классификацию фазовых хроматографических вариантов следует дополнить, во-первых, такой фазой как флюид (вещество в сверхкритическом состоянии), и, во-вторых, такими вариантами твердой и жидкой фаз, которым присущи определенные регулярные элементы структуры, позволяющие реализовать при разделении молекулярно-ситовые эффекты.

Еще одним возможным фазовым вариантом хроматографии является использование в качестве подвижной фазы потока ионизированных частиц (поток ионов) или проведение газохроматографического разделения молекул в ионной форме, что предложил Гумеров [19]. В табл. 2 представлены основные реализованные и возможные фазовые варианты в классической хроматографии.

В классической хроматографии разделение, вообще говоря, может быть основано на использовании двух эффектов: сорбционного и молекулярно-ситового. Для реализации хроматографического сорбционного эффекта применяют два типа неподвижных фаз: 1) неподвижную жидкую фазу (основной равновесный процесс — абсорбция) и 2) неподвижную твердую фазу (основной равновесный процесс — адсорбция).

Особого внимания заслуживают методы разделения на жидкой и твердой неподвижных фазах, основанные на молекулярно-ситовых эффектах. В случае твердых фаз эти эффекты четко проявляются, например, при использовании молекулярных сит [20—22]. Отметим, что разделение на молекулярных ситах газов — это первый газовый вариант эксклюзионной хроматографии. Для реализации молекулярно-ситового эффекта можно использовать и «жидкие молекулярные сита». Так, молекулярно-ситовым эффектом обладают жидкие фазы, содержащие различные циклодекстриновые фрагменты (см., например, [23, 24]).

Хотя ситовой принцип разработан в существенно меньшей степени, чем сорбционный, именно этот принцип позволяет реализовать очень тонкие селективные разделения, основанные на «размерном» соответствии молекулярных структур хроматографируемых соединений и неподвижных жидких фаз. Преимуществами этого направления являются широкие возможности химического синтеза различных органических жидких молекулярных сит или подбора природных соединений, структура которых больше подходит для молекулярно-ситовой дифференциации компонентов анализируемых смесей. Постановка подобных исследований позволит существенно расширить раздельный потенциал хроматографических методов.

Наиболее перспективными для селективных разделений небольших по размеру молекул нам представляются хроматографические системы, в которых ис-

Таблица 2

Некоторые реализованные и возможные фазовые варианты классической хроматографии.

P — вариант реализован, B — возможный вариант. В квадратных скобках указана неподвижная фаза

№	Подвижная фаза	Неподвижная фаза					
		Газ-твердый носитель (ТН) [газ-ТН]	Флюид-ТН [флюид-ТН]	Жидкость (Ж)		Твердое тело (ТТ)	
				Ж-ТН [Ж-ТН]	мол.сито-жидкость [(МСЖ)-ТН]	ТТ [ТТ]	мол.сито-твердое тело [МСТТ]
1	Газ	Газ-[газ-ТН] (B)	—	Газ-[Ж-ТН] (P)	Газ-[МСЖ-ТН] (P)	Газ-[ТТ] (P)	Газ-[МСТТ] (P)
2	Флюид (Ф) (вещество в сверхкритическом состоянии)	—	—	Ф-[Ж-ТН] (P)	Ф-[МСЖ-ТН] (B)	Ф-[ТТ] (P)	Ф-[МСТТ] (P)
3	Жидкость (Ж)	Ж-[газ-ТН] (P)	Ж-[флюид-ТН] (B)	Ж-[Ж-ТН] (P)	Ж-[МСЖ-ТН] (P)	Ж-[ТТ] (P)	Ж-[МСТТ] (P)
4	Твердое тело (ТТ)	—	—	ТТ-[Ж] (B)	—	ТТ-[ТТ] (B)	ТТ-[МСТТ] (B)
5	Заряженные частицы (ЗЧ) (плазма)	—	—	—	—	ЗЧ (плазма)-[ТТ] (B)	ЗЧ (плазма)-[МСТТ] (B)

пользуемым неподвижным фазам присущи определенные молекулярно-ситовые структуры.

В жидкостной хроматографии в качестве твердых (или гелевых) сорбентов, для структуры которых характерны молекулярно-ситовые закономерности, можно применять не только традиционно используемые кристаллические молекулярные сита, но и другие широкопористые адсорбенты (см., например, [25–27]) с преобладанием широких пор в узком интервале их диаметров (см., например, [28]). Пинкертон и сотр. [29] предложили расширить область применения адсорбентов этого типа, создав методом химической прививки на этих адсорбентах два типа поверхности: гидрофильную — на внешней поверхности, и гидрофобную — на внутренней поверхности.

Использование нового типа адсорбентов (гетероповерхностных молекулярно-ситовых) позволяет более просто решать некоторые важные группы аналитических (и препаративных) задач. Так, макромолекулы (например, белки) на сорбентах этого типа практически не адсорбируются, а небольшие молекулы диффундируют внутрь доступных пор и хроматографически разделяются на колонках, заполненных сорбентом этого типа.

Для широкой реализации этого метода важное значение имеет простота и эффективность методов модифицирования внешней поверхности адсорбента и внутренней поверхности его широких пор. Наиболее красивое и простое решение этой проблемы было предложено на Химическом факультете МГУ [30, 31]. В качестве примера приведем разделение некоторых лекарственных соединений в плазме крови (рис. 2 [30]). Разделение основано на использовании двух эффектов — ситового и сорбционного — на различных по природе поверхностях адсорбента — внешней и внутренней (внешняя поверхность гидрофильная, а внутренняя — гидрофобная). Поэтому при разделении белки крови практически не удерживаются, так как не могут из-за стерических затруднений (ситовый эффект) пройти внутрь пор адсорбента, а лекарственные соединения проникают в поры, что позволяет их разделить на данном модифицированном адсорбенте. Использование адсорбента с ситовым эффектом позволило исключить трудоемкую операцию подготовки образца к хроматографическому анализу и сконцентриро-

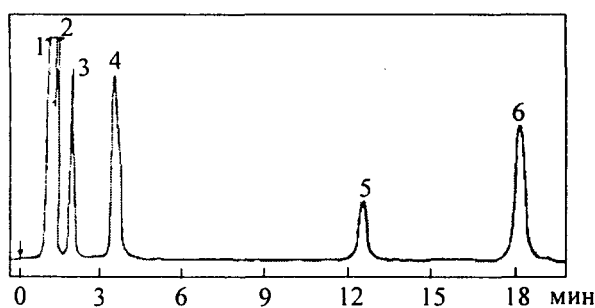


Рис. 2. Хроматограмма, полученная при определении лекарств в плазме крови

Условия эксперимента: колонка — 150 мм × 4 мм, детектор — УФ, сорбент — силикагель, внутренняя поверхность модифицирована ODS, внешняя поверхность модифицирована сшитым белком, элюент: буферный 0,1 М раствор $\text{Na}(\text{CH}_3\text{COO})$ при $\text{pH}=6,85$ и ацетонитрил (90:10).

1 — белки плазмы крови, 2 — аспирин + теобромин, 3 — фенобарбитал, 4 — кофеин, 5 — папаверин, 6 — фенацетин

вать анализируемые примеси на входе в колонку.

Приведенный пример дает основание заключить о целесообразности развития адсорбентов с ситовыми свойствами не только в газовой, но и главным образом в жидкостной хроматографии, поскольку сорбенты этого типа позволяют реализовать очень селективные разделения.

Перспективы развития элюентной хроматографии

Как указано выше, элюентная хроматография является в настоящее время основным вариантом хроматографии. В этом виде хроматографии анализируемую смесь периодически, импульсно вводят в поток подвижной фазы перед хроматографической колонкой с сорбентом. В колонке смесь разделяется на хроматографические зоны анализируемых соединений, отделенные друг от друга участками чистой подвижной фазы. Это обстоятельство существенно упрощает качественную и количественную интерпретацию результатов разделения.

Процесс аналитического определения состава анализируемых смесей очень часто является многостадийным, и точность и надежность результатов анализа во многом зависит от методики его выполнения.

Схема хроматографического эксперимента. Общая схема хроматографического эксперимента обычно включает пять основных этапов (рис. 3). Успех аналитического исследования определяется удачной комбинацией и рациональным проведением этих этапов.



Рис. 3. Основные этапы хроматографического эксперимента

Первый этап (подготовка пробы) — важнейшая стадия аналитического изучения состава образца. Она включает нередко групповое разделение, а также подготовку гомогенного раствора для последующего хроматографического анализа. Очень часто на этом этапе проводят селективные химические реакции с целью группового изменения характеристик удерживания хроматографируемых соединений в колонке или группового изменения характеристик детектирования, а также концентрирование примесей при необходимости их аналитического контроля.

Процесс введения пробы в хроматограф часто включает в себя функции дополнительного концентрирования (например, отделение растворителя). «Сердцем» хроматографического прибора является хроматографическая колонка, именно здесь происходит тончайшее разделение очень близких по физико-химическим свойствам веществ (перспективы повышения разделительной способности колонки рассмотрены ниже). Результаты разделения анализируемой смеси преобразуются в детектирующей системе обычно в электрический сигнал, который используется для определения концентрации компонентов анализируемой смеси и их природы.

Необходимо обратить внимание на важность всех этапов разделения при решении конкретной сложной задачи, поскольку аналитические возможности хроматографической системы определяются рациональной оптимизацией выбора отдельных этапов анализа, т.е. оптимальной схемой хроматографического определения. Подчеркнем, что надежность системы аналитического определения в целом не может быть выше надежности «работы» любого ее участка (подобно прочности цепи, которая не может быть прочнее самого слабого ее звена).

Наибольшее количество информации о составе смеси обычно мы получаем как результат работы колонки. Поэтому именно колонка и ее разделительная способность привлекают наибольшее внимание исследователей при решении сложнейших аналитических задач.

Увеличение селективности разделения. Основной задачей хроматографического метода является разделение хроматографических зон или разрешение пиков. Количественно эта характеристика выражается величиной R_s . Чем больше эта величина, тем лучше разделение.

Величина R_s , предложенная Пернеллом [32], является произведением трех факторов [33]: селективности S , эффективности E и емкости C :

$$R_s = S E C \quad (1)$$

$$S = \frac{(\alpha - 1)}{\alpha} \quad (2), \quad E = \frac{\sqrt{N}}{4} \quad (3), \quad C = \frac{k}{(k + 1)} \quad (4)$$

где N — число теоретических тарелок (эта величина характеризует размывание или ширину хроматографической зоны); α — фактор разделения (определяется как отношение приведенных времен удерживания двух разделяемых веществ); k — фактор удерживания.

Наиболее важными характеристиками разделения являются селективность S и эффективность E , причем фактор селективности — определяющий. От селективности используемой хроматографической системы нередко зависит успех разделения в целом. Поэтому на эту характеристику хроматографического разделения желательнее всего обратить основное внимание, поскольку правильно выбран-

ная система «подвижная фаза/неподвижная фаза» позволяет получить оптимальное разделение.

В газовой хроматографии до недавнего времени при разработке методики разделения конкретной смеси в качестве основного фактора, который определял успех разделения, рассматривали обычно оптимально подобранный сорбент.

В литературе описано более 1000 неподвижных жидких фаз, из которых в хроматографической практике используются не более 10 типов. Тем не менее задача разработки селективных и сверхселективных неподвижных жидких фаз не перестала быть актуальной — требуется необычная, неизвестная ранее селективность.

В качестве примера сверхселективных фаз можно назвать водосодержащие неорганические и органические гидрофильные фазы, которые используются в парофазной и газо-жидкостной хроматографии [34]. Для неподвижных фаз этого типа характерна необычайно высокая селективность по отношению к органическим соединениям типа RX (где X — полярная группа: гидроксильная, карбоксильная, аминная). На колонках с такими фазами легкие спирты C_1 — C_6 элюируются в следующем порядке: гексанол < пентанол < бутанол < пропанол < этанол < метанол. На селективность колонки и полноту разделения сорбатов сильно влияют оказывают природа применяемого электролита и его концентрация в неподвижной водосодержащей жидкой фазе. Изменяя содержание паров воды в подвижной фазе, можно управлять селективностью колонки. Перспективно использовать эти фазы для определения полярных соединений в бензине и примесей в этиловом спирте [34].

В последние годы исследуется возможность плавного регулирования селективности хроматографической системы [35—37]. Новый способ улучшения разделения основан на установленной недавно закономерности, согласно которой величина разделения α зависит от природы используемого газа-носителя и его среднего давления в колонке, причем влияние газа-носителя заметно проявляется в капиллярной газо-жидкостной хроматографии даже в условиях традиционной газовой хроматографии (т.е. при давлении газа-носителя менее 5 атм). В работе же [35] было показано, что разрешение R_s линейно зависит от среднего давления газа-носителя в колонке p и от природы газа-носителя:

$$R_s = R_{s,0} + EC b p \quad (5)$$

где $R_{s,0}$ — разделение при «нулевом» давлении; b — постоянная.

Установление этой закономерности предоставляет принципиальную возможность улучшать селективность хроматографической системы (НЖФ/газ), изменяя не только НЖФ (традиционный подход), но и меняя газ-носитель. В качестве примера на рис. 4 [36] приведена хроматограмма разделения пестицидов кельтана и метоксихлора на колонке с полярной фазой (карбовакс 20М) с использованием двух газов-носителей. Как видно из хроматограмм, замена газа-носителя гелия на диоксид углерода приводит к принципиальному изменению хроматограммы исследуемой смеси. Во-первых, изменяется порядок выхода анализируемых соединений (при использовании диоксида углерода вначале элюируется метоксихлор, а затем кельтан, а при использовании гелия вначале элюируется кельтан, а затем метоксихлор). Во-вторых, замена

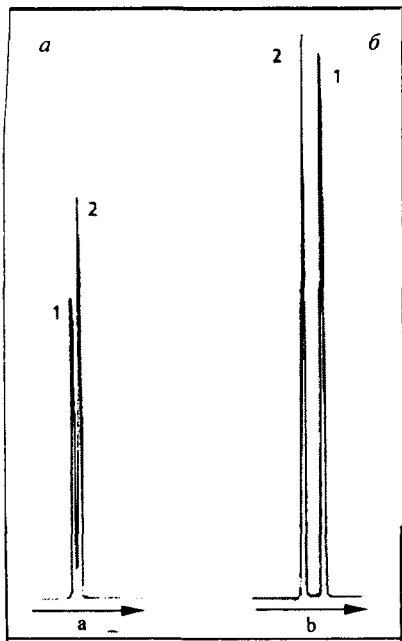


Рис. 4. Хроматограмма разделения пестицидов кельтана (1) и метоксихлора (2) при использовании в качестве газа-носителя гелия (а) и диоксида углерода (б)

Хроматограф НР-5890, колонка 12 м × 0,32 мм, НЖФ — карбовакс 20М, температура 260 °С. Времена удерживания: при использовании гелия кельтан — 8,11 мин, метоксихлор — 8,26 мин, при использовании диоксида углерода метоксихлор — 16,0 мин, кельтан — 16,32 мин

гелия на диоксид углерода позволяет улучшить разделение исследуемых пестицидов. Фактически изменение газа-носителя эквивалентно замене одной хроматографической колонки на другую. Однако проще и более экономично заменить газ-носитель, а не хроматографическую капиллярную колонку. Более подробно роль газа-носителя в капиллярной газовой хроматографии обсуждается в обзоре [37]. Для практической реализации выявленных закономерностей влияния газа-носителя на селективность разделения требуется внести небольшие изменения в схему газового хроматографа.

Увеличение эффективности хроматографической системы. Конечный результат хроматографического разделения определяется как селективностью используемого сорбента, так и эффективностью колонки, с которой непосредственно связано явление размывания хроматографической зоны в ходе хроматографического эксперимента. Использование очень длинных колонок (до 1,0 км и более) в газовой хроматографии позволяет существенно увеличить общую эффективность разделения. К сожалению, одновременно начинают проявляться и отрицательные стороны сверхдлинных колонок: большое общее сопротивление газовому потоку, высокая стоимость и сложность изготовления подобной колонки и т.д.

Новые возможности в создании высокоэффективных систем дает циркуляционная хроматография. Этот вид хроматографии был предложен Мартиным [38].

Суть циркуляционной хроматографии состоит в том, что после разделения на первой колонке группа анализируемых соединений в потоке газа-носителя поступает на вторую колонку, затем вновь на первую и т.д. Таким образом, располагая двумя небольшими по длине колонками, в результате последовательного использования только этих двух колонок можно получить общий путь хроматографического разделения, эквивалентный длине

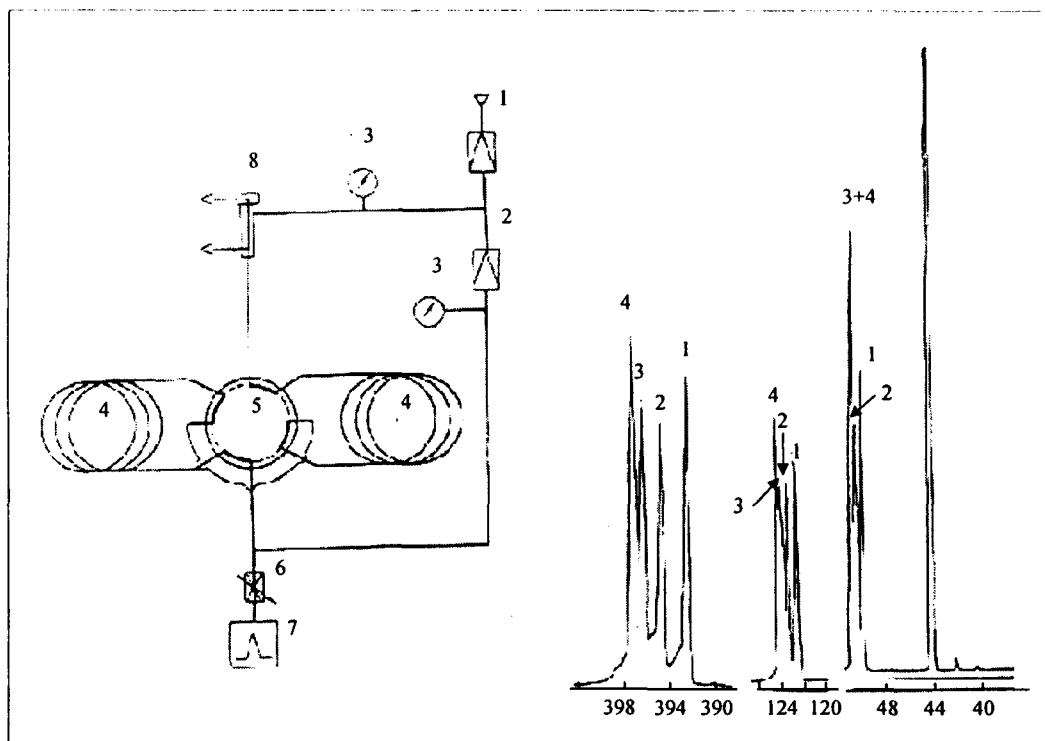


Рис. 5. Применение циркуляционной хроматографии для разделения дейтерозамещенных бензолов.

Схема прибора: 1, 2 — регулируемые пневматические сопротивления; 3 — манометр; 4 — капиллярная колонка; 5 — кран переключения колонок; 6 — контролируемое пневмосопротивление; 7 — детектор; 8 — инжектор с делением потока.

Хроматограммы дейтерозамещенных бензолов: 1 — C_6D_6 ; 2 — $C_6H_3D_3$; 3 — C_6H_5D ; 4 — C_6H_6 .

Капиллярные колонки (37,5 м × 0,28 мм), НЖФ — сквалан, 150 °С

10—50 исходных колонок, т.е. эквивалентный длине сверхдлинной колонки.

В области газовой хроматографии новый импульсный гидродинамический вариант циркуляционной хроматографии был предложен и развит Чижковым и сотр. [39, 40]. Схема двухколоночной циркуляционной хроматографии и хроматограмма разделения дейтерийпроизводных бензола приведена на рис. 5 [39]. Хроматограмма была получена после 16 циклов (переключений колонок). Достигнутое разделение соответствует общей эффективной длине колонки 1200 м и общей эффективности в 5000000 теоретических тарелок. Подобная относительно несложная аналитическая технология может быть реализована на стандартном хроматографе. Использование такой «гусеничной» технологии несомненно представляет интерес для препаративной хроматографии, в которой стоимость сорбента нередко составляет существенную часть общих расходов.

Многомерная хроматография. Среди многочисленных подходов, предложенных для решения комплексной проблемы увеличения скорости, селективности и чувствительности анализа, наиболее перспективным и популярным является так называемая многомерная хроматография (multidimension techniques) [41, 42]. Суть этого успешно развивающегося направления заключается в использовании комбинации различных колонок и детекторов. Применение многомерных хроматографических систем позволяет существенно повысить разделительную способность и чувствительность определения следовых и ультраследовых концентраций [43—46].

Отметим, что комбинация последовательно соединенных жидкостной колонки и газо-жидкостной колонки с газовым детектором впервые была предложена и реализована в результате совместных работ Института нефтехимического синтеза и Института органической химии [47—49].

* * *

Поиск и развитие принципиально новых методов и аппаратуры в хроматографии продолжается и в настоящее время.

В представленной статье сделана попытка рассмотреть некоторые перспективные направления, от развития которых следует в ближайшее время ожидать новых революционных изменений в практике современной хроматографии, особенно в области ее аналитических приложений. Перспективы существенного улучшения возможностей аналитического и препаративного вариантов хроматографии несомненно реальны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сакодынский К.И. В кн.: Успехи хроматографии. М.: Наука, 1972, с. 9.
2. Сенченкова Е.М. М.С. Цвет создатель хроматографии. М.: Янус К, 1997, 440 с.
3. Цвет М.С. Хроматографический адсорбционный анализ. Избранные работы. Под ред. А.А. Рихтера, Т.А. Красносельской. Л.: изд. АН СССР, 1946, 274 с.
4. Березкин В.Г. Завод. лаб., 1999, т. 65, № 8, с. 2.
5. Вигдергауз М.С., Козоро В.И. В кн.: Прикладная хроматография. Под ред. К.И. Сакодынского. М.: Наука, 1984, с. 277.
6. Янак Я. В кн.: Прикладная хроматография. Под ред. К.И. Сакодынского. М.: Наука, 1984, с. 268.
7. Ettre L.S. Pure and Appl.Chem., 1993, v. 65, № 4, p. 819.
8. Березкин В.Г. Ж. аналит. химии, 1993, т. 48, № 7, с. 1242.
9. Березкин В.Г. Там же, 1995, т. 50, № 67, с. 677.
10. Янча Й. Проточное фракционирование в поперечном поле. М.: Мир, 1992, 294 с.
11. Золотов Ю.А. Очерки аналитической химии. М.: Химия, 1977.
12. Золотов Ю.А. Аналитическая химия: фрагменты картины. Москва, ИОНХ РАН, 1999.
13. Hulanicki A. Lecture on VI Ogolnopolska Konf. Chromatographiczna. Torun, 14-17.09.1999, Poland.
14. Березкин В.Г. Завод. лаб., 1993, т. 59, № 3, с. 2.
15. Tiselius A. Arkiv.Kem. Miner. Geol., 1941, v. 15A, № 9.
16. Классон С. Адсорбционный анализ смесей. М.: Госхимиздат, 1950.
17. Столяров Б.В., Савинов И.М., Витенберг А.Г. и др. Практическая газовая и жидкостная хроматография. С.-Пб.: изд. С.-Пб. ун-та, 1998.
18. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам. Под ред. О. Микеша. М.: Мир, 1982.
19. Гумеров М.Ф. Ж. физ. химии, 1995, т. 69, № 11, с. 2056.
20. Киселев А.В. Межмолекулярные взаимодействия в адсорбции и хроматографии. М.: Высшая школа, 1986.
21. Брек Д. Цеолитовые молекулярные сита. М.: Мир, 1976.
22. Жданов С.П., Хвоцев С.С., Самулевич Н.М. Синтетические цеолиты. М.: Химия, 1981.
23. König W.A. Gas Chromatographic Enantiomer Separation with Modified Cyclodextrins. Heidelberg: Hüthig, 1992.
24. Ashton P.R., Cantrill S.J., Gattuso G. e.a. Chem. Eur. J., 1997, v. 3, № 8, p. 1299.
25. Yan W.W., Kirkland J.J., Bly D.D. Modern Size-Exclusion Liquid Chromatography. N.-Y.: Wiley-Interscience, 1979.
26. Fische L. In: Chromatographic Theory and Basic Principles. Eds. Jan Ake Jönson. N.-Y.: M. Dekker, 1987, 347 p.
27. Бельный Б.Г., Виленчик Л.З. Хроматография полимеров. М.: Химия, 1978.
28. Лисичкин Г.В., Кудряцев Г.В., Сердан А.А. и др. Модифицированные кремнеземы в сорбции, катализе и хроматографии. Под ред. Г.В. Лисичкина. М.: Химия, 1986.
29. Hagestam I.H., Pinkerton Th.C. Anal. Chem., 1985, v. 57, p. 1757.
30. Сердан А.А., Богословский С.Ю., Нестеренко П.Н. Ж. физ. химии, 1991, т. 65, № 10, с. 2638.
31. Копылов Р.В., Нестеренко П.Н., Сердан А.А., Тюленева И.П. Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия, 1998, т. 39, № 4, с. 280.
32. Purnell J.H. J.Chem.Soc., 1960, p. 1268.
33. Berezkin V.G. Gas-Liquid-Solid Chromatography. N.-Y.: M.Dekker, 1991, 232 p.
34. Березкин В.Г. Известия Академии Наук. Серия химич., 1999, № 10, с. 1831.
35. Березкин В.Г. Нефтехимия, 1997, т. 37, № 4, с. 366.
36. Березкин В.Г. О роли газа-носителя в капиллярной газовой хроматографии. Москва, Ин-т нефтехимического синтеза РАН, 1998.
37. Березкин В.Г. Ж. физ. химии, 2000, т. 74, № 3, с. 521.
38. Martin A.J.P. In: Gas Chromatography. Eds. Y.J. Noebels, I.S. Kugerson. N.-Y.: Academ. Press, 1958, p. 237.
39. Chizhkov V.P., Pavlov S.S., Sterkhov N.V. Talanta, 1987, v. 34, p. 227.
40. Забокрицкий М.П., Ландау В.В., Чижков В.П. Ж. физ. химии, 1999, т. 66, с. 1175.
41. Brinkman U.A.Th. Anal. Commun., 1997, v. 34, p. 911.
42. Slobodnik J., Groenewegen M.G.M., Brouwer E.R. e.a. J. Chromatogr., 1993, v. 642, p. 259.
43. Schomburg G. J. Chromatogr. A., 1995, v. 703, p. 309.
44. Phillips J.B., Xu J. J. Chromatogr. A., 1995, v. 703, p. 327.
45. Trace determination of pesticides and their degradation products in water. Eds. P. Barcelo, M.C. Hennion. Amsterdam: Elsevier, 1997.
46. Hankemeire Th., Leeuwen P.J., Vrents J.J., Brinkman U.A.Th. J. Chromatogr. A, 1998, v. 811, p. 117.
47. Авт. свид. № 192488, 1965; бюлл. изобр., 1967, № 5.
48. Алишоев В.Р., Березкин В.Г., Татаринский В.С. Завод. лаб., 1968, т. 34, с. 148.
49. Чижков В.П., Морозов Ю.В., Гуревич Я.А. и др. Ж. физ. химии, 1968, т. 42, с. 3138.