КИНЕТИЧЕСКИ СЕЛЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

УДК 543.544.5
ВАК 02.00.02

Нестеренко П.Н., д.х.н., МГУ имени М.В.Ломоносова, p.nesterenko@phys.chem.msu.ru

Классическая жидкостная колоночная хроматография в подавляющем большинстве случаев основана на использовании равновесных процессов адсорбции и десорбции в проточных системах. В этом случае селективность разделения соединений определяется в первую очередь совокупностью химических свойств сорбента, элюента и сорбата. Альтернативным способом варьирования селективности в жидкостной хроматографии (ЖХ) может быть управление кинетикой взаимодействия сорбата и сорбента в рамках так называемой кинетически селективной ЖХ. В основе кинетических эффектов в хроматографии лежит различие в диффузионных свойствах разделяемых соединений, которое связано с конформацией, размером или массой сорбата. В этом случае изменение скорости потока подвижной фазы служит фактором, определяющим удерживание сорбатов и, соответственно, селективность разделения. Цель настоящего обзора – систематизация и обобщение литературных данных и собственного опыта автора. Обзор основан на материалах доклада автора на IV Всероссийской конференции с международным участием "Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез", состоявшейся с 27 сентября по 3 октября 2020 года в Краснодаре.

Жидкостная колоночная хроматография относится к числу устоявшихся и достаточно полно изученных методов разделения веществ. С момента ее открытия в 1903 году российским ученым М.С.Цветом [1] было разработано несколько десятков различных вариантов хроматографического разделения соединений, ионов и даже частиц, причем текущее развитие метода и его применений не замедлилось, как показывает наукометрический анализ современных тенденций в аналитической химии [2]. Понятно, что появление новых субстанций постоянно повышает требования к селективности, эффективности и экспрессности хроматографического разделения сложных по составу образцов. Такие образцы могут содержать, например, очень близкие по свойствам, а значит, трудные для селективного разделения или очень разные соединения, сложные для одновременного (из одной пробы) разделения в разумное время. Настоящий обзор посвящен не вполне обычным хроматографическим методам разделения, которые можно объединить в группу кинетически селективной хроматографии.

Подавляющее большинство работ по теории и практике хроматографии посвящены методам равновесной хроматографии. Последняя подразумевает работу в области линейной части изотермы адсорбции и использование структуры сорбента, оптимизированной для достижения максимально быстрого установления равновесия в фазе сорбента или минимального сопротивления массобмену. Сопротивление массобмену выражается значением коэффициента C_s в уравнении ван Деемтера, которое является основным в кинетической теории хроматографии:

$$H = A + B/u + (C_m + C_s)u, \quad (1)$$

где H – высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ); u – линейная скорость подвижной фазы в межчастичном пространстве хроматографической колонки, заполненной микрочастицами сорбента; A – слагаемое вихревой диффузии; B – коэффициент продольной диффузии; C_m и C_s – коэффициенты массопереноса в подвижной и неподвижной фазах соответственно. Понятно, что низкие значения коэффициента C_s позволяют проводить разделения без потери эффективности при высоких скоростях подвижной фазы, что обеспечивает заметное сокращение времени хроматографического анализа.

Наиболее яркими представителями сорбционных материалов с низким сопротивлением массопереносу являются бимодальные монолитные пористые колонки [3] и поверхностно-пористые (core-shell) сорбенты [4]. Кинетические эффекты в этом случае проявляются в термодинамически равновесной системе и влияют лишь на форму хроматографических пиков, но не на селективность разделения (α). Последняя определяется соотношением коэффициентов распределения (K_D), постоянных для выбранной пары сорбатов, элюента и сорбента:

$$\alpha = k_2/k_1 = K_D^2/K_D^1, \quad (2)$$

DOI: 10.32757/2619-0923.2021.1-2.20.92.100

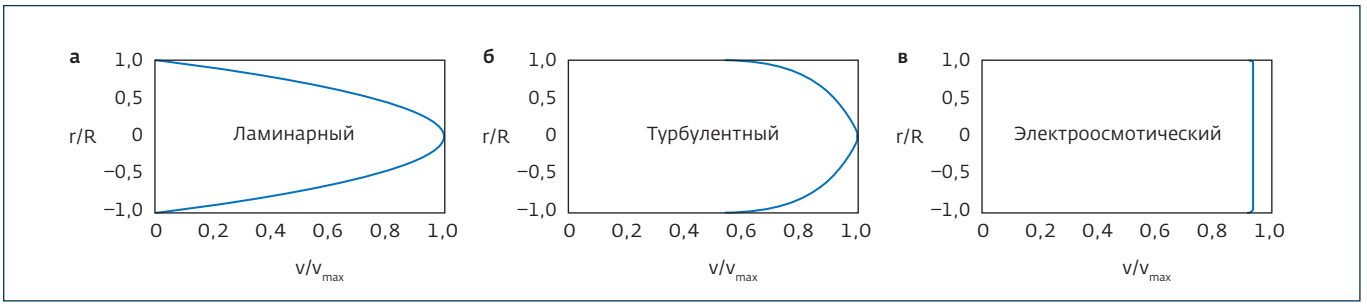


Рис.1. *Профили трех видов потока в полых хроматографических колонках: а – параболический, $v/v_{max} = 1 - (r/R)^2$; б – более плоский, чем ламинарный, $v/v_{max} = 1 - (r/R)^{1/7}$; в – практически плоский*

где k – фактор удерживания в хроматографической колонке. В высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для изменения селективности разделения обычно требуется изменить химическую природу сорбента, что достигается путем использования разных колонок и оптимизации состава элюента или подвижной фазы. Иногда заметные изменения в порядке удерживания сорбатов удается получить при регулировании температуры хроматографической колонки. Например, при разделении редкоземельных элементов на колонке, заполненной комплексообразующим сорбентом с привитыми группами иминодиуксусной кислоты, положение иттрия на хроматограмме относительно остальных элюируемых металлов можно регулировать изменением температуры [5].

Значительно менее известным, но от этого не менее эффективным способом изменения селективности разделения является кинетически селективная хроматография. Как следует из названия метода, значения α в этом случае должны зависеть от скорости потока u, т.е. данная разновидность хроматографии является неравновесной. Первый по значимости эффект при управлении скоростью подвижной фазы – изменение режима потока от ламинарного к турбулентному.

ТУРБУЛЕНТНЫЙ ПОТОК В ХРОМАТОГРАФИИ

В идеальном случае турбулентный режим в открытых колонках или полых трубках с внутренним диметром D_c и гладкой внутренней поверхностью наступает при достижении критического значения числа Рейнольдса $R_e > 2030 \pm 10$. Число Рейнольдса для полых трубок или капилляров рассчитывается по следующей формуле:

$$R_e = \rho u D_c / \eta, \qquad (3)$$

где ρ – плотность жидкости; η – вязкость жидкости. Для набивных колонок с учетом неидеальной и шероховатой поверхности частиц сорбента эффективное число Рейнольдса можно выразить следующим образом [6]:

$$R'_e = \frac{u_s \rho d_p}{\eta \varepsilon_0}, \qquad (4)$$

где ε_0 – внешняя пористость (external porosity) или относительный объем межчастичных пустот (bed voidage) в набивной колонке; d_p – средний размер микросферических частиц сорбента; u_s – линейная (superficial) скорость подвижной фазы в межчастичном пространстве хроматографической колонки. Для набивных колонок однозначно ламинарный поток наблюдается при значениях $R'_e < 10$, а переходный от ламинарного к турбулентному поток – в диапазоне значений $10 < R'_e < 2000$.

Главным преимуществом турбулентного потока в хроматографии является более плоский по сравнению с ламинарным профиль хроматографической зоны (рис.1), что приводит к уменьшению размывания хроматографических пиков, снижению ВЭТТ и увеличению эффективности. На рис.2 приведены экспериментально полученные для модельных соединений зависимости приведенной ВЭТТ от скорости потока газа-носителя, представленной в виде числа Рейнольдса [7]. Видно, что при значениях $R'_e > 2300$ ($\log R'_e > 3{,}37$) наблюдается резкое увеличение эффективности хроматографической колонки, связанное с переходом режима потока от смешанного к турбулентному. Из формул (3) и (4) следует, что турбулентный поток сильнее проявляется в полых колонках большего диаметра или заполненных крупнозернистым непористым либо макропористым сорбентом. Также турбулентный эффект легче наблюдать в подвижных фазах с низкой вязкостью, т.е. в газах и сверхкритических флюидах.

КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ В ТУРБУЛЕНТНОМ ПОТОКЕ

Возможность использования турбулентного режима в газовой хроматографии впервые была показана Кал-

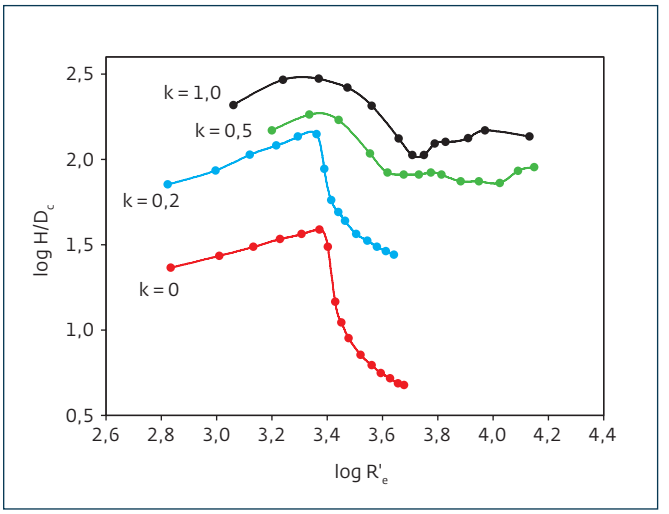


Рис.2. *Зависимости приведенной ВЭТТ от числа Рейнольдса для сорбатов с различными факторами удерживания, экспериментально полученные [8] для полых капиллярных колонок*

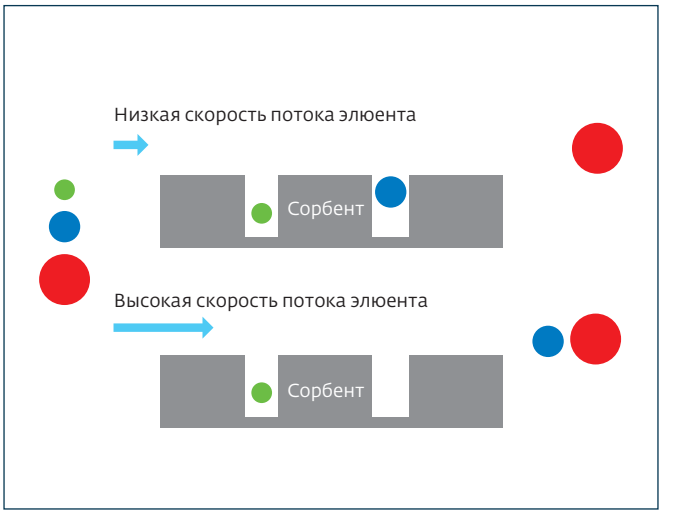


Рис.3. *Фракционирование молекул по размеру при хроматографии в турбулентном потоке*

вином Гиддингсом в 1966 году [7]. В газовой хроматографии переход от ламинарного режима к турбулентному приводит к резкому увеличению эффективности в несколько раз. Например, на рис.2 показано, что при изменении режима потока значение ВЭТТ для неудерживаемого сорбата с k = 0 снижается примерно в 8 раз. В той же работе [7] Гиддингс указал и на основной недостаток турбулентной хроматографии – увеличение эффективности разделения только для неудерживаемых и слабоудерживаемых сорбатов. Данный недостаток подтвержден результатами современных работ [8, 9] (рис.2).

Из формулы (4) видно, что турбулентность легче возникает в колонках с относительно малой внешней пористостью ε_0, т.е. заполненных крупнозернистыми непористыми или макропористыми частицами сорбентов. Однако для сорбентов, которые имеют размер пор, сопоставимый с размером молекул разделяемых соединений, в относительно вязких, например, жидких фазах наблюдаются не менее интересные кинетические эффекты, влияющие на селективность разделения. При увеличении скорости подвижной фазы в хроматографической колонке происходит дополнительное фракционирование молекул по размеру (рис.3). Для относительно больших молекул (красные круги на рис.3) с диаметром больше диаметра пор ($d_{mol} > D_{pore}$) внутренняя поверхность сорбента, обеспечивающая основной вклад в его общую удельную поверхность, недоступна для взаимодействия, и такие молекулы относительно слабо удерживаются на колонке. Для молекул, размер которых сопоставим с размером пор сорбента ($d_{mol} \sim D_{pore}$, голубые круги на рис.3), в зависимости от скорости потока возможны два сценария. При низкой скорости потока подвижной фазы такие молекулы имеют достаточно времени для установления адсорбционного равновесия с сорбентом, проникают в его поры и удерживаются на хроматографической колонке согласно своим адсорбционным характеристикам. Но при повышении скорости потока до определенного значения они перестают успевать "заскакивать" внутрь пор, поэтому внутренняя поверхность пор становится недоступной для адсорбционного взаимодействия. Таким образом, удерживание молекул этой группы и селективность отделения от других молекул в значительной степени зависит от скорости потока, т.е. реализуется вариант кинетически селективной хроматографии. Для очень маленьких молекул ($d_{mol} << D_{pore}$, зеленые круги на рис.3) доступность пористой структуры слабо зависит от скорости потока и определяется геометрией пор и их распределением по размеру.

Эффект кинетической дискриминации сорбатов в хроматографической колонке путем изменения скорости жидкой подвижной фазы получил название "хроматография в турбулентном потоке" (Turbulent Flow Chromatography, TFC). С научной точки зрения этот термин не вполне корректен, поскольку соответствующий метод применяется не в хроматографическом анализе, а в пробоподготовке с целью отделения соединений с молекулярной массой менее 1000 дальтон от более крупных соединений и солевого фона. По этой причине многие авторы предпочитают использовать термины "экстракция в турбулентном потоке" (Turbu-

lent Flow Extraction) [10] или "твердофазная экстракция в турбулентном потоке" (Solid Phase Extraction in Turbulent Flow) [11].

В соответствии с формулой (4) для практического получения турбулентного потока жидкости в слое сорбента следует использовать короткие узкие колонки 50×1,0 мм или 50×0,5 мм, заполненные макропористым сорбентом с размером частиц от 50 до 70 мкм. При жидкой подвижной фазе для таких колонок не удалось получить заметного выигрыша в эффективности при переходе от ламинарного к турбулентному потоку. Показатель числа теоретических тарелок около 2000 теор.т.м или 100 теор.т. на колонку длиной 50 мм [12] заметно ограничивает разрешающую способность при разделении низкомолекулярных соединений. Из-за высоких давлений при скоростях потока около 5–6 мл/мин использование более длинных и эффективных колонок проблематично, поэтому хроматографию в турбулентном потоке можно рассматривать только как вариант твердофазной экстракции. Для оптимальной экстракции низкомолекулярных соединений используют сорбенты с порами размером около 6 нм. Сорбенты для экстракции в турбулентном потоке могут быть полимерными или на основе силикагеля, причем в зависимости от свойств экстрагируемых соединений поверхность частиц может быть модифицирована гидрофобными, ионообменными и другими функциональными группами.

Технология экстракции в турбулентном потоке TurboFlow была разработана компанией Cohesive Technologies, создавшей систему Cohesive Aria TX-1 System, а в настоящее время поддерживается компанией ThermoFisher Scientific, которая предлагает систему Transcend TLX. Концентрирование в турбулентном потоке можно осуществить в двух вариантах: ускоренным элюированием (Quick Elute mode) и фокусированием (Focus mode) [13]. В первом случае быстрое отделение в турбулентном потоке низкомолекулярных соединений от высокомолекулярных и частичное разделение полученной фракции выполняются на одной колонке. Во втором случае проводится концентрирование низкомолекулярных сорбатов в колонке в турбулентном потоке с последующим разбавлением полученной фракции, что обеспечивает фокусирующий эффект на входе во вторую аналитическую хроматографическую колонку, используемую для эффективного разделения сконцентрированных компонентов исходной пробы (рис.4).

В варианте с фокусированием колонки могут использоваться в параллельном режиме. Так, пока на аналитической колонке выполняется ВЭЖХ-разделение сконцентрированной фракции одной пробы, на концентрирующей колонке можно проводить подготовку следующей пробы. Кроме того, в колонках можно применять разнотипные по химии поверхности и адсорбционному механизму удерживания сорбенты, что повышает разрешающую способность и аналитические возможности

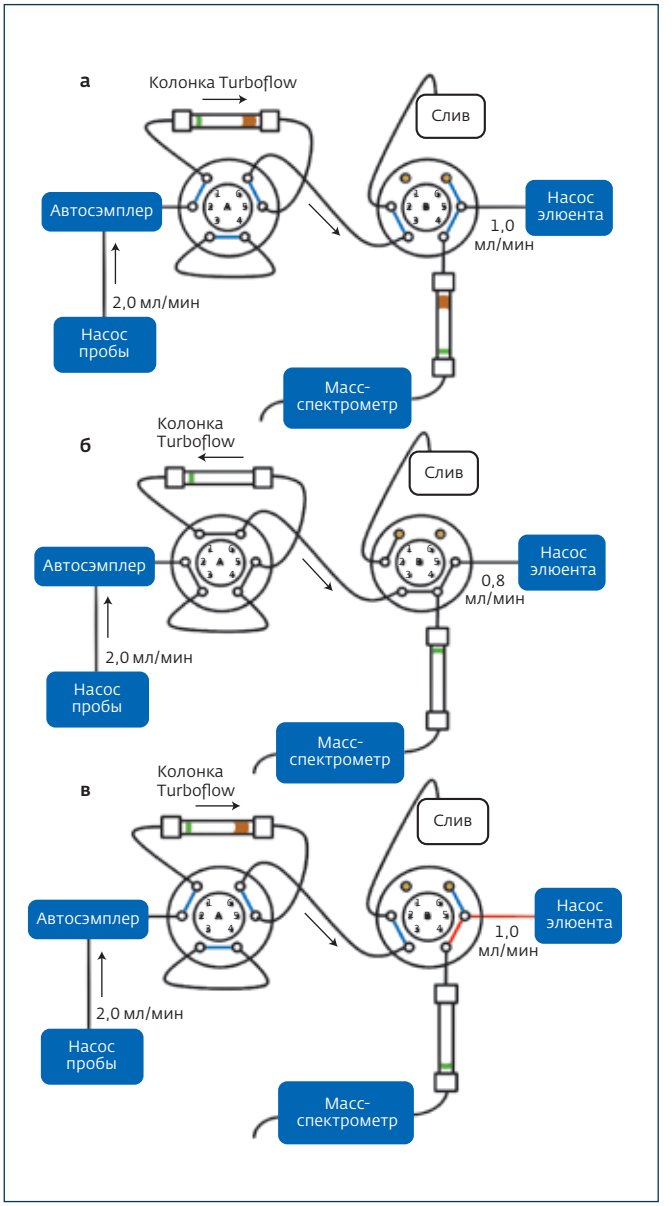


Рис.4. *Схема работы системы концентрирования в турбулентном потоке с фокусировкой зоны низкомолекулярных сорбатов в аналитической хроматографической колонке: а – отделение фракции низкомолекулярных соединений от высокомолекулярных и концентрирование в колонке TurboFlow; б – элюент из колонки TurboFlow смешивается со "слабым" элюентом в специальном переключателе потоков; в – параллельное проведение разделения на хроматографической колонке и концентрирования следующей пробы*

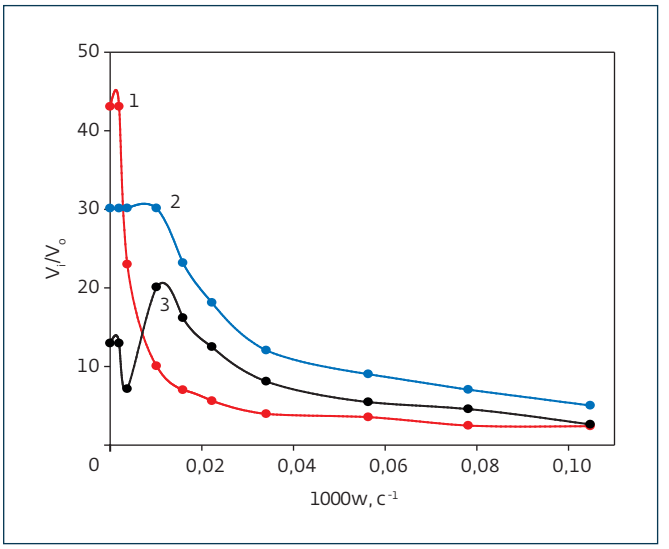


Рис.5. *Кинетически селективное разделение эремомицина (1) с молекулярной массой 1558 а.е.м. и доксорубицина (2) с молекулярной массой 580 а.е.м. на катионите КБ-4П-2. Кривая 3 – расстояние между выходными фронтами компонентов смеси $\Delta V/V_0$. Параметры колонки: объем – 1,53 см^3; d_p = 640 мкм; фазовое соотношение ф = 2,3 [14]*

системы за счет улучшенной совместимости используемых элюентов.

Метод концентрирования в турбулентном потоке нашел широкое применение для определения лекарственных препаратов, стероидов, витаминов, продуктов метаболизма в различных биологических жидкостях, таких как кровь, плазма, сыворотка слезы, моча [13]. Метод оказался особенно эффективным в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием.

КИНЕТИЧЕСКИ СЕЛЕКТИВНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ МАКРОМОЛЕКУЛ

В 1990-х годах в Институте высокомолекулярных соединений РАН был разработан метод ЖХ-разделения биологически активных соединений, в основе которого лежит эффект кинетически селективной сорбции (КСС) [14]. Суть КСС заключается в том, что селективность разделения смеси может регулироваться путем изменения соотношений между коэффициентами распределения и скоростями сорбции компонентов в слое сорбента, определяемыми эффективными коэффициентами диффузии. Для ряда двухкомпонентных смесей был найден эффект инверсии селективности сорбции, когда порядок выхода соединений из колонки изменяется на обратный при увеличении скорости элюента и компонент с более высоким равновесным коэффициентом распределения элюируется первым.

На рис.5 показан пример обращения селективности или фактора разделения эремомицина и доксорубицина на колонке с карбоксильным катионообменником КБ-4П-2. Изменение приведенной скорости подвижной фазы рассчитывается по формуле:

$$\omega = u/h, \qquad (5)$$

где h – высота столба сорбента в хроматографической колонке.

Следует отметить, что большинство разделений в методе КСС проводится на небольших колонках с объемом 1,5–3,0 мл, заполненных крупнозернистыми ионообменниками с невысокой степенью сшивки и размером частиц 0,6–1,1 мм. Поэтому основной областью применения этого метода является препаративная хроматография биологически активных соединений, отличающихся по объему или массе, и следовательно, диффузии в фазе сорбента.

КИНЕТИЧЕСКИ СЕЛЕКТИВНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Описанный выше механизм турбулентной хроматографии в потоке был рассмотрен для сорбента с идеальной пористой структурой, состоящей из цилиндрических пор определенного размера. На практике пористая структура большинства хроматографических сорбентов не идеальна. В реальном сорбенте поры отличаются размерами и формой, причем нередко имеются узкие участки, в которых возможна кинетическая дискриминация молекул обычных низкомолекулярных соединений.

На рис.6 приведены хроматограммы бензола, представленные в виде зависимости сигнала детектора от объема пропущенного элюента (V_r), которые были получены при различных значениях объемной скорости элюента на популярной хроматографической колонке Luna C18 [15]. Если предположить постоянство мертвого объема колонки V_0 = const, то $k = (V_r - V_0)/V_0$ зависит от скорости потока, и в хроматографической системе присутствует элемент неустоявшегося адсорбционного равновесия. Тогда значения коэффициентов распределения K_D зависят от скорости потока, а его увеличение приводит к снижению объема удерживания V_r, т.е. при высоких скоростях не весь объем пористой структуры в колонке доступен для молекулы сорбата. Это означает, что практически во всех ВЭЖХ-колонках возможен кинетический эффект, который потенциально может влиять на селективность разделения. Понятно, что эффект будет более выражен

НПФ «МЕТА-ХРОМ»

ГАЗОВЫЕ ХРОМАТОГРАФЫ

Промышленный хроматограф
«ПЕТРОХРОМ-4000»

Лабораторный хроматограф
«КРИСТАЛЛЮКС-4000М»

Хромато-масс-спектрометр
«КРИСТАЛЛЮКС–4000М»/
«МАЭСТРО-αМС»

ОСНОВНЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА ХРОМАТОГРАФОВ НПФ "МЕТА-ХРОМ"

Высокая чувствительность
и точность измерений
Полная автоматизация
Адаптация под любые задачи заказчика
Надежность и простота эксплуатации

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

Нефтегазодобыча и переработка
Химическая промышленность
Сельское хозяйство
Пищевая промышленность
Криминалистика
Энергетика
Экология
Медицина

ЛАБОРАТОРНЫЕ РЕАКТОРНЫЕ УСТАНОВКИ

Лабораторная установка
ТЕРМОКОНТАКТНОГО КРЕКИНГА
С ПОДВИЖНЫМ ТВЁРДЫМ ТЕПЛОНОСИТЕЛЕМ

НАЗНАЧЕНИЕ

Моделирование процесса термоконтактного крекинга тяжелых нефтяных остатков для задач нефтехимических производств.

ФРАКЦИИ

Мазут тяжелых нефтей, гудрон и полугудрон, асфальт, пек, тяжелый газойль, природный битум, деасфальтизация высоковязких нефтей и др.

ЛАБОРАТОРНЫЕ УСТАНОВКИ ПРОИЗВОДСТВА НПФ "МЕТА-ХРОМ"

Установка селективного гидрирования.

Установка определения стойкости микросферических катализаторов к истиранию.

Установка циклического пропиленового пропаривания.

Установка гидроочистки с неподвижным слоем катализатора.

Установка алкилирования бензола.

Установка дегидрирования изобутана в кипящем слое.

ООО «НПФ «Мета-хром»
424000, Россия, Республика Марий Эл,
г. Йошкар-Ола, ул. Баумана, 100

www.meta-chrom.ru
(8362) 42-49-97, 73-45-24, 42-22-66
m_chrom@mari-el.ru

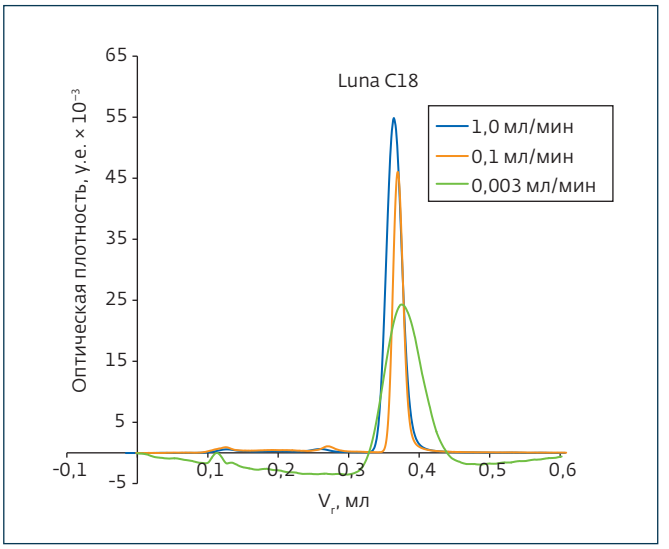


Рис.6. *Объем удерживания (V_r) бензола при разных скоростях потока подвижной фазы. Колонка Luna C18 (50×2 мм, 5 мкм, 215 м²/г, D_{pore} = 4,15 нм, V_{pore} = 0,598 см³/г), элюент – смесь ацетонитрила с водой (60:40) [15]*

для сорбатов с большим молекулярным объемом или массой.

Наиболее отчетливо кинетический эффект проявляется для микропористых сорбентов с размером пор 1,0–1,5 нм. Эффект зависимости селективности хроматографического разделения от скорости потока элюента (flow-dependent separation selectivity, FDSS) подтвержден для некоторых ароматических углеводородов [16, 17]. В соответствующей серии экспериментов, проводимых в условиях нормально-фазовой ВЭЖХ, использовался новый композиционный поверхностно-пористый сорбент. Микросферические частицы сорбента имели сложную трехслойную структуру, включающую центральное ядро из макропористого (размер частиц 5 мкм, диаметр пор 30 нм, площадь поверхности 100 м²/г) или непористого (размер частиц 2,1 мкм, площадь поверхности 1,5 м²/г) силикагеля. Поверхность ядра была активирована полимерным слоем, полученным конденсацией эпокси-силана и глутаминовой кислоты (Glu) [18]. Дикарбоксильные остатки на поверхности полученного промежуточного сорбента Glu@SiO_2 были использованы для связывания в комплекс ионов циркония и последующего создания на этой основе слоя металлорганического каркаса (МОК), сформированного ионами $Zr^{(IV)}$ и 1,4-бензолдикарбоновой кислоты (bdc). Данный тип МОК с двумя типами пор размером 0,8 и 1,1 нм также известен как UiO-66 или $[Zr_6O_4(OH)_4(bdc)_6]$ и характеризуется относительно высокой химической стабильностью. При использовании хроматографической колонки, заполненной сорбентом UiO-66@Glu@SiO_2, наблюдали изменение селективности разделения ароматических соединений, например, изопропилбензола и этилбензола от 1,01 до 1,80 при снижении объемной скорости элюента – н-гексана – от 0,50 до 0,03 мл/мин (рис.7).

Следует отметить, что сорбент UiO-66@Glu@SiO_2 с пористым силикагелем в качестве центрального ядра показал более отчетливый кинетический эффект изменения селективности, чем сорбент на основе непористого силикагеля. Этот факт не в полной мере соответствует концепции оптимальной структуры

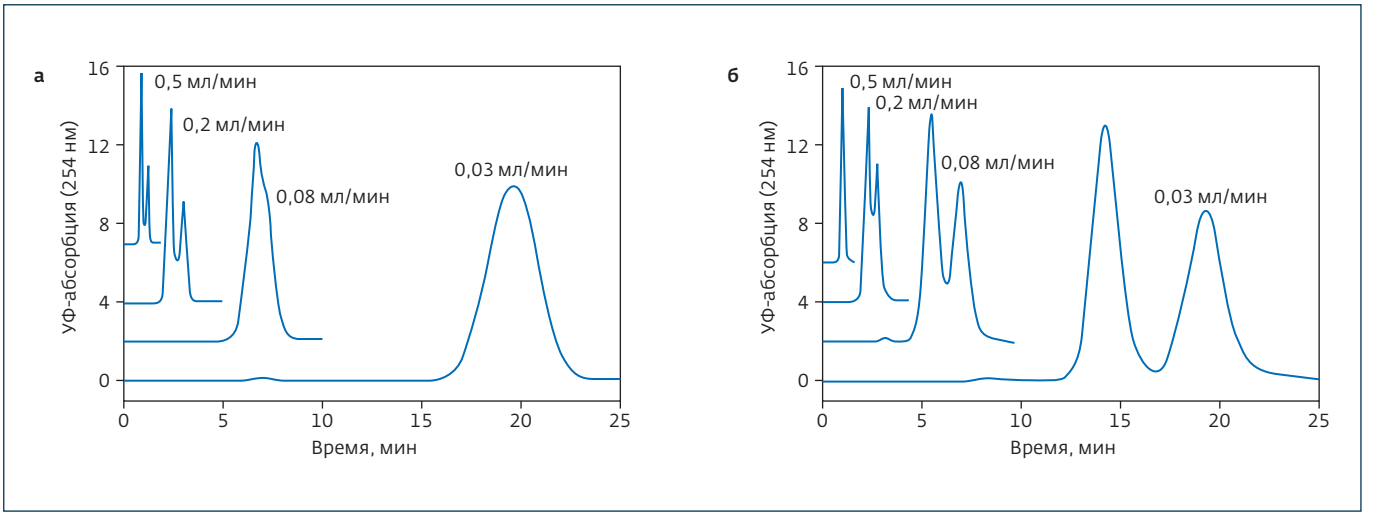


Рис.7. *Влияние скорости потока на разделение аналитов методом кинетически селективной ЖХ на колонке UiO-66@Glu@SiO_2: а – смесь толуола и антрацена; б – смесь кумола и этилбензола [19]*

поверхностно-пористых сорбентов и, по-видимому, связан со слишком толстым внешним слоем МОК.

В целом по своему феноменологическому проявлению кинетически селективный эффект в ВЭЖХ на сорбенте UiO-66@Glu@SiO_2 аналогичен разделению молекул при концентрировании в турбулентном потоке, как показано на рис.3. Однако имеются и принципиальные отличия:

- более высокая эффективность разделения, что объясняется использованием для набивки колонок частиц размером 2–5 мкм, а не сорбентов с размером частиц 50–75 мкм, как в случае хроматографии в турбулентном потоке;
- проявление эффектов FDSS при очень маленьких объемных скоростях подвижной фазы вплоть до 0,03 мл/мин вместо 5–6 мл/мин для разделений в турбулентном потоке;
- использование хроматографических колонок с внутренним диаметром 4,6 мм, тогда как в хроматографии в турбулентном потоке колонки имеют внутренний диаметр 0,5–1,0 мм;
- кинетически селективное разделение наблюдается для соединений с чрезвычайно малыми различиями в молекулярной массе и, соответственно, в коэффициентах диффузии.

Понятно, что в указанных условиях при разделении на UiO-66@Glu@SiO_2 появление турбулентности маловероятно. Можно предположить, что основным механизмом FDSS является изменение внешнего давления относительно микропористой структуры сорбента и линейной скорости у поверхности сорбента. Гипотетически микропористая структура сорбента UiO-66@Glu@SiO_2 ведет себя аналогично нанопористой мембране в высокоэффективной ультрафильтрации с тангенциальным потоком (high performance tangential flow filtration, TFF) [20]. Выяснение реального механизма FDSS требует дополнительных исследований.

ДРУГИЕ МЕТОДЫ КИНЕТИЧЕСКИ СЕЛЕКТИВНЫХ РАЗДЕЛЕНИЙ

Еще одним методом разделения, в котором скорость подвижной фазы определяет селективность, является гидродинамическая хроматография в набивных колонках [21]. В его основе лежит различие в скоростях потока подвижной фазы возле поверхности частиц сорбента и в межчастичном пространстве. Мелкие молекулы и частицы проводят больше времени в области низких скоростей потока (ближе к стенкам) и, соответственно, элюируются позже, т.е. порядок элюирования аналогичен эксклюзионной хроматографии. Как правило, в этом варианте хроматографии используются колонки с непористыми сорбентами или полые трубки/капилляры, при этом вклад адсорбционных взаимодействий в удерживание минимален. Метод предназначен для разделения макромолекул полимеров и коллоидных частиц. Следует отметить, что кинетический эффект, выражающийся в зависимости относительного времени удерживания макромолекул (отношения времен элюирования полимера и низкомолекулярного соединения) от скорости подвижной фазы, отчетливо проявляется лишь для соединений с молекулярной массой более $1 \cdot 10^6$ г/моль [22]. Возможны следующие причины зависимости относительного времени удерживания от скорости потока подвижной фазы:

- неоднородность профиля скорости потока в колонке и связанная с этим радиальная диффузия, различающаяся для молекул разного объема;
- изменение конформации молекул, например вытягивание клубка полимера вдоль профиля потока жидкости;
- гидродинамическая диффузия молекул в неоднородном потоке. При параболическом профиле ламинарного потока (рис.1а) в полой трубке молекулы будут диффундировать к центру, а в слое сорбента в набивной колонке – к поверхности сорбента;
- разветвление потока подвижной фазы возле частиц сорбента, вследствие чего концентрация более крупных молекул возле поверхности сорбента оказывается выше. Данный эффект более заметен при повышении скорости потока и увеличении массы макромолекул.

Разновидностью гидродинамической хроматографии является так называемая слаломная хроматография, открытая в 1989 году при разделении крупных фрагментов ДНК [23]. При возрастании скорости подвижной фазы макромолекулы полимеров меняют свою конфигурацию от клубка к вытянутой. Более длинные фрагменты полимеров обладают меньшей гибкостью и сложнее проходят между частицами сорбента, поэтому их удерживание пропорционально молекулярной массе в противоположность порядку элюирования в эксклюзионной хроматографии. Разделение достигается при высоких скоростях подвижной фазы, обеспечивающих изменение конформации полимеров, и важную роль играют факторы, влияющие на конформацию полимерных клубков, такие как вязкость подвижной фазы, температура колонки, солевые добавки в элюент, давление в хроматографической системе и др. При этом пористость и химия поверхности сорбента оказывают незначительное влияние на разделение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящий обзор не претендует на глубину анализа теории кинетически селективной хроматографии, но

охватывает основные варианты изменения селективности разделения при варьировании скорости потока подвижной фазы. Согласно литературным данным, в последние годы растет интерес к использованию новых возможностей в неравновесной хроматографии. Большинство рассмотренных вариантов ориентированы на разделение макромолекул, но можно отметить и существенный прогресс в области разработки кинетически селективных хроматографических методов для разделения низкомолекулярных соединений.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 20-03-00584а).

ЛИТЕРАТУРА

1. **Сенченкова Е.М.** М.С. Цвет – создатель хроматографии. М.: Янус-К, 1997. 440 с.
2. **Нестеренко П.Н.** Наукометрический взгляд на пути развития современной аналитической химии // Лаборатория и производство. 2020. № 6. С. 46–53.
3. **Paull B.**, **Nesterenko P.N.** New possibilities in ion chromatography using porous monolithic stationary phase media // TRAC-Trends in Analytical Chemistry. 2005. Vol. 24, No. 4. P. 295–303.
4. **Nesterenko E.P.**, **Nesterenko P.N.**, **Connoly D.**, **He X.**, **Floris P.**, **Duffy E.**, **Paull B.** Nano-particle modified stationary phases for high-performance liquid chromatography // Analyst. 2013. Vol. 138, No. 15. P. 4229–4254.
5. **Nesterenko P.N.**, **Jones P.** Recent developments in the high-performance chelation ion chromatography of trace metals // Journal of Separation Science. 2007. Vol. 30, No. 11. P. 1773–1793.
6. **Dwivedi P.N.**, **Upadhyay S.N.** Particle-fluid mass transfer in fixed and fluidized beds // Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development. 1977. Vol. 16, No. 2. P. 157–165.
7. **Calvin Giddings J.**, **Manwaring W.A.**, **Myers M.N.** Turbulent-gas chromatography // Science. 1966. Vol. 154. (3745). P. 146–148.
8. **Gritti F.** High-resolution turbulent flow chromatography // Journal of Chromatography A. 2018. Vol. 1570. P. 135–147.
9. **Galietti M.R.**, **Peulon-Agasse V.**, **Cardinael P.**, **Fogwill M.O.**, **Besner S.**, **Gritti F.G.** Turbulent supercritical fluid chromatography in open-tubular columns for high-throughput separations // Analytical Chemistry. 2020. Vol. 92. P. 7409–7412.
10. **De Wilde L.**, **Roels K.**, **Van Eenoo P.**, **Deventer K.** Online turbulent flow extraction and column switching for the confirmatory analysis of stimulants in urine by liquid chromatography-mass spectrometry // Journal of Analytical Toxicology. 2021. Vol. 45. P. 666–678.
11. **Gao K.**, **Fu J.**, **Xue Q.**, **Fu J.**, **Fu K.**, **Zhang A.**, **Jiang G.** Direct determination of free state low molecular weight compounds in serum by online TurboFlow SPE HPLC-MS/MS and its application // Talanta. 2019. Vol. 194. P. 960–968.
12. **Edge T.** Turbulent flow chromatography in bioanalysis // Handbook of Analytical Separations. Elesevier Science, 2003. P. 91–128.
13. **Couchman L.** Turbulent flow chromatography in bioanalysis: a review // Biomedical Chromatography. 2012. Vol. 26. P. 892–905.
14. **Писарев О.А.** Кинетически селективная препаративная хроматография биологически активных веществ на полимерных сорбентах // Известия Академии наук. 2020. № 5. С. 885–892.
15. **Giaquinto A.P.** Synthesis, modification and characterization of spherical SBA-15 ordered mesoporous silica and evaluation in high-performance liquid chromatography / Ph.D. thesis. Seton Hall University, 2012.
16. **Peristyy A.**, **Nesterenko P.N. Hilder E.**, **Das A.**, **D'Alessandro D.M.**, **Arrua D.** Flow-dependent separation selectivity for organic molecules on metal-organic framework containing adsorbents // Chemical Communications. 2016. Vol. 52. P. 5301–5304.
17. **Arrua D.**, **Peristyy A.**, **Nesterenko P.N.**, **Das A.**, **D'Alessandro D.M.**, **Hilder E.** UiO-66@SiO2 core-shell microparticles as stationary phases for the separation of small organic molecules // Analyst. 2017. Vol. 142. No. 3. P. 517–524.
18. **Elefterov A.I.**, **Kolpachnikova M.G.**, **Nesterenko P.N.**, **Shpigun O.A.** Ion-exchange properties of glutamic acid-bonded silica // Journal of Chromatography A. 1997. Vol. 769. P. 179–188.
19. **Василевич Н.И.** Научная конференция "Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез" // Лаборатория и производство. 2020. № 6. С. 36–44.
20. **Van Reis R.**, **Gadam S.**, **Frautschy L.N.**, **Orlando S.**, **Goodrich E.M.**, **Saksena S.**, **Kuriyel R.**, **Simpson C.M.**, **Pearl S.**, **Zydney A.L.** High performance tangential flow filtration // Biotechnology and Bioengineering. 1997. Vol. 56. P. 71–82.
21. **Striegel A.M.**, **Brewer A.K.** Hydrodynamic chromatography // Annual Review of Analytical Chemistry. 2012. Vol. 5. P. 15–34.
22. **Курганов А.А.**, **Канатьева А.Ю.**, **Орехов В.А.** Конформационные переходы в макромолекулах в потоке элюента и их проявление в хроматографии полимеров // Успехи химии. 2014. Т. 83 (7). С. 638–656.
23. **Hirabayashi J.**, **Ito N.**, **Noguchi K.**, **Kasai K.I.** Slalom chromatography: size-dependent separation of DNA molecules by a hydrodynamic phenomenon // Biochemistry. 1990. Vol. 29, No. 41. P. 9515–9521.

ЦЕНТР ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММ
ПРОФЕССИЯ

ИСО/МЭК 17025 : 2017 Практические рекомендации по применению. 2-е издание, исправленное и дополненное
И. В. Болдырев
128 с.
1 400 руб.

Руководство по качеству в аналитической химии. Подготовка к аккредитации 3-е издание
CITAC/Eurachem
128 с.
1 000 руб.

Применение ВЭЖХ в судебно-медицинской экспертизе и криминалистике. Практическое руководство
Ш. Бейн, М. Карлин
288 с., цветные иллюстрации
1 500 руб.

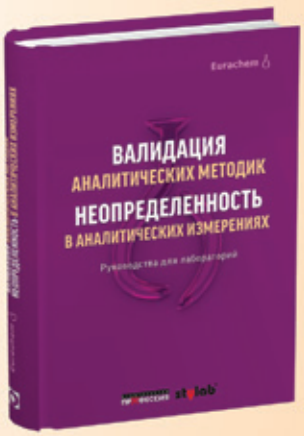
Внедрение требований ISO/IEC 17025:2017 и аудит в лабораториях
С. В. Крейнин, В. Н. Новиков
208 с.
1 400 руб.

20 лет на рынке профессиональной литературы

Биофармацевтическое производство. Разработка, проектирование и внедрение производственных процессов
Г. Ягшис, Е. Линдског, К. Лаки, П. Галлихер
2 тома, 1488 с., полностью цветное издание
11 500 руб.

Химия окружающей среды
Стэнли Е. Монаган
1024 с.
3 900 руб.

Внутренний контроль качества. Руководство для аналитических лабораторий
Под ред. И. В.Болдырева
80 с., полностью цветное издание
1 000 руб.



Валидация аналитических методик. Неопределенность в аналитических измерениях. Руководства для лабораторий
Под ред. Г. Р. Нежиховского, Р. Л. Кадиса
312 с.
2 000 руб.

www.epcprof.ru - заказ online и все книги издательства

по тел./факсу: +7 (812) 313-54-14
почтой по адресу: 190020, Санкт-Петербург, а/я 140
по электронной почте: shop@epcprof.ru, info@epcprof.ru