ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ: ПРОШЛОЕ! НАСТОЯЩЕЕ. БУДУЩЕЕ?..

Часть 2

УДК: 543.06
ВАК: 02.00.02

Гурковская Е.А., д.т.н., МГУТУ им. К.Г.Разумовского, e.a.gurkovskaya@yandex.ru,
Малахова И.И. к.х.н., **Красиков В.Д.**, д.х.н., ИВС РАН, lenchrom@hq.macro.ru

Метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) – важный аналитический, физико-химический и микропрепаративный метод, который отличается простотой, высокой экономичностью и универсальностью. Он приобрел значение в качестве экспресс-метода и широко используется в науке, промышленности, медицине, фармации, ветеринарии, в контроле загрязнений окружающей среды, в центрах Госсанэпидемнадзора, стандартизации и метрологии. ТСХ пригоден для анализа химических соединений разных классов, в том числе биополимеров, многокомпонентных смесей сложного состава, например, различных растительных экстрактов. Количественные методы ТСХ анализа используются не только для оценки содержания компонентов в смеси, но и даже для определения радиоактивных веществ.

ТСХ ДЛЯ РАЗДЕЛЕНИЯ И АНАЛИЗА РАЗЛИЧНЫХ ОБЪЕКТОВ

Планарная хроматография полимеров

Общим методом разделения, широко применяемым для анализа полимеров, является эксклюзионная (SEC) или гель-проникающая хроматография (GPC). Они основаны на различной способности молекул диффундировать в пористое пространство частиц сорбента. Этот метод позволяет определять молекулярную массу (Mw) и молекулярно-массовое распределение (MWD) синтетических полимеров. Надежным, доступным и быстрым методом фракционирования полимеров является планарная хроматография (ПЛХ) [40] – доступный и быстрый способ разделения. Планарную хроматографию можно использовать для быстрого подбора условий для процессов ВЭЖХ: подобранный состав элюента для ПЛХ, обеспечивающий необходимое разделение, можно применить для колонки, заполненной тем же сорбентом. Неподвижная фаза в планарной хроматографии обычно представляет собой пористые неорганические частицы (силикагель), нанесенные тонким слоем на пластину. Эффективность разделения определяется размером гранул и гранулометрическим составом сорбента.

Первые результаты по этой теме были опубликованы Б.Г.Беленьким еще в 1978 г. [41], в обзоре были рассмотрены теоретические основы этого метода и его применение к исследованию полимеров и олигомеров.

Основными механизмами разделения полимеров в ТСХ являются адсорбционная ТСХ (АТСХ) и осадительная ТСХ (ОТСХ), которая в свою очередь делится на собственно АТСХ, эксклюзионную ТСХ (ЭТСХ) и ТСХ в критических условиях (КТСХ) [42]. Термин КТСХ был также предложен Б.Г.Беленьким, показавшим, что существуют критические условия, при которых гетерополимеры (сополимеры, функциональные олигомеры) могут разделяться только по размерам одного из компонентов макромолекулы. Второй компонент, находясь в таких "критических условиях", хроматографически "невидим" – его коэффициент разделения (Kd) не зависит от его размера. На основе этих данных была разработана теория жидкостной хроматографии полимеров, согласно которой эксклюзионная и адсорбционная хроматография разделяются критической точкой, в которой при коэффициенте распределения Kd=1 происходит фазовый переход I рода, и макромолекулы из адсорбированного состояния переходят в раствор при незначительном изменении состава элюента или температуры. Применительно к блок-сополимерам (БС) критическая хроматография может быть использована для разделения по размерам одного из его блоков (хроматографически "видимого"). Эксперименты проводились со смесью блок-сополимеров из полистирола (PS, блок А) и поли-третбутилметакрилата (Pt-BMA, блок В) на пластинах с силикагелями Si 120 и Si 300. Были найдены условия КТСХ, при которых образцы ПС подвергаются ЭТСХ. На рис.11 видно, что на силикагеле Si 120 PtBMA с разной молекулярной массой (зоны 1 и 2) имеют одинаковые значения RF. На рис.11 представлены хроматограммы разделения двух пар блок-сополимера полистирола с политретбутилметакрилатом в условиях критической хроматографии для разных компонентов БС [43]. Данный метод позволяет оценить неоднородность смесей БС в широком диапазоне процентного состава компонентов.

DOI: 10.32757/2619-0923.2023.4.26.38.48

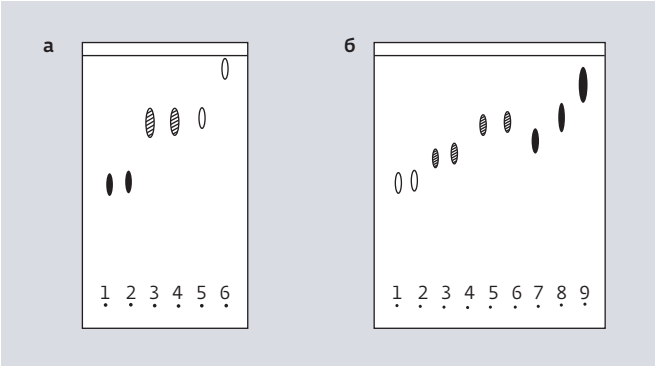

Рис.11. *а – КТСХ PtBMA-PS на силикагеле Si 120, элюент циклогексан-толуол-МЭК (9:1:2,3): 1, 2 – PtBMA с молекулярной массой 20×103 (1) и 200×103 (2), 3 – БС-52, 4 – БС-53, 5 – PS-50, 6 – PS-30; б – КТСХ PtBMA-PS на силикагеле Si 300, элюент циклогексан-толуол-МЭК-пиридин (9:0,4:0,4:4): 1, 2 – PS с молекулярной массой 10×103 (1) и (2) 200×103 (2), 3–6 – БС с различной массой. 7–9 – PtBMA с молекулярной массой 20×103, 80×103, 200×103*

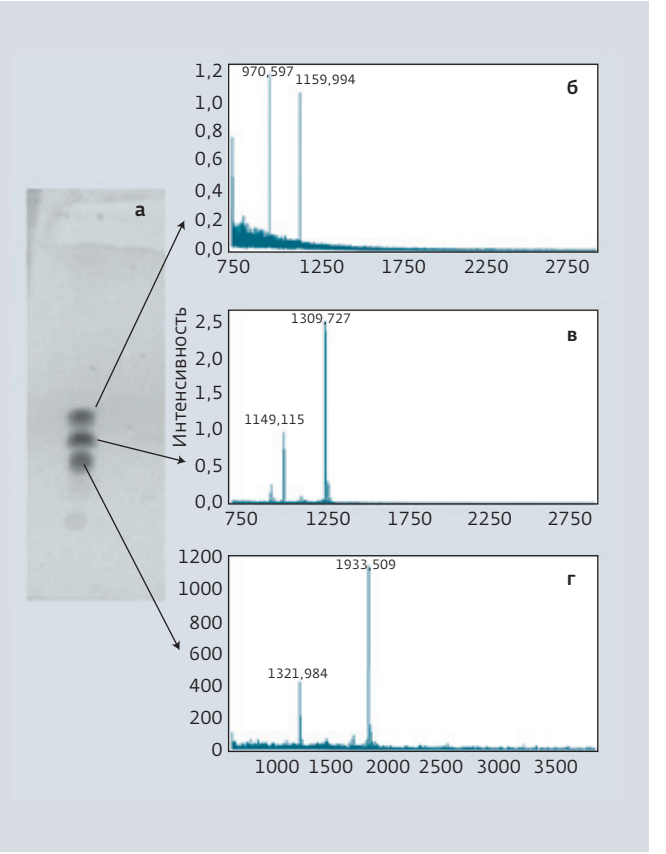

Рис.12. *Разделение с помощью ТСХ смеси пептидов, меченных флуорескамином, на монолитном слое полибутилакрилат-со-этилендиметакрилат толщиной 50 мкм, закрепленном на стеклянной пластине (а), подвижная фаза – 45 об.% ацетонитрил (0,1 об.% TFA). Объем пробы 0,5 мкл. MALDI-TOF MS-спектры флуоресцентно меченного [Sar1, Ile8]-ангиотензина II (б), ангиотензина II (в) и нейротензина (г), полученных "из чашки" с использованием HCCA в качестве матрицы*

Кроме силикагеля в качестве стационарных хроматографических фаз активно применяются макропористые монолитные материалы на основе метакрилатных сополимеров [44]. Эти материалы характеризуются стабильной поровой структурой, которая формируется и регулируется на стадии синтеза. Морфологические свойства макропористых стационарных фаз монолитного типа проектируются таким образом, чтобы уменьшить влияние диффузионных процессов на нормальный межфазовый перенос вещества. Для такой неорганической фазы характерно бимодальное распределение пор по размерам, ее скелет состоит из крупных транспортных макропор диаметром 1–2 мкм и сети мезопор размером несколько нм. Преимущество этой фазы в ПЛХ доказано значительным увеличением адсорбционной емкости, скорости и хроматографической эффективности [45].

Одними из первых работ в этой области были работы Ф.Швеца с соавт. [46]. Слой пористого полимерного монолита, полученный путем фотополимеризации, использовали как для разделения небольших молекул, так и для пептидов и белков в режиме ТСХ с последующей лазерной десорбцией и ионизационным масс-спектрометрическим детектированием (рис.12, 13).

В 2002 г. для ПЛК впервые были разработаны и предложены монолитные кремнеземные материалы в виде тонких слоев [47]. Для получения таких сорбентов использовали обработанные соляной кислотой стеклянные пластины с ячейками заданных размеров и специально синтезированные монолиты на основе метакрилата путем свободнорадикальной УФ-инициированной сополимеризации in situ функциональных мономеров глицидилметакрилата (GMA), бутилметакрилата (BuMA), 2-аминоэтилметакрилата (AEMA), 2-гидроксиэтилметакрилата (HEMA) и 2-цианоэтилметакрилата (CEMA). В качестве сшивающего агента применяли диметакрилат этиленгликоля (EDMA). Полученные материалы применяли в качестве стационарных фаз в планарной хроматографии смесей красителей, полистиролов и аминокислот (рис.14). Попытка реализовать такой анализ классическими методами высокоэффективной тонкослойной (планарной) хроматографии (ВЭТСХ) на кремнеземных сорбентах для ПВП и ПВФА оказалось безуспешной из-за необратимой сорбции указанных полимеров.

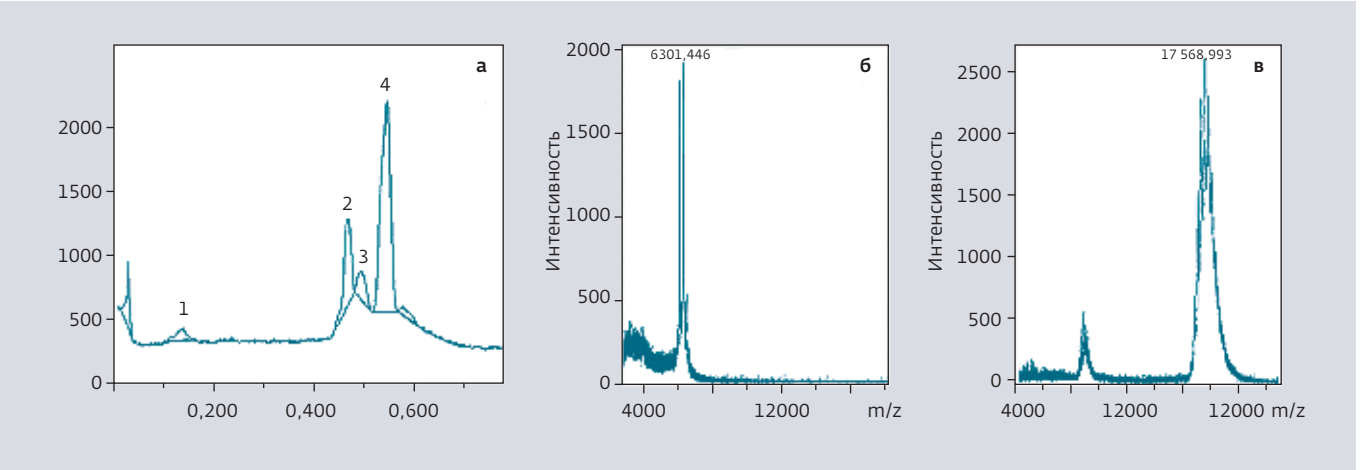

Рис.13. *Разделение смеси белков, меченных флуоресцином (а), с помощью ТСХ. Объем пробы 0,5 мкл. Пики: инсулин (1), цитохром с (2), лизоцим (3) и миоглобин (4). MALDI-TOF MS-спектры флуоресцентно меченного инсулина (б) и миоглобина (в), полученных "из чашки MALDI" с использованием синапиновой кислоты в качестве матрицы*

Анализ биополимеров и их фрагментов

Серия работ сотрудников ИВС РАН (Б.Г.Беленький, Э.С.Ганина, В.В.Нестеров, И.И.Малахова) и ВНИИ генетики (Б.В.Тяглов, В.Г.Дегтярь, Е.В.Дегтерев и др.) посвящена анализу сложных смесей биомолекул методом ТСХ [48–52]. Для качественного обнаружения и идентификации биополимеров (белков, пептидов, аминокислот) используются разные методы обработки ТСХ-пластин. Например, для обнаружения УФ-поглощающих веществ готовят пластины для ТСХ с флуоресцентными индикаторами (например, цинк-силикат, активированный марганцем). Этот индикатор имеет максимум полосы поглощения на 254 нм и максимум полосы испускания на 520 нм (зеленый цвет). Молекулы образца ингибируют поглощение света на пластине с флуоресцентным индикатором и выглядят темными на зеленом фоне чистого индикатора.

Другой наиболее часто используемый метод проявления пятен – воздействие паров йода на хроматографическую пластину. В закрытой камере с пластинкой помещают несколько кристаллов йода. Проявленные таким

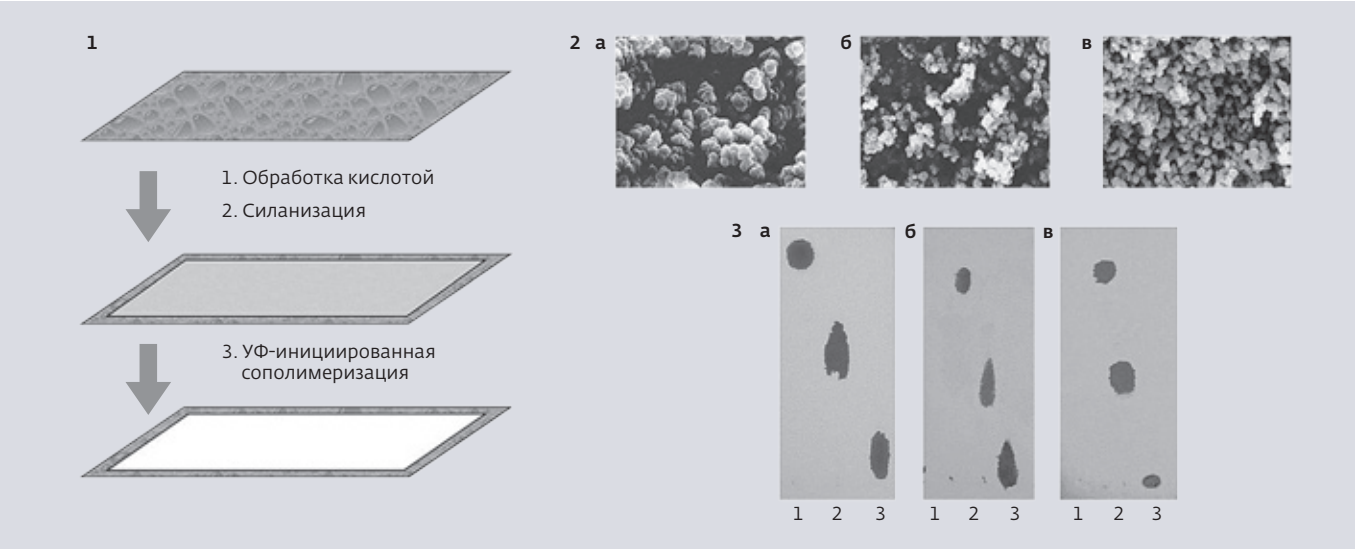

Рис.14. *1. Схема изготовления монолитного слоя. 2. СЭМ-микрофотографии пористой структуры монолитных слоев: а – GMA–EDMA, б – ВиМА–EDMA, в – АЕМА–НЕМА–EDMA. 3. ПЛХ поли-N-винилпирролидонов с Mw 14 400 (1), 94 700 (2) и 1 065 000 (3) на стационарной фазе: GMA–EDMA с элюентами: а – вода-метанол 70:30, б – вода-ацетонитрил 85:15, в – вода-изопропанол 90:10*

Всероссийское масс-спектрометрическое общество

30 октября – 3 ноября 2023 года, Москва

XI съезд ВМСО

X Всероссийская конференция с международным участием
«Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы»

МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ

Институт нефтехимического синтеза им. А.В.Топчиева РАН и Институт физической химии и электрохимии им. А.Н.Фрумкина РАН

НАУЧНЫЕ СЕКЦИИ

- Приборостроение
- Изотопная масс-спектрометрия
- Органическая масс-спектрометрия
- Применение масс-спектрометрии для аналитических целей (экология, допинг-контроль, контроль продукции и процессов и т.д.)
- Неорганическая и элементная масс-спектрометрия
- Масс-спектрометрия в медицине и биологии

ПРОГРАММА

включает пленарные доклады приглашенных лекторов, устные доклады и стендовые сообщения участников, конкурс молодых ученых, а также мероприятия от организаций-участников конференции.

www.vmso.ru

образом пятна имеют темно-коричневый цвет на пластинке с желто-коричневым фоном.

Наиболее часто для разделения биополимеров используется 2D-ТСХ, первые подобные разделения аминокислот были выполнены бумажной хроматографией в 1944 г. [53].

Разделение биополимеров можно проводить и на других носителях, активно используются различные полимерные слои. Например, для разделения смеси флуоресцентно меченных пептидов методом двумерной тонкослойной хроматографии использовали монолитный супергидрофобный полимерный слой с толщиной 50 мкм [54] (рис.15).

В настоящее время метод ТСХ часто использует компьютерные методы, позволяющие идентифицировать соединения и подбирать оптимальные подвижные фазы для разделения [55].

Существенный вклад в разработку и разработку метода тонкослойной гель-хроматографии (ТСГХ) для анализа биополимеров в растительном сырье был внесен Е.А.Гурковской [56, 57]. В монографии "Определение молекулярных масс растительных белков методом гель-хроматографии в тонком слое" (2011) изложены представления о массообмене и факторах, определяющих физико-химические закономерности анализа белков в процессе ТСГХ, выявлены закономерности формирования хроматографических зон в зависимости от диффузионно-сорбционной кинетики процесса и осуществлена их классификация.

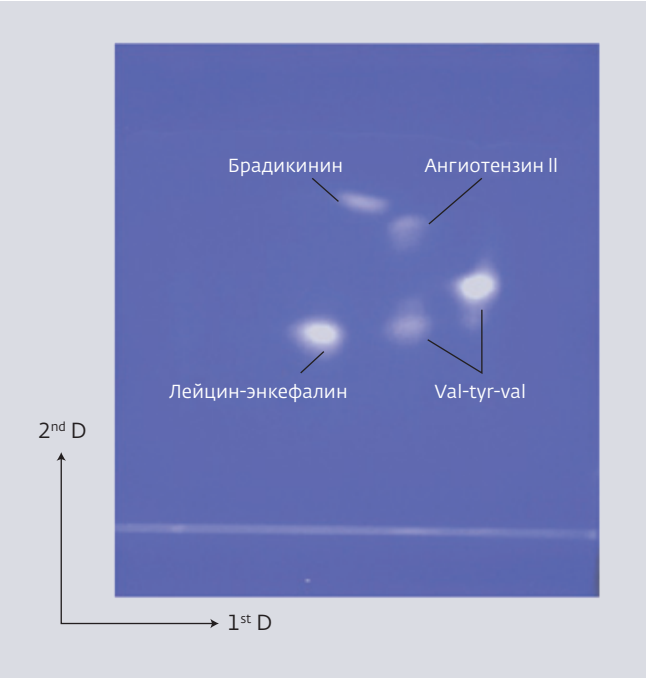

Рис.15. *Двумерное ТСХ-разделение смеси меченых пептидов с УФ-детекцией*

ТСХ в неорганическом анализе

В начале своего развития методы ТСХ успешно применялись в органическом анализе, в то время как для неорганических объектов практически не использовались. Но в настоящее время они широко применяются для анализа разнообразных неорганических материалов, например для определения наличия примесей в изделиях радиоэлектроники, полупроводниковой техники, в малых геологических пробах, радиоактивных образцах [58, 59].

Самым важным применением ТСХ для неорганических объектов считается определение переходных металлов (кобальт, медь, цинк и марганец) – микроэлементов, необходимых для организма человека. Ряд переходных металлов являются коферментами, которые участвуют в образовании витаминов, гормонов и регуляции обмена веществ. Одним из важнейших физико-химических методов анализа переходных металлов является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), а особенно два ее варианта: ионная хроматография (ИХ) [3] и тонкослойная хроматография (ТСХ). В работе [60] проведен планарный анализ катионов Zn(II), Cu(II), Co(II), Ni(II), Fe(III) на модифицированных иминодиуксусной кислотой (ИДУК) кремнеземных пластинках (рис.16). Разделение переходных металлов таким методом существенно зависит от pH элюента и, в отличие от традиционной ионной хроматографии, практически не зависит от ионной силы раствора.

Выполнить качественный анализ переходных металлов классическими методами высокоэффективной тонкослойной (планарной) хроматографии (ВЭТСХ) на кремнеземных сорбентах для полимеров поливинилпирролидона (ПВП) и поливинилформамида (ПВФА) не удается из-за необратимой сорбции компонентов.

Количественная тонкослойная хроматография

Первые попытки количественной оценки хроматограмм, включавшие измерение площадей пятен, были сделаны Фишером, Парсонсом и Холмсом в 1948 г. для бумажной хроматографии [61]. Работа в этом направлении была продолжена для тонкослойной хроматографии [62], и в 1968 г. Парда и Тратэр [63] предложили метод количественного анализа, основанный на использовании эмпирического соотношения между площадью пятна и количеством содержащегося в нем вещества. Следующим этапом развития стали так называемые элюционные методы – определение количественной величины проводилось для извлеченного вещества из тонкого слоя сорбента. Начиная с 1967 г. происходит постепенный переход от элюционных методов к количественному анализу in situ, где количество вещества определяется по светопоглощению, флуоресценции,

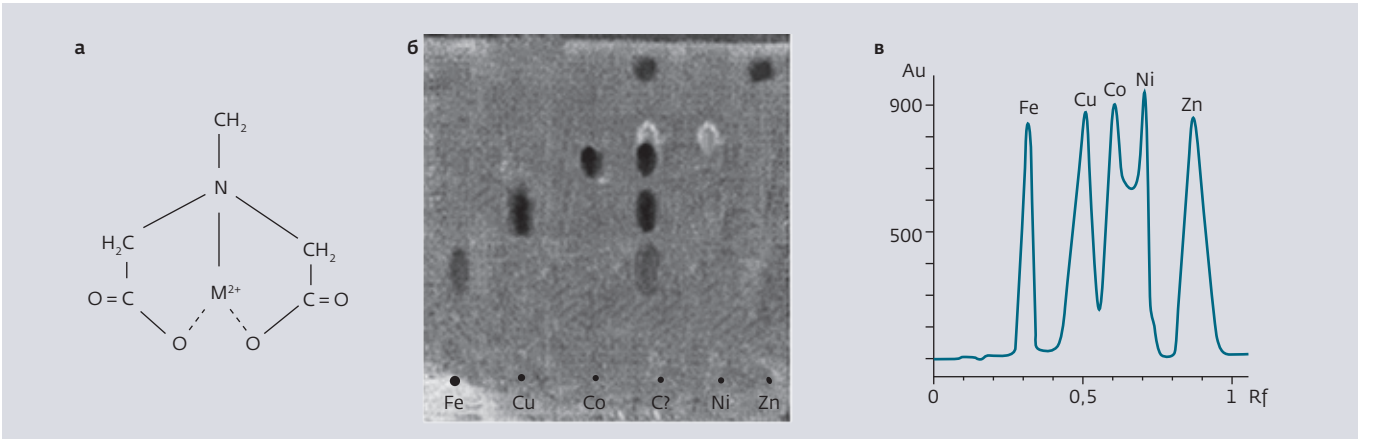

Рис.16. *Взаимодействие привитых групп ИДУК с двухвалентным катионом металла (а). Тонкослойная хроматограмма Fe(III), Cu(II), Co(II), Ni(II), Zn(II) и разделение смеси этих катионов (б). Денситограмма разделения смеси Fe(III), Cu(II), Co(II), Ni(II), Zn(II). ТСХ пластина: ПТСХ-П-А-ИДУК; элюент: 0,2М HCl+0,2М $NaNO_3$ (9:1); детектирование: 0.1% р-ра дитизона в CCl_4; pH=0,7 (в).*

радиоактивности и т.д., при сканировании соответствующих пятен на хроматограмме. Исторически первым и наименее точным методом регистрации является денситометрия, которая измеряет интенсивность окраски вещества непосредственно на хроматограмме. Теория денситометрического сканировании тонкослойных хроматограмм была рассмотрена в работе Боултона и Поллака и в работах Б.Г.Беленького, В.В.Нестерова [64–70]. Однако этот метод является эмпирическим, а конструкции выпускаемых приборов не обеспечивают необходимой точности проведения измерений.

Количественная ТСХ с использованием флуориметрии

Явление флуоресценции уже давно использовалось в тонкослойной хроматографии для качественной идентификации пятен разделяемых компонентов, а также количественного анализа после разделения. Первая работа, в которой были изучены возможности флуоресценции для количественной ТСХ in situ вышла в 1963 г. [71]. Точность количественного определения 1-диметиламино-5-сульфонафтильных (ДПС) производных аминокислот была невысока, калибровочные кривые значительно отклонялись от линейной зависимости даже при небольших концентрациях вещества. Предполагалось, что это связано с испарением растворителя во время хроматографирования – точность такого анализа повышалась при тщательном контроле насыщения адсорбента парами растворителя.

В 1970 г. [72] предложен метод флуориметрического сканирования тонкослойной хроматограммы для анализа цитрусовых масел. С хорошей точностью в маслах лимона, лайма и бергамота было выполнено количественное определение двух производных кумарина, 5-гераноксил-7-метоксикумарина и 5,7-диметоксикумарина. Это является точной и быстрой процедурой контроля качества масел на содержание кумаринов.

Радиометрическая количественная ТСХ

Для количественного определения радиоактивных веществ существует два основных метода – авторадиография и сканирование хроматограммы.

Авторадиография – метод изучения распределения радиоактивных веществ в исследуемом объекте наложением на объект чувствительной к радиоактивным излучениям фотоэмульсии. Традиционная авторадиография использует пленочные эмульсии, наиболее распространенной является пленка из галогенида серебра. Пленку, чувствительную к рентгеновскому излучению, накладывают на высушенную хроматограмму и выдерживают определенное время. После проявления пленки анализируемые компоненты идентифицируются. Определение количества проводится далее путем сканирования этого негатива с помощью микрофотометра. Недостатком метода является большое время экспозиции, которое варьируется от нескольких часов до нескольких недель, в зависимости от уровня радиоактивности [73].

Второй метод количественного анализа связан со сканированием тонкослойных хроматограмм при одновременной регистрации интенсивности ионизирующего излучения. Сканирование производится щелью в одном направлении. Исследуемое количестве вещества подсчитывается путем измерения площади под соответствующей кривой изменения интенсивности радиации [74]. Этот метод быстр в использовании и дает наилучшие

количественные результаты, особенно при анализе малых количеств вещества. В работе [75] детально исследовано влияние различных параметров на точность количественного анализа при радиометрическом сканировании.

В настоящее время ведутся активные работы по автоматизации этих методов, одним из успешных примеров является так называемая IP-авторадиография [76]. Этот новый аппаратный метод количественного анализа радиоактивности отличается коротким временем экспонирования, отсутствием пробоподготовки и химической постобработки, быстрым сканированием пластин и автоматической оцифровкой изображений (рис.17). Эти преимущества делают IP-авторадиографию идеальной для рутинного скрининга ядерных материалов, а также для выявления областей, представляющих интерес для последующего исследования.

Из всех перечисленных выше методов количественной хроматографии наиболее предпочтительными являются прямые методы – флуориметрический и радиометрический, у которых при увеличении количества вещества увеличивается интенсивность излучения, что позволяет регулировать чувствительность анализа внутри пределов измерения. Адсорбент в прямых методах является "темным" фоном, что исключает многие источники ошибок, присущие фотометрии.

При сравнении элюционных методов с методами in situ видно, что при анализе значительных количеств вещества (больше 10 мкг) обе группы методов дают одинаковые результаты, но в случае элюционных методов это достигается с большей затратой времени. При анализе же микрограммовых и нанограммовых количеств вещества более предпочтительными являются методы in situ.

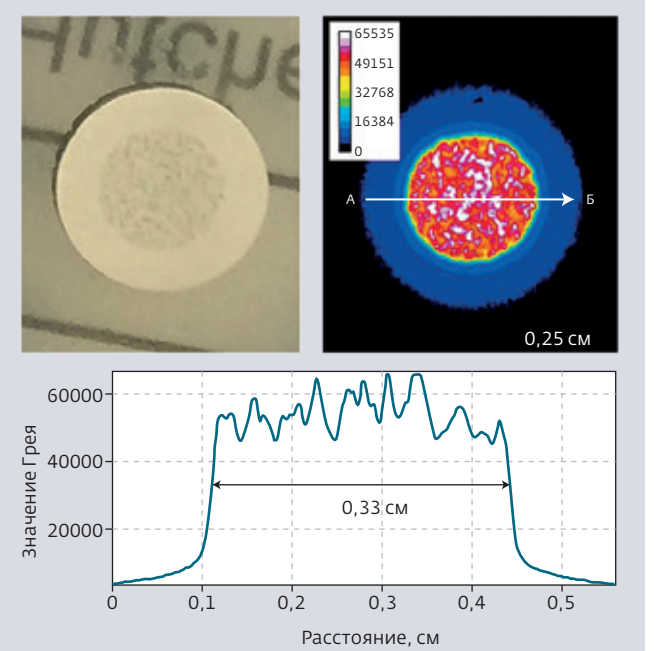

Рис.17. *Оптическое изображение (вверху слева) и авторадиограмма (вверху справа) поперечного сечения топливного стержня из высокообогащенного урана в алюминиевой оболочке. Авторадиограмма получена при втором сканировании SR IP при напряжении 510 В после 48-часового воздействия на образец. Неоднородное распределение активности в топливной матрице можно наблюдать в виде вариаций интенсивности изображения на авторадиографе, где каждый пиксель соответствует 25 мкм. Позднее сканирующая электронная микроскопия показала, что топливо состояло из стружки сплава U-Al, случайно распределенной в матрице оксида алюминия. На нижнем графике показан профиль интенсивности необработанного изображения (значение Грея) по авторадиографу от точки А до точки В с крутым изменением интенсивности на границах между оболочкой и топливной матрицей*

Биоавтография на пластинах ТСХ

Биоавтографию на ТСХ-пластинах широко используют при проведении первичного скрининга большого количества образцов на биологическую активность и в целевом выделении активных соединений (фракционирование с ориентацией на биологическую активность) [77]. Этот метод анализа требует минимальных количеств вещества (несколько мкг) и подходит для исследования растительных компонентов, которые часто встречаются в виде сложных смесей. ТСХ-биоавтография позволяет в режиме реального времени разделить сложную смесь и в то же время локализовать активные компоненты на пластине ТСХ. В отличие от ВЭЖХ одновременно можно обрабатывать несколько образцов. ТСХ имеет еще одно преимущество перед ВЭЖХ в том, что органическая подвижная фаза, которая вызывает инактивацию некоторых ферментов или живых организмов, испаряется и не препятствует их обнаружению. За последние 40 лет было проделано много работ по скринингу растительных экстрактов на противогрибковую и антибактериальную активность с помощью биоавтографии ТСХ. Для исследования антимикробной активности описаны несколько биоавтографических методов [78–80], самым простым из которых является прямая ТСХ-биоавтография: после миграции образцов питательная среда инокулируется микроорганизмом и затем распыляется на пластину для ТСХ (рис.18). После инкубации видны белые пятна ингибирования, это позволяет сделать выводы о наличии антибактериальных свойств у исследуемых образцов [81].

2022–31 десятилетие науки и технологий

РОССИЙСКАЯ НЕДЕЛЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
RUSSIAN HEALTH CARE WEEK

Ежегодно входит в план научно-практических мероприятий Министерства здравоохранения РФ

РОССИЯ, МОСКВА, ЦВК «ЭКСПОЦЕНТР»

Здравоохранение
«Медицинская техника, изделия медицинского назначения и расходные материалы»

Здоровый образ жизни
«Средства реабилитации и профилактики, эстетическая медицина, фармацевтика и товары для здорового образа жизни»

4–8 декабря 2023

MedTravelExpo
Санатории. Курорты. Медицинские центры

«Медицинские и оздоровительные услуги, технологии оздоровления и лечения в России и за рубежом»

4–7 декабря 2023

WWW.ZDRAVO-EXPO.RU

Организаторы:
Государственная Дума ФС РФ
Министерство здравоохранения РФ
АО «ЭКСПОЦЕНТР»

При поддержке:
Совета Федерации ФС РФ
Министерства промышленности и торговли РФ
Министерства экономического развития РФ

Под патронатом ТПП РФ

12+

ЭКСПОЦЕНТР

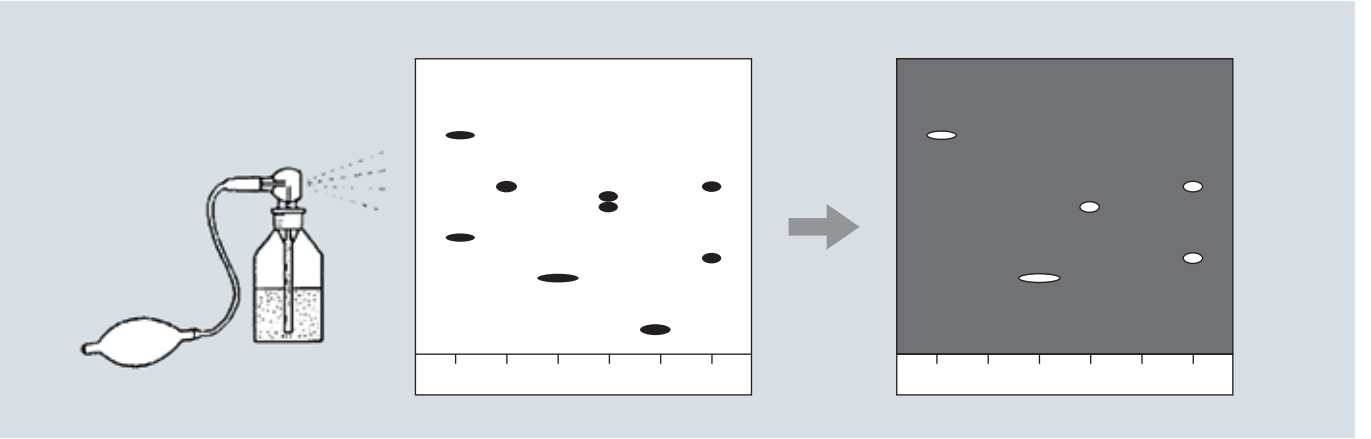

Рис.18. *Прямая ТСХ-биоавтография для выявления противогрибковой активности в отношении фитопатогенного гриба Cladosporium cucumerinum*

С помощью ТСХ-биоавтографии проведен скрининг антибактериальных свойств большого числа изофлавоноидов, сесквитерпеноидов, новых синтезированных в лабораториях соединений и даже оценивались антирадикальные свойства. Стабильный 2,2-дифенил-1-пикрилгидразильный радикал (DPPH) имеет максимум поглощения при 517 нм, который уменьшается при восстановлении за счет реакции с поглотителем радикалов. Соответствующее изменение цвета можно наблюдать во время проведения эксперимента. Пластинка для ТСХ с образцами проявлялась элюирующим растворителем и высушивалась. Затем ее обрабатывали раствором 0,2% (DPPH) в метаноле. Спустя 30 минут при дневном свете активные (поглощающие свободные радикалы) соединения проявлялись в виде желто-белых пятен на фиолетовом фоне.

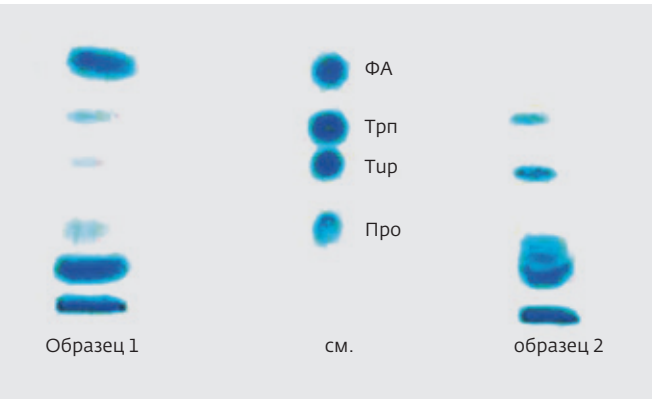

Рис.19. *Тонкослойная хроматография плазмы крови здорового человека и больного фенилкетонурией. Образец 1 – плазма крови человека, больного фенилкетонурией. Образец 2 – плазма крови здорового человека. См. – смесь стандартных аминокислот: ФА – фенилаланин, Трп –триптофан, Тир – тирозин, Про – пролин*

ТСХ-анализ аминокислот в биологических жидкостях используется для диагностики наследственных дефектов обмена у детей, например плазмы крови при диагностике фенилкетонургии, тирозиноза, гиперпролинемии I и II (рис.19) [82, 83].

* * * *

Чтобы рассказать обо всех научных и практических достижениях в области тонкослойной хроматографии за весь период ее становления с момента открытия, понадобится не одна статья. ТСХ является важнейшим методом анализа в различных областях экологического мониторинга (контроль содержания пестицидов в почве, воде и пищевых продуктах, органических и неорганических веществ в сточных водах химической промышленности), определении содержания наркотических и токсических веществ в биологических средах (наркологическая служба), криминалистической и таможенной экспертизе наркотиков, контроле качества пищевого сырья, лекарственных веществ и антибиотиков, анализе метаболитов в биологических средах человека, в том числе для диагностики врожденных метаболических заболеваний у детей.

Без этого простого и эффективного микрометода разделения и концентрирования веществ не обходятся практически ни в одной научно-исследовательской или промышленной лаборатории. Метод ТСХ позволяет оперировать с нано- и микрограммовыми количествами веществ (и соответствующими объемами растворов), обеспечивая в оптимальных условиях абсолютный предел обнаружения на уровне 10^{-8}–10^{-7} г, т.е. на уровне таких физических методов, как атомная

адсорбция, масс-спектрометрия, рентгеновская флуоресценция и другие, выгодно отличаясь от последних простотой, экспрессностью, чувствительностью и экономичностью.

Совместные разработки российских и зарубежных ученых – развитие теоретических основ метода, разработка приборной базы не только для пробоподготовки и нанесения проб на пластины, но и в области количественного анализа, позволили интенсифицировать развитие тонкослойной хроматографии и ее практическое применение в мировой практике.

Основными тенденциями в развитии ТСХ, наблюдаемыми в последние годы, являются инструментализация, разработка новых сорбентов, переход на количественный анализ, теоретическое обоснование путей повышения эффективности метода, а также его дальнейшее расширение и повсеместное внедрение в новых технологиях и анализе веществ различных классов.

ЛИТЕРАТУРА

40. **Hahn-Deinstrop E.** Applied Thin-Layer Chromatography: Best Practice and Avoidance of Mistakes // Wiley, Weinheim, 2007/ 314 c.
41. **Belenkii B.G.**, **Gankina E.S.** Thin-layer chromatography of polymers introductory lecture // Journal of Chromatography A. 1970. T. 53. N 1. C. 3–25. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)86699-6.
42. **Беленький Б.Г.**, **Ганкина Э.С.**, **Тенников М.Б.**, **Виленчик Л.З.** Хроматографическое исследование основных закономерностей адсорбции макромолекул на пористых адсорбентах // ДАН СССР. 1976. Т. 281. № 5. С. 1147–1149.
43. **Belenkii B.G.**, **Gankina E.S.**, **Zgonnik V.N.**, **Malakhova I.I.**, **Melenevskaya E.U.** Critical thin-layer chromatography as a novel method for the determination of the molecular weight and compositional inhomogeneity of block copolymers // Journal of Chromatography. 1992. V. 609. P. 355–362.
44. **Svec F., Peters E.C., Sykora D., Frechet J.M.J.** Design of the monolithic polymers used in capillary electrochromatography columns // J. of Chromatogr. A. 2000. V. 887. P. 3–29.
45. **Hauck H.E.**, **Schulz M.** Ultra thin-layer chromatography // Chromatographia. 2003. V. 57. P. 313–315.
46. **Bakry R.**, **Gunther K.**, **Dieudonne Mair D.**, **Svec F.** Monolithic porous polymer layer for the separation of peptides and proteins using thin-layer chromatography coupled with MALDI-TOF-MS // Anal. Chem. 2007. V. 79. P. 486–493.
47. **Maksimova E.F., Vlakh E.G., Tennikova T.B.** Methacrylate-based monolithic layers for planar chromatography of polymers // Journal of Chromatography A. 2011. V. 1218. P. 2425–2431.
48. **Беленький Б.Г.**, **Ганкина Э.С.**, **Аниськова М.А.**, **Аникина Т.Б.**, **Красовский А.Н.** Ультрамикрометод определения молекулярного веса одноцепочечных белков и пептидных

цепей субъединиц белка с помощью тонкослойной гельхроматографии // Биоорг. Химия. 1975. № 1 (3). С.396–401.

49. **Gankina E.S.**, **Malakhova I.I.**, **Kostiuk I.O.**, **Belenkii B.G.** One-dimensional HPTLC of DNA- and PTH-amino acids // J. Planar. Chromatogr. 1988. V. 1. P. 364–366.
50. **Malakhova I.I.**, **Tyaglov B.V.**, **Degterev E.V.**, **Krasikov V.D.**, **Degtiar W.G.** Quantitative thin-layer chromatography of industrial amino acids // J. Planar. Chromatogr. 1996. V. 9. P. 375–378.
51. **Малахова И.И.**, **Красиков В.Д.**, **Дегтерев Е.В.**, **Тяглов Б.В.** Способ разделения и детектирования аминокислот. Патент РФ 2095808, 1997.
52. **Тяглов Б.В.**, **Дегтерев Е.В.**, **Малахова И.И.**, **Красиков В.Д.**, **Помазанов В.В.** Способ разделения аминокислот в биологических жидкостях. Патент РФ 2078342, 1997.
53. **Consden R.**, **Gordon A.H.**, **Martin A.J.P.** Qualitative analysis of proteins: a partition chromatographic method using paper // J. Biochem. 1944. V. 38. P. 224–232.
54. **Gankina E.S.**, **Malakhova I.I.**, **Kostiuk I.O.**, **Belenkii B.G.** // JPC. 1988, december. V. 1. P. 364–366.
55. **Han Y.**, **Levkin P.**, **Abarientos I.**, **Liu H.**, **Svec F.**, **Fréchet J.M.J.** Monolithic superhydrophobic polymer layer with photopatterned virtual channel for the separation of peptides using two-dimensional thin layer chromatography-desorption electrospray ionization mass spectrometry // Anal. Chem. 2010. V.82. P. 2520–2528.
56. **Gonnord M.F.**, **Levi F.**, **Guiochon G.** Computer assistance in the selection of the optimum combination of systems for twodimensional chromatography // J. Chromatogr. 1983. V. 264. P. 1–6.
57. **Гурковская Е.А.** Определение молекулярных масс растительных белков методом гель-хроматографии в тонком слое. М.: Хлебпродинформ, 2011. 194 с.
58. **Гурковская Е.А.**, **Грузинов Е.В.**, **Петренко А.А.** Колебательные процессы и конформация белковых молекул в тонкослойной гель-хроматографии. М.: Хлебпродинформ, 2012, 204 с.
59. **De Viries, Schultz G.P.**, **Van Dalen E.** Dyeing Reagents for Thin-Layer and Paper Chromatography // J. Chromatogr. 1964. V. 13. P. 119.
60. **Srivastava S.P., Bhushan R., Chauhan R.S.** Use of Ligands for Improved Separation of Metal Ions on Thin Silica Layers // Journal of Liquid Chromatography. 1985. V. 8. N 3. P. 571–574.
61. **Красиков В.Д.**, **Малахова И.И.**, **Горшков Н.И.**, **Беляев А.Н.**, **Староверов С.М.** Планарная комплексообразующая хроматография ионов переходных металлов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2017. Т. 17. № 4. С. 682–688.
62. **Fisher R.B.**, **Parsons D.S.**, **Morrison G.A.** Quantitative paper chromatography // Nature. 1948. V. 161. P. 764.
63. **Cassidy H.G.** Int Technique of Organic Chemistry. N.Y.: Interact. Publ., 1957.
64. **Purdy J.**, **Truter E.V.** Quantitative analysis by thin-film chromatography // Analyst. 1962. V. 87. P. 802.
65. **Macek K.**, **Haim I.M.**, **Kopek J.**, **Gaspari J.** Paper chromatographic data for inorganic substances // J. Chrom. Supplementary. 1968. P. 62. Фотоденситометр для ТСХ. Авт. свид. № 224138, 1968.
66. **Alan A.** Boulton, Victor Pollak. Optical noise in photometric scanning of thin media chromatograms: I. General theory and its application to single-beam transmission measurements // Journal of Chromatography A. 1969. V. 45. P. 189.
67. **Seller N.**, **Werner G.** Direkte quantitative Bestimmung von fluoreszierenden Substanzen auf Dünnschichtchromatogrammen // Naturwiss. 1963. V. 50. P. 643.
68. **Madsen C.B.**, **Latz H.W.** Qualitative and quantitative in situ fluorimetry of citrus oil thin-layer chromatograms // Chrom. 1970. № 3. P. 288–303.
69. **Solon E.G.** Autoradiography techniques and quantification of drug distribution // Cell. Tissue Res. 2015. V. 360. P. 87–107.
70. **Raveahill J.R.**, **Janes A.T.** A simple sensitive radioactive scanner for thin-layer chromatograms // J. Chrom. 1967. V. 26. P. 89.
71. **Brauaeberg H.**, **Osborn S.B.** Some General Aspects of Fluorimetric Determinations // Anal. Chim. Acta. 1952. P. 84–95.
72. **Parsons-Davis T.**, **Knight K.**, **Fitzgerald M.** Application of modern autoradiography to nuclear forensic analysis // Forensic Science International. 2018. V. 286. P. 223–232.
73. **Marston A.**, **Hostettmann K.** Bioassay methods in natural product research and drug development // L. Bohlin, J.G. Bruhn (Eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 1999. 202 c.
74. **Rios J.L.**, **Recio M.C.**, **Villar A.** Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature // J. Ethnopharmacol. 1988. V. 23. P. 127–149.
75. **Botz L.**, **Kocsis B.**, **Nagy S.** Encyclopedia of Analytical Science. 2nd. ed. Elsevier, Amsterdam, 2005. P. 271.
76. **Sherma J.** Planar Chromatography // Anal. Chem. 2008. V. 80. P. 4253–4267.
77. **Betina V.** Bioautography in paper and thin-layer chromatography and its scope in the antibiotic field // J. Chromatogr. 1973. V. 78. P. 41–51.
78. **Blois M.S.** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical // Nature. 1958. V. 181. P. 1199–1200.
79. **Takao T.**, **Kitatani F.**, **Watanabe N.**, **Yagi A.**, **Sakata K.** A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish // Biosci. Biotechnol. Biochem. 1994. V. 58. P. 1780–1783.
80. **Снегоцкая М.Н.**, **Пенкина М.В.** Современные подходы к диагностике и лечению фенилкетонурии // Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова. 2013. № 9. С. 30–34.
81. **Takao T., Kitatani F., Watanabe N., Yagi A., Sakata K.** Biosci. Biotechnol // Biochem. 1994. V. 58. P. 1780.
82. Анализ аминокислот в тонкослойной хроматографии. URL: http://lenchrom.ru/news.php?item=5
83. **Малахова И.И.** Количественная высокоэффективная тонкослойная хроматография аминокислот: Дис. ... канд. хим. наук. 2003. С. 86–101.

30.10–02.11.2023

www.chemistry-expo.ru

26-я международная выставка химической промышленности и науки

ХИМИЯ
KHIMIA

- Инновации и современные материалы
- Нефтегазохимия
- Startup ChemZone
- Автоматизация и цифровизация производства

- Химмаш. Насосы
- Хим-Лаб-Аналит
- Зеленая химия
- Индустрия пластмасс
- Защита от коррозии «КОРРУС»

При поддержке:
- Министерства промышленности и торговли РФ
- Российского Союза химиков
- ОАО «НИИТЭХИМ»
- Российского химического общества им. Д.И. Менделеева
- Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова
- РХТУ им. Д.И. Менделеева

Под патронатом ТПП РФ

МИНПРОМТОРГ РОССИИ

Expo Rating

12+ Реклама

Россия, Москва, ЦВК «ЭКСПОЦЕНТР»

Организатор

ЭКСПОЦЕНТР