

Разделение хроматографии

Кандидат химических наук
М.Ф.Гумеров
(maratg@sbor.net)



ДИСКУССИИ

Читатели, вероятно, помнят статью в октябрьском номере «Химии и жизни» за прошлый год о гемопротекторах — веществах, предотвращающих разрушение клеток крови при хирургических операциях, например в кардиологии. Сегодня мы публикуем статью руководителя той самой работы по защите крови, Марата Фатыховича Гумерова. Только на сей раз речь пойдет не о решении прикладных задач, а об одной внутренней проблеме химии как науки — о классификации хроматографических процессов.

Можно привести множество примеров из истории науки, когда в той или иной ее области под напором накопленных знаний начинали шататься рамки классификаций. Становилось необходимым придумать новую систему «раскладки по полочкам» этих самых знаний (или создать ее заново, если до сих пор ее не было). Подобная ситуация сложилась, на наш взгляд, и в хроматографии, столетие которой отмечалось в 2003 году.

Все известные варианты классификации хроматографических процессов построены на одной общей основе, которая учитывает физическое состояние (агрегатное, покоя или относительного движения) веществ, образующих лишь разделительную часть хроматографической системы, — то есть учитывает признаки условий и средств воздействия на объект. В то же время сам объект — разделяемое вещество — выпадает из поля зрения. Однако в подходах к наименованиям той или иной разновидности хроматографии подобного единства нет и можно выделить не менее семи различающихся вариантов:

— газовая, жидкостная, флюидная (по свойству подвижной фазы);

— бумажная, аффинная, ионная, тонкослойная, гель-хроматография (по свойству неподвижной фазы);

— ионообменная, реакционная, осадочная, распределительная, экстракционная (по механизму);

— проявительная, фронтальная, вакантохроматография и т.д. (по способу);

— хроматотермография, барохроматография, хроматография в поле центробежных сил, хроматоэлектрофорез (по воздействию полей);

— циркуляционная, капиллярная, ступенчатая и т. д.;

— хромато-масс-спектрометрия.

Во время одной дискуссии я предложил хроматографистам дополнить картину вариантами на основе формы се-

чения колонок: «круглая хроматография», «квадратная»... Это, конечно, шутка, но правда состоит в том, что за основу часто берут не самые существенные признаки.

Между тем оптимальные, то есть могущие стать общепринятыми, принципы классификации разновидностей хроматографии нужны не просто «для порядка». Классификация может иметь важное значение не только и не столько для оценки достигнутого, сколько для прогнозирования развития хроматографии. Очевидно, строгая классификация будет полезна также при создании компьютерных банков данных и электронных каналов обмена информацией. При этом значительно облегчается возможность и цифровой кодификации, аналогичной УДК.

Как уже было сказано, в основе известных вариантов классификации заложены признаки лишь разделительной части хроматографической системы. А ведь хроматография — не самоцель. Она бывает нужна, когда возникает необходимость разделить вещества, и лишь тогда, когда разделение с помощью других методов невозможно либо не оправданно, причем независимо от решаемой задачи — препаративной или химико-аналитической. Поэтому логично было бы поставить во главу угла основные признаки самого разделяемого вещества и, уже отталкиваясь от них, выбирать ту или иную разделительную часть хроматографической системы. Целесообразно принять за основу наиболее общие признаки разделяемых веществ, к примеру их физическое состояние: ионизированное; газообразное; жидкое; твердое. Если добавить к этим четырем также и промежуточные (условно) состояния, например флюидное (между газообразным и жидким) и гелеобразное (между жидким и твердым), то можно выделить направления хрома-

тографии, приведенные в таблице.

Очевидно, что та или иная схема классификации хроматографических процессов, разграничения внутри нее и внешние контуры, будут в первую очередь зависеть от того, какое содержание вкладывать в понятие хроматографии. Так, К.А.Гольберт и М.С.Вигдергауз относили к хроматографическим методам седиментацию: они основывались на определении хроматографии как метода, с помощью которого можно разделять в том числе и надмолекулярные структуры (агрегаты). Поскольку ни количественных, ни качественных критериев агрегатов при этом не дано, почему бы не предположить, что процесс получения различных фракций твердых веществ с помощью набора обычных решетчатых сит — процесс хроматографический, а сам набор сит — хроматографическая колонка?..

Сомнительно, что подобная экспансия окажется полезной, и прежде всего — для самой хроматографии. В качестве контраргумента можно было бы привести пример хроматографического разделения фуллеренов — новой модификации углерода. Некоторые их кристаллы по твердости превосходят твердость алмазов. Хроматографическое разделение фуллеренов не может рассматриваться как разделение твердых тел, поскольку в данном случае происходит разделение отдельных молекул — пусть даже и гигантских, но адсорбирующихся на поверхности неподвижной фазы какой-либо гранью с шестью или пятью атомами углерода. Подтверждение тому — хроматографическое разделение определенной модификации фуллерена, однородной по массе и структуре, позволяет раз за разом получать фракции, одна из которых образована в результате адсорбции гранью с шестью, а другая — гранью с пятью атомами углерода. Примечательно, что этот процесс можно рассматривать как один из простейших, а главное, убедительных методов определения соотношения шестиугольных и пятиугольных граней у фуллерена. Оно определяется через отношения объемов фракций при повторных разделениях: ведь эти объемы зависят от вероятностей сорбции для пяти-

Классификация и коды хроматографических процессов

Разделяемое вещество Код		Направление хроматографии	Режим разделения Код	Разделяющее вещество	Колонка Код	Дополнительные движущие силы Код	
Класс Код	Состояние					Поле	Поток
						(Код)	(Код)
01 – 99.	Ионы	Хроматография ионов 00.1_0.00.0.0.00	Дискретный Фронтальный 00.0.1_00.0.0.00	Ионы 00.0.0.01.0.0.00	Капиллярная 00.0.0.00.1.0.00	Температурное поле 00.0.0.00.0.1.00	Поток ионов 00.0.0.00.0.0.01
	Газ (Пар)	Хроматография газов 00.2_0.00.0.0.00	Дискретный Ваканто 00.0.2_00.0.0.00	Газ (пар) 00.0.0.00.0.0.00	Микро-насадочная 00.0.0.00.2.0.00	Электрическое поле 00.0.0.00.0.2.00	Поток газа (пара) 00.0.0.00.0.0.02
	Флюид	Хроматография флюидов 00.3_0.00.0.0.00	Дискретный Проявительный 00.0.3_00.0.0.00	Флюид 00.0.0.03.0.0.00	Насадочная 00.0.0.00.3.0.00	Поток флюида 00.0.0.00.0.0.03	Магнитное поле 00.0.0.00.0.3.00
	Жидкость	Хроматография жидкостей 00.4_0.00.0.0.00	Непрерывный фронтальный (противоточный) 00.0.4_00.0.0.00	Жидкость 00.0.0.04.0.0.00	Система колонок 00.0.0.00.4.0.00	Гравитационное поле 00.0.0.00.0.4.00	Поток жидкости 00.0.0.00.0.0.04
	Гель	Хроматография гелей 00.5_0.00.0.0.00	Непрерывный ваканто (двухмерный) 00.0.5_00.0.0.00	Гель 00.0.0.05.0.0.00	Пластина 00.0.0.00.5.0.00	Поле центробежных сил 00.0.0.00.0.5.00	Поток геля 00.0.0.00.0.0.05
	Твердое тело	00.6_	Непрерывный проявительный (двухмерный) 00.0.6_00.0.0.00	Твердое тело 00.0.0.06.0.0.00	Цилиндр, диск, кольцо 00.0.0.00.6.0.00	Барополе 00.0.0.00.0.6_.00	Поток твердых тел 00.0.0.00.0.0.06
	Общие вопросы хроматографии 00.7_0.00.0.0.00.		Общие вопросы 00.7_7.00.0.0.00	Общие вопросы 00.7.0.07.0.0.00	Общие вопросы 00.7.0_.00.7_0.00.	Общие вопросы 00.7.0.00.0.7_00	Общие вопросы 00.7.0.00.0.0.07

угольника и шестиугольника и, следовательно, от их соотношения.

В связи со всем, о чем говорилось выше, предлагается следующее определение:

Хроматографическим называется процесс разделения вещества в молекулярном, атомарном или ионном состоянии при относительном перемещении и взаимодействии путем контакта с другим веществом, осуществляемый в ограниченном пространстве с установленной поверхностью контакта.

Следует различать:

— вещество разделяемое — оно может быть сложным по химическому составу, а также и простым, все молекулы которого соответствуют одной и той же химической формуле и даже имеют одинаковое пространственное строение, в последнем случае хроматограмма отражает концентрационное распределение вещества на фракции по энергетическому состоянию;

— вещество разделяющее — как сложное по химическому составу, так и простое, при контакте с которым и перемещении относительно него происходит разделение вещества на фракции;

— вещество проявляющее — как сложное по химическому составу, так

и простое, с помощью которого разделяемое вещество перемещается относительно разделяющего.

Почему мы говорим о «взаимодействии путем контакта»? Потому, что вещества могут взаимодействовать друг с другом и на некотором удалении (например, с помощью электрических, магнитных, гравитационных полей), но это уже не хроматография. Условие контакта означает взаимодействие разделяемого и разделяющего веществ при их соприкосновении. Условие установленной поверхностью контакта позволяет отличать хроматографические процессы от тех, при которых поверхность контакта изменяется, например от барботирования.

И наконец, о возможности сочетания предложенной системы кодов с универсальной десятизначной классификацией (УДК). Она относит хроматографию к разделу аналитической химии. Но ведь существуют и препаративные хроматографические методы! Ясно, что хроматографии в тех рамках, которые определены УДК, было тесно всегда.

Предлагаемая система не разделяет препаративную и аналитическую хроматографию. Вместе с тем она не противоречит УДК, а могла бы допол-

нить ее. К примеру, можно было бы предлагаемые десятизначные коды располагать сразу после цифр УДК, обозначающих хроматографию, либо ниже отдельной строкой. В то же время эта система принципиально изменяет подходы к наименованиям хроматографических процессов и по-иному расставляет приоритеты учета факторов. Кроме того, по приведенной здесь таблице можно построить любое сочетание столбцов и строчек и понять, какой из возможных вариантов хроматографического процесса уже существует, а какой еще предстоит реализовать.

Как известно даже школьникам, открыватель хроматографии — выдающийся русский ученый Михаил Семёнович Цвет обнаружил процесс разделения смеси пигментов (откуда и появился корень «хроматос» в ее названии). Вот определение хроматографии, предложенное автором открытия:

«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 слое от-

лагаются 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 пропускания вытяжки 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».

Рассмотрим на этом хрестоматийном примере, как работает наша классификация, и постараемся определить код процесса.

Какой будет код у соединений, к которым отнесут пигменты (см. первую

рубрику — коды 01—99), решать придется специальной комиссии. Однако предположим, что пигментам будет присвоен код **82**.

Смесь пигментов находится в растворе, что и определяет направление, а именно — *хроматография жидкостей*. Код процесса становится **82.4**. Поскольку режим разделения — *дискретный проявительный*, код становится **82.4.3**.

В качестве разделяющего вещества (неподвижной фазы) использован гранулированный углекислый кальций, то есть *твердое вещество*. И код процесса — **82.4.3.06**. Колонка представляет собой стеклянную трубку средних размеров — хроматография *насадочная*. Следовательно, код — **82.4.3.06.3**. Смесь пигментов перемещается по колонке в *потоке жидкости*, движущейся сверху вниз под действием *гравитационного поля*. С учетом последнего фактора код процесса, проведенного



ДИСКУССИИ

М.С.Цветом, запишем в окончательном виде как **82.4.3.06.3.4.04**.

Предложенная классификация, как и любая другая, не может претендовать на полноту и безупречность, а период ее жизнеспособности будет определяться темпами накопления информации, вступающим в противоречие с ней. Приживется предлагаемая система или нет — покажет будущее.

СЛОВАРИК

Аффинная хроматография основана на свойстве биологически активных веществ селективно и обратимо связывать некоторые вещества (аффинаты или аффинные лиганды). Так взаимодействия гормонов с их рецепторами, антитела с антигенами и т. д. Обычно используют сорбенты с привитыми аффинными лигандами, отсюда и название.

Ионная хроматография появилась на базе *ионообменной*, а по механизму процесса они идентичны. Ионная хроматография получила свое название только потому, что были разработаны материалы, в которых ионообменные группы находятся исключительно на внешней поверхности гранул. Вдобавок к тому времени были разработаны устройства, позволяющие проводить детектирование разделенных веществ прямо в потоке, который выходит из разделительной колонки.

Идея барохроматографии заключается в снижении рабочего давления в системе по мере отделения одного компонента от другого. Идея хроматографии *ступенчатой* — в использовании системы последовательно расположенных колонок, диаметр которых уменьшается от первой к последней. Рабочее давление остается изначальным, поэтому достигается такой же эффект, как в бароварианте.

Реакционная хроматография основана на способности компонентов разделяемой смеси вступать в химические реакции с материалом неподвижной фазы (по предлагаемой классификации — с веществом разделяющим). Если первый компонент образует соединение, менее устойчивое по сравнению со вторым, последний будет разрушать ранее образовавшееся соединение, вытесняя с этих мест первый компонент, который подвижной фазой переносится на следующие участки колонки. Такой же механизм заложен и в основе *осадочной хроматографии*.

Пример процесса *проявительной хроматографии* — уже описанный эксперимент М.С.Цвета. Ограничений в количестве получаемых фракций (компонентов смеси) нет.

Вакантохроматография — процесс, аналогичный проявительному. Только в этом процессе через колонку непрерывно пропускают поток самой разделяемой смеси, а периодически вводят порцию какого-либо вещества, не входящего в состав смеси. Продвигаясь по колонке, оно временно нарушает установившееся равновесие пропорционально концентрации отдельных компонентов, тем самым вбирая в себя десорбированные компоненты. Получаемая в результате хроматограмма аналогична получаемой в проявительной. По аналогии с фотографией — это позитивное и негативное изображения.

Фронтальная хроматография — процесс, при котором через колонку пропускают разделяемую смесь. В результате из колонки в чистом виде выходит некоторая порция слабо сорбирующегося (первого) компонента, затем смесь первого и второго, затем смесь первого, второго и третьего и т. д. Когда из колонки начинает выходить смесь исходного состава, продолжать процесс бессмысленно. Результат — небольшая фракция первого компонента, а все остальное — «отголки» исходной смеси, то есть получается разделение на две фракции. Кстати, кроме проявительной и вакантохроматографии, все остальные процессы позволяют получить аналогичный результат.

Хроматография в поле центробежных сил — не более чем технический трюк. Суть ее заключается в использовании разности удельного веса двух жидкостей: одна содержит разделяемое вещество, другая является разделяющим веществом. Концы хроматографической колонки присоединены (как можно ближе) к оси детали, имеющей возможность вращаться вокруг оси. Преобладающая часть колонки вынесена на другой, больший радиус. Поэтому при вращении возникает движущая сила, которая перемещает разделяющую жидкость. Под ее натиском жидкая анализируемая проба, внесенная в этот поток, будет двигаться навстречу, поневоле направляясь к другому концу колонки. Разделение — лишь на две фракции. Одним словом, для реализации этого варианта нужны значительные усилия, а результат, говоря ненаучным языком, — пшик.

Идеальный вариант *хроматоэлектрофореза* предполагает перемещение разделяемых веществ в одном направлении, как при обычном хроматографическом процессе, и одновременно под действием электрического поля в направлении перпендикулярном. Колонка представляет собой прямоугольник.

Хромато-масс-спектрометрия — на выходе из разделительной колонки установлен масс-спектрометр (по сути, это детектор).

Для *циркуляционной хроматографии* вместо очень длинной колонки, требующей больших давлений (из-за большого гидравлического сопротивления), устанавливают две относительно короткие колонки, а разделяемая смесь движется (циркулирует) по замкнутому циклу таким образом, что из первой колонки попадает во вторую, а затем снова в первую и т. д. — до тех пор, пока не произойдет разделение компонентов.

В *капиллярной хроматографии* используют стеклянные или металлические трубки длиной от 10 до 100 метров и с внутренним диаметром от 0,1 до 1,0 миллиметра.

Седиментация — процесс осаждения твердых частиц в жидкости, в которой разные по размерам частицы одного и того же вещества движутся с разной скоростью.