

УДК 543.544.45;543.825

ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ В ФУНКЦИОНАЛЬНОМ АНАЛИЗЕ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

**В. Г. Березкин, В. С. Татаринский, М. В. Пальянова
и М. М. Федячкин**

Рассмотрены роль и тенденции развития хроматографических методов функционального анализа органических соединений. Основное внимание обращено на аналитические возможности использования химических превращений исследуемых соединений совместно с газо-хроматографическим разделением (химико-хроматографические методы).

Библиография — 192 наименования.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	2088
II. Закономерности величин удерживания	2089
III. Обращенная газовая хроматография	2091
IV. Селективные детекторы	2093
V. Химико-хроматографические методы	2093

I. ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в методах функционального анализа, в первую очередь летучих органических соединений, произошли большие изменения, связанные с внедрением газо-хроматографических методов. Применение комбинированных методов с использованием газовой хроматографии открыло ряд новых возможностей. К ним относятся: 1) повышение разрешающей способности методов функционального анализа, превращение их из методов групповой идентификации в методы индивидуальной идентификации соединений, что дало возможность успешно решать задачи, которые практически не могли быть решены ранее известными методами^{1, 2}; 2) повышение надежности метода, в частности, уменьшение ошибок, связанных со стадией промежуточного выделения чистого вещества; 3) сокращение продолжительности анализа; 4) уменьшение количества вещества, необходимого для проведения функционального анализа.

Применение газовой хроматографии полезно и справедливо также и в сочетании с любыми традиционными методами функционального анализа. Так, например, использование физических (спектральных и электроаналитических) методов, применяемых на выходе из хроматографической колонки для анализа элюата, позволяет перейти от групповой к индивидуальной идентификации; использование химических методов в сочетании с хроматографическими дает возможность значительно увеличить круг используемых реакций, продуктами которых уже могут быть не только окрашенные или газообразные вещества, а вообще любые летучие соединения, что, естественно, расширяет возможности метода. В сочетании с химическими методами функционального анализа газо-хроматографические методы можно использовать также и как кинетические методы, так как реакционная способность изомеров часто различна.

II. ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВЕЛИЧИН УДЕРЖИВАНИЯ

Величина удерживания соединения является его хроматографической постоянной, она прямо пропорциональна величине константы распределения соединения между газовой и неподвижной фазами (определение этой константы с учетом адсорбционных взаимодействий рассмотрено, например, в исследовании³). Величина удерживания зависит от строения молекулы соединения, в частности, от типа и числа функциональных групп, входящих в его молекулу. Для расчета величин удерживания различными авторами успешно использовались аддитивные схемы⁴⁻⁸. Необходимо указать на принципиальную возможность определения наличия некоторых функциональных групп на основе аддитивности индексов удерживания⁹; однако такие определения возможны только при условии предварительного установления углеродного скелета анализируемого соединения и не отличаются большой надежностью¹⁰. Отметим, что в целях повышения точности в этих случаях обычно используют не абсолютные, а относительные характеристики удерживания (относительное время удерживания, индекс удерживания и т. д.).

Закономерности в величинах удерживания могут быть применены для проведения функционального анализа. Так, например, широко известна для гомологических рядов линейная зависимость логарифма величины удерживания от числа метильных групп в молекуле^{11, 12}. Это позволяет относительно просто решить одну из сложных задач функционального анализа — определение числа углеродных атомов в углеводородном радикале. Решение этой задачи другими способами является значительно более трудоемким. В исследованиях Сахарова и сотр.^{13, 14} была показана целесообразность использования для характеристики зависимости величин удерживания дробно-линейных функций.

При определении принадлежности компонентов анализируемой смеси к тому или иному классу органических соединений существенную помощь может оказать использование зависимости удерживаемых объемов на двух^{15, 16} или большем^{17, 18} числе неподвижных жидких фаз различной полярности: $\lg V_{i1} = A \cdot \lg V_{i2} + B$, где V_{i1} , V_{i2} — объемы удерживания i -го соединения определенного гомологического ряда на первой и второй фазах; A и B — постоянные.

Для характеристики органических соединений различного типа предложено использовать графические зависимости разности логарифмических функций относительных величин удерживания, например зависимости типа $\Delta I_{12} = f(\Delta I_{34})$, где ΔI_{12} и ΔI_{34} — разности индексов удерживания данного соединения на фазах 1, 2 и фазах 3 и 4, соответственно. Точки, соответствующие соединениям данного класса, располагаются на указанных графиках в определенных характеристических областях, что целесообразно использовать для функциональной групповой идентификации органических соединений¹⁹.

Довольно трудоемкий, но относительно надежный способ идентификации, основанный на использовании зависимости времени удерживания от обратной абсолютной температуры на одной хроматографической колонке, предложен в работе Аракеляна и сотр.²⁰

Все указанные выше методы успешно используются в аналитической практике и детально описаны в монографиях по хроматографии²¹⁻²⁴.

III. ОБРАЩЕННАЯ ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Обращенная газовая хроматография (ОГХ) основана на использовании непосредственного взаимодействия стандартных соединений с исследуемым веществом, установлении определенной связи между величинами

ми хроматографических характеристик стандартных соединений и строением соединений, используемых в качестве неподвижной фазы. Особенно целесообразно использовать ОГХ для исследования нелетучих (высокомолекулярных и неустойчивых при повышенных температурах) соединений.

Метод ОГХ позволяет проводить групповую идентификацию соединений, используемых в качестве неподвижной фазы. Если привести относительные времена удерживания веществ различной полярности (метанол, гептан, толуол) в треугольной системе координат при использовании в качестве неподвижной жидкой фазы нормальных парафинов, алифатических спиртов и кислот, то каждый из рассмотренных гомологических рядов характеризуется четко выраженной областью значений времен удерживания стандартных соединений. Отметим, что с помощью этого метода удается различить и некоторые изомерные соединения. Так, спектры стандартных летучих соединений различны для 1,3-бутиленгликоля и 1,4-бутиленгликоля, а также для первичного и вторичного октиловых спиртов. Приведенные данные свидетельствуют о достаточно высокой чувствительности метода ОГХ к природе и структуре соединений. Аналогичные результаты могут быть получены и для полимерных систем.

Накопленный в газовой хроматографии большой фактический материал по применению полимеров в качестве неподвижных жидких фаз для разделения смесей летучих соединений позволяет заключить, что полимеры также можно идентифицировать методом ОГХ. Так, удерживаемый объем фосфина на колонке с силиконовым маслом 702 равен $1,75 \text{ см}^3$, с силиконовым маслом ВКЖ-94 В — $1,58 \text{ см}^3$, с силиконовым маслом ПФМС-4 — $2,52 \text{ см}^3$ ²⁵. Или другой пример. Два полимерных соединения одного типа — полипропиленгликоль с $M=1760$ и полиэтиленгликоль с $M=1540$ — характеризуются резко различными величинами удерживания²⁶, что позволяет использовать для их идентификации метод ОГХ.

Наиболее подробно метод ОГХ был разработан для характеристики (идентификации) асфальтенов ($M=500-1000$)²⁷.

Дорренс и Петерсон²⁸ показали целесообразность применения в ОГХ химических реакций с исследуемой неподвижной жидкой фазой. Для изучения функциональных групп в асфальтенах исследуемый образец асфальтена в колонке подвергали реакции силилирования, в результате которой активные атомы водорода в гидроксильных и карбоксильных группах замещались на триметилсилильный радикал. Обработка асфальтена *N,N*-бис-(триметилсилил)ацетамидом при 160° приводила к резкому уменьшению удельных коэффициентов взаимодействия с выбранными летучими стандартами (фенолом и пропионовой кислотой). Этот метод может быть использован для характеристики различных полимерных соединений с функциональными группами.

Отметим, что если при использовании насадочной колонки для применения метода ОГХ необходимо $\sim 0,4 \text{ г}$ исследуемого соединения, то это количество уменьшается до $3-4 \text{ мг}$ при применении капиллярной колонки²⁷. Применение микроварианта ОГХ особенно важно для трудносинтезируемых полимеров и вообще труднодоступных соединений.

В связи с тем, что задача идентификации полимеров в ряде случаев сводится к определению их молекулярных весов, укажем на возможность использования зависимости величин удерживания стандартных летучих соединений от молекулярного веса неподвижной жидкой фазы²⁹.

IV. СЕЛЕКТИВНЫЕ ДЕТЕКТОРЫ

Одно из общих требований к детектирующим системам для газовой хроматографии, а именно — универсальность, т. е. равная чувствительность ко всем компонентам смеси, выходящей из хроматографической колонки, является недостатком при решении задачи идентификации органических соединений. В области функционального анализа основное требование к детектору заключается в его селективности, и идеальной системой можно было бы считать такую, которая обладает специфичной чувствительностью только к соединениям определенных классов и сигнал которой пропорционален содержанию соответствующей функциональной группы.

Наиболее близко этому требованию отвечают автоматический титратор¹¹ и спектрофлуориметрический детектор³⁰. Первый предназначен для селективного определения в элюате кислот и оснований и базируется, как следует из его названия, на автоматическом поддержании в ячейке для титрования определенного значения pH. Действие спектрофлуориметрического детектора, предназначенного для обнаружения ароматических групп, основано на использовании характерного для ароматических соединений явления флуоресценции³⁰ или поглощения света³¹ в УФ-области спектра.

Несомненно, представляет интерес детектор³², обладающий селективной чувствительностью к соединениям, имеющим кратные связи. Принцип детектирования заключается в пропускании анализируемой смеси насыщенных и ненасыщенных соединений через ионизационную камеру совместно с криптоном, который под воздействием радиоактивного излучения возбуждается до метастабильного состояния.

Метастабильные атомы криптона обладают способностью ионизировать молекулы непредельных соединений, и в присутствии последних возникает ионизационный ток.

Электронно-захватный детектор, впервые предложенный Ловелоком и Липским³³, обладает повышенной чувствительностью к галоидалкилам, сульфидам, карбонилам с сопряженными двойными связями, металлоорганическим соединениям, нитрилам и нитросоединениям. Чувствительность детектора ко многим типам соединений уменьшает его значение для целей идентификации, хотя и делает незаменимым при определении некоторых соединений, присутствующих в нанограммовых количествах.

Значительно большей специфичностью обладают другие селективные детекторы, которые можно разделить на три основные группы. Термоионные детекторы, основанные на явлении увеличения проводимости пламени пламенно-ионизационного детектора при сгорании в присутствии солей щелочных или щелочноземельных металлов органических соединений, содержащих гетероатомы, в первых работах использовались в основном для селективного обнаружения галогид- и фосфорсодержащих соединений^{34, 35}. При использовании солей рубидия и калия³⁶ увеличивается чувствительность к азотсодержащим соединениям, однако наибольшая чувствительность достигается при использовании бромистого цезия³⁷. При применении цезия термоионный детектор может быть использован для высокочувствительного определения соединений кремния, олова и свинца³⁸. Показано также³⁹, что сигнал термоионного детектора с сульфатом рубидия пропорционален содержанию гетероатомов в молекулах анализируемых веществ и предложена формула, позволяющая вычислять количественное содержание гетероатомов (галогенов, серы, фосфора и азота).

Существенную помощь в идентификации органических соединений может оказать кулонометрический детектор⁴⁰, который обладает селективной чувствительностью к соединениям, содержащим галогены, серу, азот и фосфор. В работах Степаненко и Кричмар⁴¹⁻⁴⁴ конструкция детектора получила дальнейшее развитие. Получившие в последнее время широкое распространение в аналитической химии ион-селективные электроды нашли применение и в кулонометрических детекторах для определения фтора⁴⁵, серы и хлора⁴⁶. Из других электрохимических детектирующих систем необходимо упомянуть селективный гальванический детектор⁴⁷, который чувствителен к спиртам, ароматическим и непредельным углеводородам.

Особенно бурно в последние годы развивается группа спектральных детекторов, большим достоинством которых, помимо достаточной чувствительности определения гетероатомов, является наиболее высокая селективность. Простейший представитель этой группы — детектор галогенов, основанный на эффекте Бейльштейна, т. е. на зеленом световом излучении, возникающем при прохождении галогенсодержащих соединений в пламя через медную сетку⁴⁸. Пламенно-фотометрический детектор, предложенный первоначально для селективного определения фосфора и серы⁴⁹, модифицирован для определения многих других элементов. Действие детектора основано на измерении интенсивности характерных линий световой эмиссии пламени в присутствии гетероатомов с помощью фотоумножителя. Для определения серосодержащих соединений обычно используют светофильтр 394 мкм, для определения фосфора — 526 мкм, однако имеется также указание на то, что положение этих максимумов определено неточно⁵⁰. При сенсбилизации пламенно-фотометрического детектора солями индия селективно увеличивается его чувствительность к атомам галогенов с максимумом в области 360 мкм^{51, 52} или при 409,9 мкм, где расположен максимум эмиссионного спектра иодистого индия⁵³. Фотометрическая регистрация излучения пламени щелочного термоионного детектора позволяет отличить атомы хлора, брома и йода⁵⁴, а использование металлического кальция обеспечивает селективное определение фтора в области спектра 529,9 мкм⁵⁵. Возможен также анализ ртутьорганических соединений^{56, 57} и бора⁵⁸. Недостаток пламенно-фотометрического детектора, заключающийся во взаимном влиянии присутствующих гетероатомов (а также их концентрации) на наблюдаемую эмиссию, предложено⁵⁹ устранить путем измерения отношений спектральных линий определяемых элементов (хлор — 256 мкм, иод — 206,2 мкм, фосфор — 253,3 мкм, сера — 182,04 мкм, бром — 292 мкм) к спектральной линии атома углерода 247,9 мкм, которая практически не зависит от структуры соединения и присутствующих в нем элементов⁶⁰.

Для целей идентификации используются многие другие детекторы (особенно успешно применение масс-спектрометрического), подробный обзор селективных детекторов ранее опубликован⁶¹.

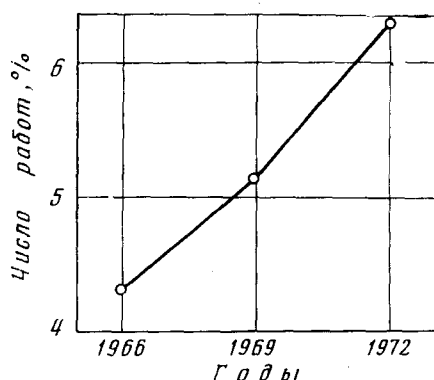
Необходимо отметить, что практически все специфичные детекторы (за исключением упомянутых в начале раздела) имеют к функциональному анализу лишь косвенное отношение, поскольку они не могут дать однозначный ответ, в состав какой функциональной группы входит тот или иной гетероатом. Поэтому их применение более эффективно в элементном анализе органических соединений, особенно при необходимости определения веществ, находящихся в микроколичествах. Однако помощь разработанных к настоящему времени детектирующих систем в деле идентификации неизвестных соединений несомненна. По-видимому, может представлять некоторый интерес предварительное введение в со-

став изучаемого вещества определенного гетероэлемента с использованием характеристичных для данной функциональной группы реакций (например, введение брома по месту двойной связи) с последующим использованием селективного по отношению к введенному элементу детектора. В случае обнаружения гетероатома в составе идентифицируемого соединения можно с большой определенностью предположить наличие ожидаемой функциональной группы.

V. ХИМИКО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Сочетание химических и газо-хроматографических методов представляется нам наиболее эффективным и гибким методом функционального анализа. Постоянно растет вклад химико-хроматографических методов в общее число работ по газовой хроматографии. Из рис. 1 видно, что

Рис. 1. Число работ по химико-хроматографическим методам анализа относительно общего числа публикаций по газовой хроматографии



удельный вес указанных методов возрос в 1972 г. по сравнению с 1966 г. почти в 1,5 раза (для построения графика использованы данные библиографической секции *J. of Chromatogr.*).

Для проведения химических превращений используются различные методы: проведение реакций вне хроматографической системы, проведение реакций до колонки, в колонке и после хроматографической колонки. Выбор реакций и условий их проведения определяются решаемой задачей.

Реакционное воздействие на аналитическую смесь перед процессом хроматографирования, сопровождающееся селективным удалением компонентов, позволяет путем сравнения хроматограмм, полученных с использованием обработки пробы избранными реагентами и без нее, установить принадлежность удаленных соединений к определенным классам. Этот метод принято называть методом вычитания.

Вычитание проводится в небольшой колонке (реакционной петле), наполненной выбранным химическим реагентом, обычно нанесенным на инертный носитель подобно стационарной жидкой фазе. При этом в ряде случаев можно использовать и летучие реагенты, если их нанести на носитель, обладающий сильно выраженными адсорбционными свойствами^{62, 63}.

Если анализируемую пробу ввести одновременно в две параллельные колонки, подключенные к ячейкам детектора, собранным по дифференциальной схеме (причем реакционная петля используется последовательно только с одной из колонок), то на хроматограмме будут фиксироваться только удаляемые компоненты⁶⁴. Недостаток этой системы, за-

ключающийся в необходимости абсолютно точного воспроизведения всех рабочих параметров обеих хроматографических колонок, может быть устранен, если реакционную петлю включить между двумя ячейками детектора⁶⁵ и использовать одну колонку. Основное требование к реакционной системе в этом случае заключается в ее малом объеме, который должен быть сравним с шириной пика.

Вовсе не обязательно, чтобы удаляемые соединения полностью задерживались в реакторе в виде нелетучих соединений. Даже если в результате превращений образуются летучие продукты, они будут иметь время выхода, отличающееся от соответствующих величин исходных соединений, что легко может быть установлено при дальнейшем хроматографировании. Более того, неполное поглощение в реакционной колонке может быть использовано для получения дополнительной информации о структуре анализируемых соединений. Так, неполное удаление *цис*-диенов в реакторе с малеиновым хлорангидридом позволяет отличить их от *транс*-изомеров, которые реагируют быстрее и полностью удаляются в реакторе⁶⁶, а применение реактора с борной кислотой обеспечивает отделение первичных и вторичных спиртов от их третичных изомеров⁶⁷⁻⁶⁸.

Наполнение реакционных петель для селективного удаления разнообразных классов соединений подробно описано в литературе^{69, 70}.

Для избирательного поглощения спиртов предложено использовать трициклогексилборат⁷¹, для той же цели можно применять⁷²⁻⁷⁴ гидриды металлов, при этом отмечено⁷³, что алюмогидрид и борогидрид лития удаляют все соединения с кислородсодержащими функциональными группами, кроме простых эфиров. Полное удаление из анализируемой смеси альдегидов достигается при использовании *о*-дианизидина⁷⁴, борогидрида натрия⁷³ или солянокислого гидроксиламина⁷². Различие в реакционной способности борной кислоты по отношению к спиртам использовано для отделения третичных спиртов от первичных и вторичных^{73, 74}, а применение борогидрида натрия, медленно реагирующего с кетонами, позволяет отличить последние от альдегидов⁷³. В работе Проккопенко и сотр.⁷⁵ показано, что селективность удаления различных кислородсодержащих веществ в реакторах с борной кислотой и алюмогидридом лития зависит от количества реагента. Так, третичные спирты могут быть полностью удалены в реакторе с повышенным содержанием борной кислоты.

Представляет также интерес способ предварительного поглощения спиртов и карбонильных соединений в реакторе, заполненном 40% 3-нитрофталевого ангидрида и семикарбазида на целите-545, расположенном непосредственно перед разделительной хроматографической колонкой⁷⁶.

Образование аддуктов с мочевиной является характеристичной реакцией для удаления *n*-алканов^{77, 78} и метиловых эфиров жирных кислот⁷⁹. В работе Охтаки и сотр.⁸⁰ показано, что все углеводороды нормального строения могут быть удалены при реакции с мочевиной. При последующей обработке (гидроборировании и окислении) олефины могут быть выделены в форме соответствующих спиртов и определены газохроматографически. По-видимому, суммарное содержание олефинов в исходной смеси может быть установлено и путем определения количества борогидрида, вошедшего в реакцию.

Для селективного удерживания ароматических углеводов используются колонки с *N,N*-бис(2-цианозтил)формамидом⁸¹, перхлоратом ртути⁸² и окисью алюминия⁸³. Перхлорат ртути является также хорошим поглотителем и для ненасыщенных соединений^{82, 83}.

Групповое выделение ртутьорганических соединений предложено осуществлять либо включением в хроматографическую систему короткого реактора с порошком металла, либо путем их удаления при взаимодействии с различными серусодержащими соединениями⁸⁴.

Предложен оригинальный метод суммарного определения примеси органических нелетучих веществ⁸⁵.

В ряде случаев может быть полезно использование реакционной колонки с фосфорной кислотой, которая позволяет селективно удалять из сложных смесей органические азотистые основания⁸⁶.

Описаны примеры определения спиртов, кетонов, альдегидов, эфиров кислот и ароматических углеводородов при проведении реакций в шприце⁸⁷.

Проведение качественных химических реакций после хроматографического разделения — менее распространенный способ идентификации компонентов сложных смесей. Одной из причин этого является низкая чувствительность цветных реакций, требующая введения значительных количеств анализируемого вещества, не менее 20—100 мкг⁸⁸. Можно выделить два наиболее интересных приема осуществления быстрых качественных тестов. Первый заключается в делении элюата, выходящего из хроматографической колонки, на несколько примерно равных потоков, которые направляются в пробирки с групповыми реактивами на определенный класс соединений⁸⁸. Изменение окраски в одной из пробирок в момент выхода пика свидетельствует о принадлежности вещества к соответствующему классу. Второй метод предусматривает использование слоя сорбента, пропитанного реагентом, на определенные функциональные группы и непрерывно перемещающегося относительно выхода элюата из колонки⁸⁹. Если в выходящем элюате содержится соединение соответствующего класса, то на слое сорбента появляется окрашенное пятно. Меняя пропитку сорбента и сравнивая результаты химического исследования с хроматограммой разделения, можно легко установить класс соединения, соответствующий каждому пику. Преимуществами первого метода являются возможность исследования каждого пика одновременно на несколько функциональных групп, а также определение природы компонентов, находящихся в микроконцентрациях, недостаточных для появления заметной окраски, путем последовательного введения нескольких проб (при условии устойчивости окраски раствора в течение достаточно длительного времени). Существенно повысить чувствительность метода, основанного на делении потока элюата, можно с помощью концентрирования веществ в коротких стеклянных пористых ловушках, наполненных окисью алюминия⁹⁰. При скорости потока через ловушку порядка 5 мл/мин большинство изученных соединений (альдегиды, кетоны, спирты, эфиры, ароматические и серусодержащие вещества) улавливается слоем насадки длиной 2—3 мм в виде концентрированной зоны, что позволяет снизить предел детектирования до уровня 0,1—1 мкг.

Специфические реагенты, применяемые для проведения качественных реакций после хроматографического разделения, обсуждены в работах^{69, 70}.

Все описанные выше методы группового анализа применимы только в случае смесей летучих соединений, которые могут быть подвергнуты газо-хроматографическому разделению. Для разделения и определения групповой принадлежности компонентов смесей нелетучих или высококипящих веществ применяются свои особые приемы, многие из которых осуществляются и в нехроматографических реакторах. Так, в газовой хроматографии нелетучих соединений, а также сильно полярных веществ, разделение которых затруднено, разработан и применяется ряд

приемов (этерификация, декарбоксилирование, силилирование и т. д.). В частности, для газо-хроматографического анализа гидроксилсодержащих соединений применяются ацетилирование⁹¹, силилирование^{91, 92} и метилирование⁹³, карбоновые кислоты переводят в более летучие метиловые эфиры или подвергают декарбоксилированию и т. д. Не вдаваясь в подробности этих приемов (проведение подобных реакций для многих классов соединений описано в литературе⁹⁴), укажем, что сами эти химические превращения можно рассматривать как один из методов групповой идентификации. В самом деле, используемые реактивы обычно обладают весьма селективным воздействием, и если при обработке твердой смеси, например иодной кислотой с последующим хроматографированием, среди продуктов реакции будут идентифицированы альдегиды или кетоны^{95, 96}, то можно с большой степенью уверенности сделать вывод о присутствии в исходной смеси α -гидроксикарбоновых кислот.

Необходимо указать еще на одну возможность указанных приемов, а именно на получение дополнительной информации о качественном составе анализируемой смеси по побочным газообразным продуктам, которые в настоящее время не принимаются во внимание. Так, при переводе фенолов в метиловые эфиры по реакции с диазометаном⁹⁷ выделяется азот, при силилировании нелетучих гидроксилсодержащих соединений⁹⁸ побочным продуктом является аммиак, а в упомянутой реакции разложения α -гидроксикарбоновых кислот действием иодной кислоты до соответствующих кетонов или альдегидов^{95, 96} (которые тоже не всегда являются удобным объектом для хроматографирования) образуется эквивалентное количество углекислого газа и т. д.

Широкие возможности для идентификации неизвестных соединений предоставляют пиролитические методы. При пиролитическом разложении анализируемого вещества в продуктах пиролиза, как правило, возникают соединения, которые позволяют качественно и количественно судить о наличии в образце определенных функциональных групп.

При термическом разложении органических соединений в присутствии паров серы при 850—880° образуются продукты, которые позволяют получить информацию для идентификации многих функциональных групп⁹⁹. Так были исследованы продукты, образующиеся при пиролизе альдегидов, кетонов, простых и сложных эфиров, спиртов, сульфокислот, аминосоединений и кислот. Состав и соотношение летучих продуктов пиролиза (азот, сероводород, окись и двуокись углерода, сероуглерод, двуокись серы) в значительной мере определяются как строением исходных соединений, так и присутствующими в молекулах функциональными группами.

При пиролизе веществ в атмосфере инертного газа образующиеся продукты (водород, окись и двуокись углерода, метан, вода и др.) и их соотношение также характеризуют функциональные группы в исходном образце^{100–102}. Так, кетоны и альдегиды образуют CO, спирты — CO₂ и H₂O, сложные эфиры — CO₂, H₂O и CO, кислоты — CO₂, меркаптаны — сероводород, галоидсодержащие соединения — соответствующие галоидводороды, при разложении аминов выделяется аммиак¹⁰¹. Однако, поскольку в опубликованных работах не определена количественная сторона образования характеристичных продуктов, методы, основанные на пиролитическом разложении, применимы в настоящее время в основном только для качественного анализа.

Гидразин и его производные при термическом разложении в присутствии катализатора (окиси меди) выделяют метан; это позволило создать методику их количественного хроматографического определения¹⁰³.

Изучена возможность использования в функциональном анализе воздействия электронного удара и электрического разряда^{104, 105}. Показано, что при разложении анализируемого образца в электрическом разряде можно установить принадлежность этого вещества к определенному гомологическому ряду¹⁰⁴. Изучение продуктов, образующихся при разрушении в электрическом разряде спиртов, алифатических и ароматических углеводов, простых и сложных эфиров, кетонов и альдегидов, позволило установить, что метан образуется из всех исследованных соединений, ацетилен — из соединений с этильной группой. В продуктах разложения всех ароматических соединений присутствует бензол, а кислородсодержащих — окись и двуокись углерода.

Примеры использования методов термического расщепления для анализа некоторых других групп будут рассмотрены ниже.

Необходимо особо выделить методы количественного определения содержания функциональных групп. В принципе любой классический газометрический метод анализа может быть приведен к хроматографическому окончанию, однако было бы глубоко ошибочным полагать, что речь идет только о замене одного метода другим, пусть и более современным, более автоматизированным (хотя и эти преимущества являются существенными, особенно при выполнении серийных определений). Химико-хроматографические методы создают качественно новые возможности. К ним относятся: одновременное качественное (по времени удерживания) и количественное (по величине сигнала) определение целевого продукта реакции в сложной реакционной смеси; возможность одновременного определения нескольких продуктов реакции со сходными химическими свойствами, которые в химических методах определяются только суммарно; отделение целевого продукта реакции от побочных, что часто является потенциальным источником ошибок в классических методах; принципиальная возможность использования обратимых реакций, так как один из продуктов постоянно удаляется из реакционной системы газом-носителем; высокая чувствительность определения; позволяющая производить полный анализ микрообразцов; экспрессность и, наконец, возможность полной автоматизации всего процесса анализа.

В настоящее время для количественного анализа функциональных групп в органических соединениях описано применение химических реакций (или целенаправленного термического разложения), приводящих к получению реакционных растворов двух типов. Если продуктами произведенных превращений являются соединения, по своим физико-химическим свойствам близкие к остальным ингредиентам реакционной смеси, то хроматографическому анализу подвергают аликвотную часть последней. Этот путь связан с уменьшением чувствительности определения (анализируется только часть), с возможностью потерь целевого продукта и, следовательно, уменьшения точности анализа, а также с дополнительными затруднениями при автоматизации процесса анализа. Более выгодно, хотя и не всегда возможно, использование таких превращений, которые приводят к образованию либо газообразного, либо легколетучего продукта, специфично характеризующего определяемую функциональную группу. Конечный продукт (или продукты) в этом случае направляются на хроматографический анализ или непосредственно из реактора, или после промежуточного концентрирования.

Ниже рассматривается использование химико-хроматографических методов для количественного определения конкретных функциональных групп.

1. Определение активного водорода

Количественное определение активного водорода основывается на известных реакциях анализируемых соединений с реактивом Гриньяра или с алюмогидридом лития. В первом случае в результате реакции выделяется метан, определение которого газо-хроматографическим методом достаточно простая задача. Необходимо отметить, что все ошибки классического метода¹⁰⁶, связанные с дополнительным газовыделением (например, этана, появляющегося в результате разложения реактива Гриньяра) легко устраняются при применении хроматографического окончания^{107–110}.

Значительный интерес представляет использование алюмогидрида лития^{111–114}, который уже при комнатной температуре реагирует с активными атомами водорода в течение нескольких секунд. В качестве растворителей могут быть использованы диметиловый, диэтиловый, *n*-пропиловый и *n*-бутиловый эфиры, тетрагидрофуран (ТГФ), диоксан, этилморфолин¹¹⁵, что значительно расширяет область применения метода по сравнению с классическим химическим определением. Особенно хорошим растворителем для многих органических соединений является ТГФ^{111, 116}.

Методика определения активного водорода в основном одинакова во всех упомянутых работах. В реакционную ячейку заливают раствор алюмогидрида лития в подходящем растворителе, помещают навеску анализируемого вещества вне контакта с раствором (например, образец можно поместить в чашечку на пробке реактора¹¹⁴), продувают реакционную ячейку газом-носителем, отключают ее от хроматографической системы и сбрасывают навеску в раствор. После завершения реакции вновь подключают ячейку к хроматографу и определяют выделившийся водород в колонке с активированным углем или молекулярными ситами. Для проведения реакции с алюмогидридом описана ячейка, выполненная в виде стандартной приставки к хроматографу¹¹⁷, которая, на наш взгляд, является наиболее удобной для проведения анализа жидких веществ.

Отметим, однако, что высокая реакционная способность алюмогидрида лития в ряде случаев может быть и его недостатком, поскольку некоторые соединения, не содержащие активного водорода, в результате восстановления реактивом превращаются в соединения с активным атомом водорода.

Уместно упомянуть метод определения активного водорода, связанного с атомом кремния, основанный на гидролизе кремнийорганического соединения в присутствии едкого калия за 15 сек., сопровождающемся выделением эквивалентного количества водорода, который определяют газо-хроматографически¹¹⁸.

2. Определение аминогрупп

В настоящее время предложены различные модификации газо-хроматографического метода определения первичных аминогрупп в органических соединениях^{119–123}, в основе которых лежит широко известная реакция дезаминирования, впервые использованная для количественного определения аминов Ван-Слайком¹²⁴. Выделяющийся в результате реакции азот может быть легко отделен от сопутствующих газов в колонке с молекулярными ситами 5 Å. Для целей серийного анализа более всего подходят реакционные системы^{122, 123}, в которых предусмотрено перемеши-

вание раствора при проведении реакции дезаминирования, применен реактор барботирующего типа (что гарантирует от ошибок, связанных с растворимостью азота в реакционной смеси), а также предусмотрено полное поглощение окислов азота, вызывающих коррозию металлических частей хроматографа. Время анализа обычно не превышает 15 мин., ошибка не более $\pm 0,3-0,4\%$, чувствительность определения достигает $0,07$ мг аминного азота.

Представляет интерес модификация метода ¹²⁵, в которой вместо обычно используемого раствора нитрита предложено применять твердый нитрит натрия, нанесенный на целит С-22, кроме того в реакционный раствор вводят внутренний стандарт (ТГФ), что позволяет отказаться от проведения ежедневной калибровки прибора.

Для определения аминокруппы предложено применять реакцию с акрилонитрилом ¹²⁶; избыток последнего, не вошедший в реакцию, определяют газо-хроматографически на колонке с полиэтиленгликолем-300 при 100° . Близкий метод, также основанный на определении непрореагировавшего избытка реагента, предложен для анализа труднолетучих первичных аминов по реакции с бензальдегидом ¹²⁷.

По всем показателям метод определения аминокрупп с газо-хроматографическим окончанием превосходит классический метод Ван-Слайка. Существенное преимущество первого состоит также и в том, что он полностью исключает ошибки, связанные с присутствием в газовой смеси окислов азота и других газообразных веществ ¹²⁸⁻¹³⁰, не поглощаемых щелочным раствором перманганата калия и являющихся потенциальной причиной получения завышенных результатов.

3. Определение алкоксильных групп

Определение алкоксильных групп в виде соответствующих алкилиодидов, образующихся при кипячении анализируемого соединения в иодистоводородной кислоте по реакции Цейзеля ¹³¹, лежит в основе почти всех газо-хроматографических методов. Классический химический анализ алкоксисодержащих соединений является одним из самых продолжительных и трудоемких методов в функциональном анализе, при этом удается определить только суммарное содержание алкоксильных групп. Легкость газо-хроматографического разделения и количественного определения алкилиодидов (так, описано, например, разделение 24 алкилиодидов состава C_1-C_{10} ¹³²) с самого начала предопределили перспективность использования хроматографии для анализа, что нашло свое отражение и в количестве публикаций по этому вопросу ¹³³⁻¹⁴⁷. В ранних работах обычно использовали промежуточное концентрирование алкилиодидов в охлаждаемых ловушках с жидким растворителем (*n*-гептаном), и уже в 1961 г. таким методом было определено содержание алкоксигрупп состава C_1-C_4 ¹³⁷. Для концентрирования были использованы также силикагель ^{139, 141}, кизельгур ¹⁴⁰ и апиезон *L* на силикагеле ¹⁴³ с применением высокотемпературной десорбции при $150-170^\circ$. В работе Эренбергера ¹⁴⁰ были определены уже пять алкоксигрупп C_1-C_4 при их совместном присутствии. Для повышения точности анализа газо-хроматографическое разделение было использовано совместно с весовым ¹³⁹ и иодометрическим ¹⁴⁰ определением количества алкилиодидов, точность определения при этом достигала $\pm 0,05$ абс.%. Общее время анализа определяется продолжительностью проведения реакции с иодистоводородной кислотой и составляет от одного до трех часов.

В 1968 г. Чумаченко и сотр. показали ¹⁴⁸, что при взаимодействии органических веществ с иодистоводородной кислотой в герметично за-

крытой пробирке при 130° количественное отщепление алкилиодидов происходит за 5—10 мин., что позволило разработать методики быстрого определения метокси-¹⁴⁵ и этоксигрупп¹⁴⁶ в органических соединениях. Принципиальная схема установки приведена на рис. 2. Навеску вещества (1—2 мг) помещали в пробирку ($10 \times 0,8$ см), прибавляли 0,3 мл иодистоводородной кислоты (или смесь 50 мг иодистого калия и 0,05 мл о-фосфорной кислоты), закрывали пробирку и выдерживали при 130° в течение 10—15 мин. при определении этоксигрупп, или 5—12 мин. в случае метоксигрупп. Затем переключали поток азота на продувку реактора, и отщепившиеся иодистые алкилы потоком газа-носителя подавались на разделение в колонку с полисорбом-1. Для поглощения влаги и паров хлористым кальцием. Вся установка выполнена из стекла и тефлона. Общая продолжительность анализа 15—20 мин. или 25—30 мин. при

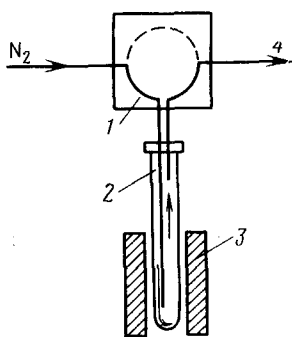


Рис. 2. Установка для определения алкоксильных групп¹⁴⁸. 1 — мембранный переключатель, 2 — реактор, 3 — обогреватель, 4 — выход к хроматографической колонке.

определении соответственно метокси- и этоксигрупп, точность не хуже $\pm 0,2$ абс.%. Определение относительно легколетучих метил- и этилиодидов оказалось возможным при их непосредственной подаче газом-носителем из реактора в хроматографическую колонку, однако при переходе к анализу алкоксигрупп состава C_3-C_5 , по-видимому, использование промежуточного концентрирования станет необходимой операцией.

Заслуживает внимания способ определения алкоксильных групп в трудногидролизуемых сложных эфирах карбоновых кислот, основанный на их щелочном плавлении при $240-360^{\circ}$ в присутствии алкоголята натрия¹⁴⁹. Выделяющиеся при этом спирты улавливают в охлаждаемой ловушке и затем анализируют газохроматографически. На рис. 3 приведена хроматограмма разделения спиртов, образовавшихся при анализе смеси полихлоракрилатов.

Расчет показал, что реакция проходит с количественным выделением спиртов из соответствующих сложных эфиров. Метод щелочного плавления был использован и для определения алкоксильных групп в полисилоксанах¹⁵⁰.

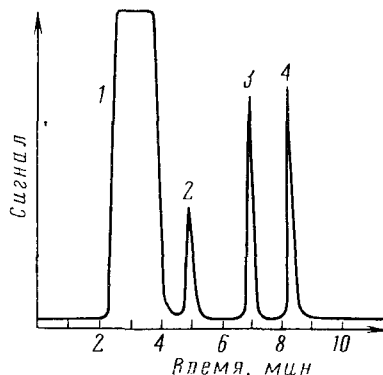
Описан метод определения этоксигрупп окислением образца с помощью хромового ангидрида с последующим анализом аликвоты реакционного раствора на содержание уксусной кислоты¹⁵¹.

Из других способов следует отметить определение гидроксипропановых групп в виде ацетанилида, количественно образующегося из исходного образца при пиролизе, проведенном при 400° в течение 10 мин.¹⁵², а также определение алкоксигрупп методом гидрирования¹⁴¹. Последний метод особенно привлекателен, поскольку отщепление алкоксильных групп происходит в проточном реакторе, что позволяет существенно сократить время определения, и образующиеся при гидрировании предельные углеводороды являются весьма удобным объектом как для разделения, так и для детектирования. Анализируемые вещества поступают в трубку для гидрирования, содержащую 2,0—2,5 мл катализатора (5% платины на кизельгуре или 1,5% платины на пористом стекле) и нагретую до 325° . При гидрировании алкоксигруппы отщепляются в виде углеводородов, которые поступают либо в колонку длиной 5 см с активирован-

ным углем при 20° (анализ C_1-C_2), либо в колонку с силикагелем длиной 50 см (определение C_3-C_5).

Необходимо отметить, что, несмотря на недостаточную воспроизводимость, газо-хроматографические методы определения алкоксигрупп до-

Рис. 3. Хроматограмма продуктов щелочного плавления полиметил-, полиэтил- и полиизопропил- α -хлоракрилатов ¹⁴⁹: 1 — вода, 2 — метанол, 3 — этанол, 4 — *i*-пропанол.



статочно широко используются в настоящее время и, по-видимому, в ближайшем будущем могут полностью вытеснить классические химические методы анализа.

4. Определение S-, N- и Si-алкильных групп

Расщепление связей C—N, C—S и C—Si является во много раз более сложной задачей, чем разрушение связи C—O. Поэтому для определения соответствующих алкилов применяются гораздо более жесткие условия, чем описано выше. Вместе с тем различная реакционная способность алкилов, связанных с атомами S, N и Si может быть использована с целью их раздельного определения. Так, был предложен метод

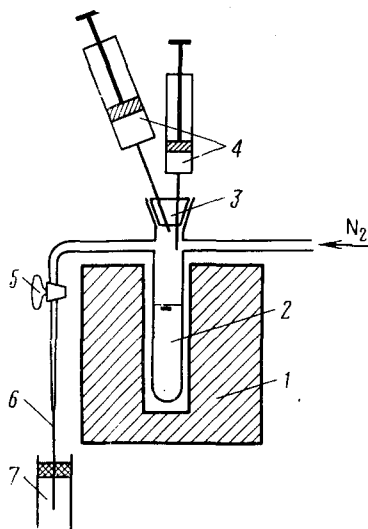


Рис. 4. Схема микрореактора ¹⁵⁴: 1 — нагреваемый блок, 2 — стеклянный реактор, 3 — резиновая пробка, 4 — шприцы, 5 — запорный кран, 6 — игла для ввода в колонку, 7 — верхняя часть хроматографической колонки.

количественного определения алкоксильных и N-алкильных групп при их совместном присутствии ¹⁵³. На первом этапе осуществляют отщепление и определение алкоксильных групп в условиях, аналогичных описанным выше, после чего реактор нагревают до 300° (20 мин.), а затем до 350° (10 мин.). В этих условиях происходит разрушение связей N—C,

и образовавшиеся алкилиодиды определяются газо-хроматографически с использованием промежуточного низкотемпературного концентрирования.

Разрушение связей C—Si в органических сульфидах может быть осуществлено действием суспензии никеля Рения в этиловом, *n*-бутиловом или циклогексиловом спиртах¹⁵⁴. Реакцию проводят в простом микрореакторе (рис. 4), выполненном в виде пробирки с двумя шприцами для введения реагентов и отбора газообразных продуктов реакции. Из алкильных групп образуются соответствующие углеводороды, которые разделяют и идентифицируют в газовом хроматографе, соединенном с реакционной ячейкой.

Аналогичная реакционная система была применена и для определения алкильных групп, связанных с атомом кремния^{155, 156}. В этом случае использовали реакцию с концентрированной серной кислотой в присутствии ванадиевого катализатора. Нагревание анализируемого кремнийорганического соединения при 175° в течение 15—20 мин. в указанной среде приводит к отщеплению алкильных групп, связанных с кремнием, в форме соответствующих углеводородов (метан из метильных, бензол из фенильных групп и т. д.), газо-хроматографическое разделение и идентификация которых не представляет труда. Количественное определение этильной и фенильной групп возможно также путем их термического отщепления от атома кремния с образованием этана и бензола¹⁵⁷. Реакцию проводят в присутствии пятиоксида фосфора и воды при повышении температуры от 20 до 500—580° (в зависимости от определяемой группы).

Описан также метод определения алкильных групп в ароматических соединениях путем их каталитического отщепления в потоке водорода с образованием насыщенных углеводородов^{158—159}.

Недавно было показано¹⁵⁸, что идентификацию алкоксигрупп в кремнийорганических соединениях можно произвести при определении продуктов реакции анализируемых веществ с трехбромистым бором. Алкоксильные группы при этом отщепляются в форме спиртов (которые затем превращаются в неидентифицированные соединения).

5. Определение ацильных групп

Практически все разработанные к настоящему времени методы основаны на перэтерификации исходного образца серной кислотой, смесью метанола с хлористоводородной или *p*-толуолсульфокислотой, смесью *p*-толуолсульфокислоты и ее метилового эфира^{160—165}. Уже в первой описанной газо-хроматографической методике¹⁶⁰ было проведено одно-временное качественное и количественное определение формил- и ацетилгрупп из одной пробы. В реактор вносили навеску вещества, *p*-толуолсульфокислоту и метанол и проводили реакцию при 70—80° в течение 30 мин. Затем продукты реакции собирали в охлаждаемой ловушке и анализировали аликвоту собранного дистиллята. Метилформиат и метилацетат отделяли друг от друга и от метанола в колонке с карбоваксом-1500.

Позже^{164, 165} было описано газо-хроматографическое определение ацильных групп уже вплоть до ацилов масляной и изо-масляной кислот. Перэтерификацию проводили в смеси *p*-толуолсульфокислоты и ее метилового эфира в течение 20 мин. при 225—230° и хроматографировали выделившиеся вещества на составных колонках с полиэтиленгликоль-адипинатом и эмульгатором Т-1 путем продувания реактора потоком газа-носителя. При таком методе анализа точность, воспроизводимость

и чувствительность, естественно, выше, чем при анализе только части раствора. Отмечено ¹⁶⁴, что выход метилацетата при реакции перэтерификации составляет 90%, поэтому при вычислении необходимо вводить соответствующий поправочный коэффициент.

Для идентификации ацетильной группы можно также использовать щелочной гидролиз ¹⁶² с последующим газо-хроматографическим определением уксусной кислоты.

6. Определение гидроксильных, карбоксильных и карбонильных групп

Количественный анализ содержания гидроксильных групп может быть осуществлен на основании определения активного водорода ¹⁶⁶. Выделяющийся при взаимодействии гидроксилсодержащего полимера с реактивом Гриньяра метан определяют применением колонки с молекулярными ситами 5 Å, включенной последовательно с колонкой, наполненной 10% N-метилпирролидона на окиси алюминия, в которой осуществляется отделение метана от растворителя. Авторы показали, что газо-хроматографический метод позволяет определять гидроксильные группы в столь малых концентрациях, которые недоступны химическим методам.

Более специфичен метод определения первичных и вторичных спиртов, основанный на проведении реакции анализируемого образца с нитрилом акриловой кислоты и определения избытка последнего методом хроматографии на колонке длиной 3 м, заполненной хромсорбom с 10% полиэтиленгликоля-3000 ¹⁶⁷.

Микроопределение карбоксильных групп может быть осуществлено путем декарбоксилирования органических кислот пиролизом в атмосфере гелия в присутствии углекислой меди и хинолина при нагревании образца в течение 45 мин. в реакторе, нагретом до 225° ¹⁶⁸. Выделяющуюся двуокись углерода определяли газо-хроматографически. Для увеличения производительности метода рекомендуется использовать систему из трех параллельно соединенных реакторов.

Реакция α-аминокислот с нингидрином положена в основу метода определения карбоксильных групп в аминокислотах по количеству выделяющейся двуокиси углерода ¹⁶⁹. Реакцию проводят в системе, выполненной в виде приставки к стандартному хроматографу. В охлажденный реакционный сосуд помещают навеску вещества (3—5 мг), буферную смесь с рН 4,7 и ~50 мг нингидрина, продувают газом-носителем, отключают от газового потока и нагревают до 100°. После завершения реакции (через 3 мин.) реакционную систему вновь подключают к хроматографу и определяют выделившуюся двуокись углерода на колонке с активированным углем АГ-3. Время анализа 10—15 мин., средняя квадратичная ошибка определения ±0,39%.

Весьма интересен метод определения карбоксильных групп путем пиролиза образца при 1000—1100° в парах серы ¹⁷⁰. При этом карбоксильные группы количественно отщепляются в виде сероуглерода, который отделяется с применением силикагеля.

Пиролитический метод был успешно применен и для определения содержания карбонильных групп ¹⁷¹. Анализ основан на том, что при пиролизе растворов различных кетонов и метиловых эфиров ароматических кислот в четыреххлористом углероде в атмосфере аргона образуется окись углерода в количестве, эквивалентном содержанию определяемой группы. Пиролиз проводят в реакторе, заполненном кварцевой крошкой при 800—860°.

7. Определение серосодержащих групп

Количественное определение алкил- и арилмеркаптанов рекомендуют осуществлять путем проведения реакции с акрилонитрилом с последующим определением непрореагировавшего избытка последнего¹⁶⁷. Реакцию проводят в пикнометре в течение 1—2 мин., и анализируют раствор газо-хроматографически.

Для анализа сульфатной и сульфитной групп в органических веществах можно применить восстановительный гидролиз в среде фосфорной кислоты в присутствии двухвалентной соли олова в течение 15 мин. при 300°¹⁷². Для отделения выделяющегося сероводорода от других газов применяют колонку с силикагелем.

Определение арилсульфокислот и их солей предложено производить путем щелочного плавления¹⁷³ и пиролиза¹⁷⁴. В первом случае процесс ведут в приборе (рис. 5), представляющем собой кварцевую трубку, часть которой находится внутри цилиндрической печи. К навеске вещества в платиновой лодочке прибавляют несколько миллиграмм гид-

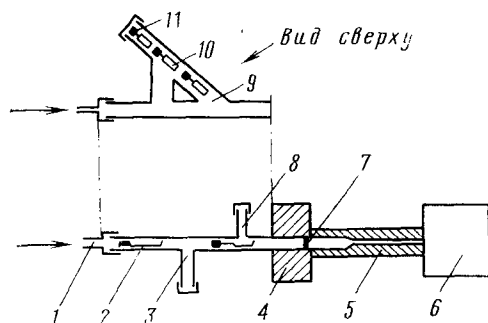
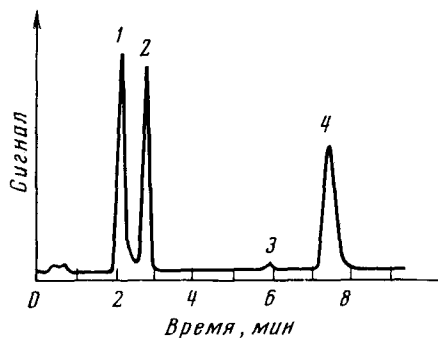


Рис. 5. Приставка для проведения щелочного плавления¹⁷³: 1 — вход газоносителя, 2 — возвратное устройство, 3 — карман для сбрасывания лодочек после анализа, 4 — печь, 5 — обогреваемая подводка к хроматографу, 6 — газовый хроматограф, 7 — ограничитель движения лодочек, 8 — отвод с резиновой мембраной, 9 — отвод для лодочек с навесками, 10 — платиновая лодочка, 11 — толкатель лодочек.

роокиси калия и алкоголята натрия. Сплавление проводят в течение 20 мин., после чего лодочку выдвигают из горячей зоны и помещают под отводом с резиновой мембраной, через которую в лодочку шприцем прибавляют насыщенный водный раствор малеиновой кислоты, которая вытесняет фенолы из плава. После этого лодочку вновь вдвигают в обогреваемое пространство и хроматографически определяют летучие продукты.

Рис. 6. Хроматограмма продуктов пиролиза *p*-толуолсульфокислоты¹⁷⁴: 1 — вода, 2 — двуокись серы, 3 — бензол, 4 — толуол



Пиролизом арилсульфокислот и их солей при 710—790° с добавкой кремниевой кислоты выделяют двуокись серы в количестве, эквивалентном содержанию сульфогруппы¹⁷⁴. Разделение продуктов пиролиза осуществляют на колонке с порпаком Q, что позволяет одновременно оп-

ределять и исходный углеводород, образующийся в количестве до 50% (рис. 6). Метод особенно интересен тем, что в некоторых случаях, при добавлении к пиролизуемому образцу гидрирующего агента (например, карбогидрида), выход исходного углеводорода увеличивается до теоретического (так, в случае бензолсульфокислоты выход бензола составил 98%), что в принципе позволяет проводить полную идентификацию образца из одной навески.

8. Определение винильных и алкильных групп

Определение содержания винильных групп в кремнийорганических полимерных соединениях возможно путем пиролиза исходного образца и последующего газо-хроматографического изучения соотношения этилена и метана в летучих продуктах пиролиза¹⁷⁵.

Отщепление винильных концевых групп в виде этилена при действии на анализируемый образец кремнийорганического полимера концентрированной серной кислоты также послужило основой для разработки метода анализа¹⁷⁶. Навеску вещества помещают в реактор, приливают 450 мкл 90%-ной серной кислоты, нагревают раствор в токе гелия от 65 до 250° (со скоростью 10 град/мин) и улавливают продукты разложения в охлаждаемых ловушках. После завершения реакции (примерно через 1,5 часа) хроматографически определяют уловленные летучие продукты. Показано, что винильные группы количественно образуют этилен, этильные — этан, а метильные — метан.

Описаны методы идентификации винильных групп в виде этилена после щелочного гидролиза¹⁵⁸ и щелочного плавления¹⁵⁰.

Для определения алкильных групп предложено подвергать вещество деструктивному разложению в потоке водорода, который одновременно является и газом-носителем, с помощью катализатора: смеси окиси силиката алюминия с кварцем, пропитанной окислами вольфрама и молибдена¹⁷⁷.

9. Определение ненасыщенных связей

Перед началом любого анализа на содержание функциональных групп исследователю важно иметь сведения о наличии и положении непредельных связей для правильного выбора условий реакции во избежание побочных процессов, часто протекающих именно по ненасыщенным связям. Поэтому нам представляется целесообразным хотя бы кратко рассмотреть основные достижения хроматографических методов в этой области.

Хорошо известно, что при окислении веществ, содержащих кратные связи, такими окислителями, как перманганат и периодат калия и др., происходит расщепление молекулы по месту связи с образованием двух или более осколков (в зависимости от числа ненасыщенных связей). Для решения возникающей при этом задачи разделения и идентификации осколков наиболее перспективным методом является хроматография во всех ее вариантах, что и находит свое отражение в значительном количестве опубликованных работ по хроматографическим методам определения числа и месторасположения непредельных связей. Надо отметить, что в некоторых случаях при образовании сложных смесей продуктов окисления идентификация с целью установления структуры часто вообще невозможна без применения хроматографического окончания.

Широко применявшиеся методы окисления перманганатом калия в уксусной кислоте¹⁷⁸, часто приводящие к слишком глубокому окисле-

нию, и более мягкой смесью перманганат-периодата калия¹⁷⁹ в последнее время быстро уступают место методу озонлиза, впервые предложенному в работе Бона¹⁸⁰. Метод основан на образовании озонидов, их разрушении и газо-хроматографической идентификации продуктов.

Для получения озono-кислородной смеси разработано несколько установок в основном однотипных конструкций¹⁸¹⁻¹⁸³, обеспечивающих концентрацию озона $\sim 2,5-3,0\%$. Обычная последовательность операций такова¹⁸⁴⁻¹⁸⁸: в реакционную пробирку помещают 10-100 мкг исследуемого вещества в этилацетате или сероуглероде (в случае твердых соединений применение растворителя не обязательно¹⁸⁶), охлаждают смесь до температуры от -70 до $10-15^\circ$ (в зависимости от природы анализируемого образца) и пропускают через реактор поток кислорода, обогащенного озонem, до восстановления начальной концентрации последнего на выходе из пробирки. Для фиксирования наличия озона на выходе применяют раствор иодида калия с крахмалом в серной кислоте. По завершении реакции (через 0,5-5,0 мин.) раствор продувают азотом и после разложения полученных озонидов анализируют продукты газо-хроматографически. Основными продуктами, в зависимости от строения и количества ненасыщенных связей, являются: формальдегид, ацетальдегид, ацетон (в присутствии *i*-пропилиденных группировок), глиоксаль (особенно из соединений с сопряженными двойными связями), углекислый газ (при наличии кумулированных связей), а также другие альдегиды и альдефиды.

Разложение озонидов осуществляют или при помощи порошка трифенилфосфина^{185, 189}, или термическим разложением^{190, 192}. Для последнего случая описан микрореактор¹⁸⁶, в котором образец объемом до 5 мкл может быть проозонирован, разложен и введен в газовый хроматограф без всякого переноса вещества и связанных с этим потерь.

* * *

В приведенном обзоре авторы сознательно не останавливались на методах определения углеродного скелета органических соединений, являющихся одним из разделов функционального анализа, которые существенно облегчают идентификацию. Возможности и достижения газовой хроматографии в этой области весьма велики и требуют специального рассмотрения. Определение углеродного скелета с использованием гидрирования подробно изложено в обзоре Берозы¹⁹².

Обзор основных достижений газовой хроматографии в качественной идентификации органических соединений и количественном определении функциональных групп позволяет сделать вывод, что, благодаря совокупности достоинств газовой хроматографии, ее применение сейчас привело к коренным изменениям в одном из важнейших разделов органической химии — функциональном анализе, особенно при исследовании сложных многокомпонентных смесей. Отметим, что традиционные химические методы не утратили своего значения. Напротив, наибольшие успехи достигнуты именно в тех случаях, когда газовая хроматография используется в сочетании с традиционными химическими методами.

Следует отметить, что расширение использования газо-хроматографических методов в аналитической практике в настоящее время сдерживается отсутствием универсального хроматографического прибора с различными реакторами, предназначенного для проведения функционального анализа при совместном использовании химических и хроматографических методов.

ЛИТЕРАТУРА

1. J. Gasparič, *Adv. in Chromatogr.*, **6**, 3 (1968).
2. G. L. Feldman, G. Rouser, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **42**, 290 (1965).
3. В. Г. Березкин, в кн. Успехи хроматографии под ред. К. В. Чмута и К. И. Сако-
днского, «Наука», М., 1972, стр. 296, см. также стр. 215.
4. В. Г. Березкин, *Нефтехимия*, **1**, 169 (1961).
5. В. Г. Березкин, В. С. Кругликова, Там же, **2**, 845 (1962).
6. G. Schomberg, *Adv. in Chromatogr.*, **6**, 211 (1968).
7. М. С. Вигдергауз, сб. Газовая хроматография. ВНИГНИ, «Недра», М., 1970, т. 64,
стр. 82.
8. В. М. Сахаров, в кн. Физико-химическое применение газовой хроматографии,
«Химия», М., 1973, стр. 81.
9. М. Бероза, М. Инской, в кн. Методы-спутники в газовой хроматографии, «Мир», М.,
1972, стр. 125.
10. J. B. F. Lloyd, *Analyst*, **97**, 708 (1972).
11. A. T. James, A. J. P. Martin, *Biochem. J.*, **50**, 679 (1952).
12. N. H. Ray, *J. Appl. Chem. (London)*, **4**, 21 (1954).
13. V. M. Sakharov, Y. N. Bogoslovsky, K. I. Sakodinsky, *J. Chromat.*, **58**, 103 (1971).
14. В. М. Сахаров, В. С. Восков, в сб. Газовая хроматография, НИИТЭХИМ, М., 1969,
вып. 10, стр. 76.
15. A. T. James, A. Martin, *J. Appl. Chem. (London)*, **6**, 105 (1956).
16. J. S. Lewis, H. W. Patton, W. I. Koye, *Anal. Chem.*, **28**, 1370 (1956).
17. J. Brown, *Nature* **188**, 1021 (1960).
18. Б. И. Анвар, А. А. Жуховицкий, И. И. Литовцев, В. М. Сахаров, Н. М. Туркель-
тауб, *Ж. аналит. химии*, **19**, 178 (1964).
19. В. Г. Березкин, Д. Д. Вальравен, Там же, **26**, 1442 (1971).
20. В. Г. Аракелян, Л. С. Сарычева, В. П. Евдаков, Газовая хроматография,
НИИТЭХИМ, М., 1967, вып. 7, стр. 48.
21. С. Д. Нозаре, Р. С. Джувет, Газо-жидкостная хроматография, «Недра», Л., 1966.
22. А. Кейлеманс, Хроматография газов, ИЛ, М., 1959.
23. А. А. Жуховицкий, Н. М. Туркельтауб, Газовая хроматография, Гостехиздат, М.,
1962.
24. Руководство по газовой хроматографии, под ред. А. А. Жуховицкого, «Мир», М.
1969.
25. Г. Г. Девярых, А. Д. Зорин, С. В. Ляхманов, А. Е. Ежелева, *ДАН*, **156**, 1105
(1964).
26. W. O. McReynolds, *Gas Chromatographic Retention Data*, Preston Technical Abst-
racts Co., Evanston, Ill, 1966.
27. В. Г. Березкин, А. А. Жуховицкий, В. П. Пахомов, Л. Л. Старобинец, З. П. Мар-
кович, Газовая хроматография. Труды 3 Всес. конф. по газовой хроматографии,
Изд. Дзерж. филиала ОКБА, Дзержинск, 1966, стр. 247.
28. S. M. Dorrence, G. C. Peterson, *Anal. Chem.*, **41**, 1240 (1969).
29. В. Г. Березкин, А. Н. Генкин, *Усп. химии*, **51**, 1136 (1972).
30. M. Bowman, M. Beroza, *Anal. Chem.*, **40**, 535 (1968).
31. W. Kaye, *Anal. Chem.*, **34**, 287 (1962).
32. R. S. Silas, Пат. США 3462261 (1969) РЖХим., 1970, 16Г196.
33. J. E. Lovelock, S. K. Lipsky, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 431 (1960).
34. L. Giuffrida, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, **50**, 293 (1967).
35. A. Karmen, *J. Gas Chromat.*, **3**, 336 (1965).
36. W. A. Aue, C. W. Gehrke, R. C. Tindle, D. L. Statling, G. D. Ruyle, Там же, **5**,
381 (1967).
37. R. F. Coward, P. Smith, *J. Chromat.*, **61**, 329 (1971).
38. M. Dressler, V. Martinú, J. Janak, Там же, **59**, 429 (1971).
39. W. A. Aue, K. O. Gerhardt, S. Lakeda, Там же, **63**, 237 (1971).
40. D. M. Coulson, L. A. Cavanagh, J. E. De Vries, B. Walter, *J. Agr. Food Chem.*, **8**,
399 (1965).
41. С. И. Кричмар, В. С. Степаненко, Авт. свид. СССР 177152 (1965); Бюлл. изобр.,
1966, № 24.
42. В. Е. Степаненко, С. И. Кричмар, *Ж. аналит. химии*, **26**, 147 (1971).
43. С. И. Кричмар, В. Е. Степаненко, Т. М. Тайман, Там же, **26**, 1340 (1971).
44. В. Е. Степаненко, С. И. Кричмар, *Зав. лаб.*, **38**, 1200 (1972).
45. Т. Койма, М. Ichise, Y. Seo, *Talanta*, **19**, 539 (1972).
46. Ц. Кодзима, М. Итисэ, Я. Сэо, Бунсэки кагаку, (*Japan. Anal.*), **20**, 20 (1971).
47. G. Gourillon, *Bull. Union phys.*, **65**, 951 (1971).
48. M. S. Bowman, M. Beroza, *J. Chromat. Sci.*, **7**, 484 (1969).
49. S. S. Brody, J. E. Chaney, *J. Gas. Chromat.*, **4**, 42 (1966).

50. J. Sevcik, *Chromatogr.*, **4**, 195 (1971).
51. B. Versino, G. Rossi, Там же, **4**, 331 (1971).
52. M. C. Bowman, M. Beroza, G. Nicless, *J. Chromat. Sci.*, **9**, 44 (1971).
53. B. Gutsche, R. Herrman, *Ztschr. anal. Chem.*, **253**, 257 (1971).
54. W. A. Aue, R. F. Meseman, *J. Chromat.*, **61**, 35 (1971).
55. B. Gutsche, R. Herrman, K. Rüdiger, *Ztschr. anal. Chem.*, **258**, 273 (1972).
56. J. E. Longbottom, *Anal. Chem.*, **44**, 1111 (1972).
57. P. M. Houpt, H. Compean, *Analisis*, **1**, 27 (1972).
58. E. J. Sowinski, I. H. Suffet, *J. Chromat. Sci.*, **9**, 632 (1971).
59. R. M. Dagnell, T. S. West, P. Whitehead, *Anal. Chem.*, **44**, 2074 (1972).
60. R. M. Dagnell, T. S. West, P. Whitehead, *Anal. Chim. Acta*, **60**, 25 (1972).
61. M. Krejči, M. Dressler, *Chromat. Rev.*, **13**, 1 (1970).
62. R. L. Martin, *Anal. Chem.*, **32**, 436 (1960).
63. N. H. Ray, *Analyst*, **80**, 853 (1965).
64. W. B. Inns, W. E. Bambrick, A. J. Andreach, *Anal. Chem.*, **35**, 1198 (1963).
65. В. Г. Березкин, А. Е. Мысак, Л. С. Полак, Сб. Газовая хроматография. Труды III Всес. конф., «Наука», М., 1964, стр. 332.
66. E. Gil-Av, J. Herzberg-Minzly, *J. Chromat.*, **13**, 1 (1964).
67. R. M. Ikeda, D. E. Simmons, J. D. Grossman, *Anal. Chem.*, **36**, 2188 (1964).
68. F. W. Hefendehl, *Naturwiss.*, **51**, 138 (1964).
69. A. B. Littlewood, *Chromatographia*, **1**, № 3/4, 133 (1968).
70. В. Г. Березкин, Аналитическая реакционная газовая хроматография, «Наука», М., 1966.
71. Н. Юсуке, Т. Харуо, Н. Кодзи, Бунсэки кики (*Anal. and Instrum.*), **7**, 25 (1969).
72. Е. Е. Кугучева, А. В. Алексеева, Сб. Газовая хроматография, М., 1970, вып. 12, стр. 64.
73. F. E. Regnier, J. C. Huang, *J. Chromat. Sci.*, **8**, 276, (1970).
74. B. A. Bierl, M. Beroza, W. T. Ashton, *Mikrochim. Acta*, **1969**, 637.
75. N. A. Prokopenko, A. S. Rabinovich, N. A. Dubrova, M. I. Dementjeva, *J. Chromat.*, **69**, 47 (1972).
76. D. A. Cronin, Там же, **64**, 25 (1972).
77. D. Stejaru, R. Popescu, *Rev. chim. (RSR)*, **20**, 629 (1969).
78. J. R. Margwart, G. B. Dellow, E. R. Freitas, *Anal. Chem.*, **40**, 1633 (1968).
79. J. Dutta, A. Ghosh, *Indian J. Appl. Chem.*, **33**, 254 (1970).
80. T. Ohtaki, H. Ozaki, M. Iata, M. Iton, A. Suzuki, Нихон кагаку кайси, *J. Chem. Soc. Japan, Chem. Ind. Sect.*, **1972**, 934.
81. R. T. Mator, J. A. Petrocelli, T. J. Puzniak, Пат. США 3350428 (1970); РЖХим. **1971**, 18Г219.
82. N. L. Soulages, A. M. Brieva, *J. Chromat. Sci.*, **9**, 492 (1971).
83. M. Toader, F. Voicu, D. Săndulescu, *Rev. Chim. (RSR)*, **21**, 568 (1970).
84. Н. Сузо, Н. Йоисиюки, Бунсэки кагаку, *Japan Anal.*, **20**, 16 (1971).
85. L. E. Philyaw, A. E. Krc, M. J. O'Neal, *Anal. Chem.*, **43**, 787 (1971).
86. J. Fryčka, J. Pospíšil, *J. Chromat.*, **67**, 366 (1972).
87. E. Kaminski, *Chem. Analityczna*, **17**, 1307 (1972).
88. J. T. Walsh, C. Merritt, *Anal. Chem.*, **32**, 1378 (1960).
89. B. Casu, L. Cavallotti, Там же, **34**, 1514 (1962).
90. D. A. Cronin, J. Gilbert, *J. Chromat.*, **71**, 251 (1972).
91. М. А. Володина, И. В. Конькова, Вестн. МГУ, Химия, **11**, 119 (1970).
92. G. Van-Ling, *J. Chromat.*, **44**, 175 (1969).
93. G. Yip, S. F. Woward, *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists*, **51**, 24 (1968).
94. S. Siggi, Ed. *Instrumental Methods of Organic Functional Group Analysis*, Wiley — Interscience, New York — London — Sydney — Toronto, 1972.
95. N. E. Hoffman, J. J. Barboriak, F. Hardman, *Anal. Biochem.*, **9**, 175 (1964).
96. N. E. Hoffman, R. J. Conigliaro, *Develop. Appl. Spectry*, **4**, 299 (1965).
97. C. W. Stenly, *J. Agr. Food Chem.*, **14**, 321 (1966).
98. C. C. Sweely, R. Bently, M. Makita, W. W. Wells, *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 2497 (1963).
99. H. Tadashi, I. Susumu, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **43**, 3320 (1970).
100. J. Franc, J. Blaha, *J. Chromat.*, **6**, 369 (1961).
101. H. Groenendyk, E. J. Levy, S. F. Sarnier, Там же, **8**, 599 (1970).
102. C. Merritt, C. Di Pietro, *Anal. Chem.*, **44**, 57 (1972).
103. J. L. Spigarelli, C. E. Meloan, *J. Chromat. Sci.*, **8**, 420 (1970).
104. Т. Итиро, М. Йоктиро, Корё кагаку дзасси, *J. Chem. Soc. Japan, Ind. Chem. Sect.*, **71**, 1627 (1968).
105. U. Lille, H. Kundel, *J. Chromat.*, **69**, 59 (1972).
106. H. Roth, *Mikrochemie*, **11**, 40 (1932).
107. Ю. Э. Лилле, Х. А. Кундель, Сб. Химия и технология горючих сланцев и продуктов их переработки, «Недра», Л., 1967, вып. 3, стр. 254.

108. Ху Чжень-юань, Ян Хуэй-синь, Кехуе tongbao, 17, 211 (1966).
109. S. Suzuki, K. Miyazaki, Нихон кагаку дзасси (J. Chem. Soc. Japan Pure Chem. Sect.), 87, 1303 (1966).
110. I. Daido, T. Takao, T. Nobuo, Бунсэки кагаку, Япон Anal., 21, 367 (1972).
111. М. Н. Чумаченко, Л. Б. Твердюкова, ДАН, 142, 612 (1962).
112. М. Н. Чумаченко, Л. Б. Твердюкова, Ф. Г. Леенсон, Ж. аналит. химии, 21, 617 (1966).
113. А. Е. Мысак, Кандид. диссерт. ИНХС АН СССР, 1965.
114. З. А. Шевченко, Е. Г. Румянцева, И. А. Фаворская, А. Н. Никитина, Вестн. Ленингр. ун-та, 1972, 4, 141.
115. Губен-Вейль, Методы органической химии, т. 2, «Химия», М., 1967, стр. 316.
116. И. В. Маргеева, Ж. аналит. химии, 27, 1172 (1972).
117. E. J. Norton, L. Turner, D. G. Salmon, Analyst, 95, 80 (1970).
118. J. Franc, F. Mikeš, Collect. Czechosl. Chem. Commun., 31, 363 (1966).
119. E. R. Hoffman, Z. Lysyj, Microchem. J., 6, 45 (1962).
120. В. Г. Белянский, В. А. Орестова, Изв. АН СССР, сер. хим., 1964, 182.
121. И. Сусуму, А. Сатору, Х. Тадаси, Нихон кагаку дзасси, J. Chem. Soc. Japan, Pure Chem. Sect., 91, 251 (1970).
122. М. В. Пальянова, В. С. Татаринский, М. М. Федячкин, Зав. лаб., 38, 532 (1972).
123. H. E. Mishtmash, C. E. Meloan, Anal. Letters, 4, 295 (1971).
124. D. D. Van-Slyke, J. Biol. Chem., 22, 281 (1915).
125. I. Daido, T. Takao, T. Nobuo, Бунсэки кагаку, Япон Anal., 21, 363 (1972).
126. С. И. Обтемперанская, Нгуен Дык-Хое, Ж. аналит. химии, 24, 1588 (1969).
127. U. Toyozo, N. Terumichi, T. Ryoji, Бунсэки кагаку, Япон Anal., 21, 993 (1972).
128. A. T. Austin, J. Chem. Soc., 1950, 149.
129. M. Shenk, Ztschr. physiol. Chem., 286, 270 (1951).
130. G. Kainz, F. Kasler, H. Huber, Mikrochim. acta, 6, 893 (1959).
131. S. Zeisel, R. Fanto, Ztschr. anal. Chem., 42, 549 (1903).
132. G. Castello, J. Chromat., 41, 313 (1969).
133. S. Vertalier, F. Martin, Chim. Anal. (Paris), 40, 80 (1958).
134. J. Haslam, J. B. Hamilton, A. R. Jeffs, Analyst, 83, 66 (1958).
135. H. J. Wesselman, J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed., 49, 320 (1960).
136. K. Kratzl, K. Gruber, Montash Chem., 89, 618 (1958).
137. D. L. Miller, E. P. Samsel, J. G. Cobler, Anal. Chem., 33, 677 (1961).
138. W. H. Gutenmann, D. J. Lisk, J. Agr. Food Chem., 11, 470 (1963).
139. M. Tetsuo, K. Jukiko, Microchem. J., 7, 141 (1963).
140. F. Ehrenberger, Ztschr. anal. Chem., 210, 424 (1965).
141. I. Klesment, A. Kasberg, Mikrochim. acta, 1967, (1136).
142. А. А. Карпишин, Ж. аналит. химии, 23, 1072, (1968).
143. К. Набу, М. Тайхай, Бунсэки кагаку, Япон Anal., 17, 1102 (1968).
144. С. Араки, С. Судзуки, М. Китано, Бунсэки кагаку, Япон Anal., 18, 608 (1969).
145. Л. В. Колесник, М. Н. Чумаченко, Изв. АН СССР, сер. хим., 1969, 2107.
146. М. Н. Чумаченко, Л. В. Колесник, Там же, 1971, 2090.
147. D. G. Anderson, K. E. Isakson, D. L. Snow, D. J. Tessari, J. T. Vandeberg, Anal. Chem., 43, 984 (1971).
148. М. Н. Чумаченко, Л. В. Колесник, Изв. АН СССР, сер. хим., 1968, 1874.
149. S. P. Francoski, S. Siggia, Anal. Chem., 44, 507 (1972).
150. C. L. Hanson, R. C. Smith, Там же, 44, 1571 (1972).
151. H. Jacin, J. M. Slanski, Там же, 42, 801 (1970).
152. H. Tai, R. M. Powers, T. F. Protzman, Там же, 36, 108 (1964).
153. С. Араки, С. Судзуки, М. Китано, Бунсэки кагаку, Япон Anal., 19, 488 (1970).
154. J. Franc, J. Dvořáček, V. Koloušková, Mikrochim. Ichnoanal. Acta, 1965, 4.
155. J. Franc, J. Dvořáček, J. Chromat., 14, 340 (1964).
156. J. Franc, K. Pláček, Там же, 48, 295 (1970).
157. В. М. Красикова, А. Н. Каганова, В. Д. Лобков, Ж. аналит. химии, 26, 1635 (1971).
158. J. Franc, K. Pláček, J. Chromat., 67, 37 (1972).
159. J. Franc, J. Senkyřová, F. Mikeš, K. Pláček, Там же, 43, 1 (1969).
160. H. Spingler, F. Market, Mikrochim. acta, 1959, 122.
161. W. A. Schoeder, J. T. Cua, G. Matsuda, W. D. Fenninger, Biochim. biophys. acta, 63, 532 (1962).
162. D. N. Ward, J. A. Coffey, Biochemistry, 3, 1575 (1964).
163. D. N. Ward, J. A. Coffey, D. B. Ray, W. M. Lamkin, Anal. Biochem., 14, 243 (1966).
164. В. С. Кабанов, М. Н. Чумаченко, Сб. научных работ ВНИИ лекарств. растений, 1970, вып. 1, 200.
165. М. Н. Чумаченко, В. С. Кабанов, Сб. Проблемы аналит. химии, «Наука», М., 1970, т. 1, стр. 52.
166. К. В. Алексеева, Л. П. Храмова, Ж. аналит. химии, 27, 163 (1972).
167. С. И. Обтемперанская, Нгуен Дык-Хое, Вестн. МГУ, Химия, 1970, 369.
168. T. S. Ma, C. T. Shang, E. Manche, Mikrochim. acta, 1964, 571.

169. М. В. Пальянова, В. С. Татаринский, М. М. Федячкин, Зав. лаб., 39, 545 (1973).
170. Т. Hara, S. Ito, Bull. Chem. Soc. Japan, 44, 2427 (1971).
171. В. М. Невский, В. Г. Гуцалюк, А. Я. Светлов, Л. Г. Грабарник, Изв. АН КазССР, сер. хим., 1967, 27.
172. С. Ито, Т. Хара, Нихон кагаку дзасси, J. Chem. Soc. Japan. Pure Chem. Sect., 90, 1027 (1969).
173. S. Siggia, L. R. Whitlock, J. C. Tao, Anal. Chem., 41, 1387 (1969).
174. S. Siggia, L. R. Whitlock, Там же, 42, 1719 (1970).
175. С. П. Евдокимова, Н. А. Исакова, В. Ф. Евдокимов, Ж. аналит. химии, 26, 806 (1971).
176. E. R. Bissell, D. B. Fields, J. Chromat. Sci., 10, 164 (1972).
177. J. Franc, Пат. СССР 139431 (1970); РЖХим., 1971, 20Д59.
178. A. J. Fulio, J. F. Mead, J. Biol. Chem., 284, 1411 (1959).
179. D. F. Keummel, Anal. Chem., 36, 426 (1964).
180. М. Д. Бон, Ученые записки Ленингр. гос. ун-та, 1938, сер. 3, стр. 3.
181. W. A. Bonner, J. Chem. Educ., 30, 452 (1953).
182. M. Beroza, B. A. Bierl, Anal. Chem., 38, 1976 (1966).
183. M. Beroza, B. A. Bierl, Mikrochim. acta, 1969, 720.
184. B. Smith, R. Ohlson, A.—M. Olson, Acta Chem. Scand., 16, 1463 (1962).
185. M. Beroza, B. A. Bierl, Anal. Chem., 39, 1131 (1967).
186. V. L. Davison, H. J. Dutton, Там же, 38, 1302 (1966).
187. R. A. Stein, J. Am. Oil Chemists' Soc., 41, 326 (1965).
188. B. P. Moore, W. V. Brown, J. Chromat., 60, 157 (1971).
189. R. A. Stein, N. Nicolaides, J. Lipid Res., 3, 476 (1962).
190. E. C. Nickell, O. S. Privett, Lipids, 1, 166 (1966).
191. O. S. Privett, E. C. Nickell, J. Am. Oil Chemists' Soc., 43, 393 (1966).
192. M. Beroza, Accounts of chemical research, 3, 33 (1970).