

УДК 543.544

ВАРИАНТЫ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ
С УПРАВЛЯЕМЫМ ПОТОКОМ ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ

Березкин В. Г., Бузаев В. В.

Обзор посвящен успешно развивающимся в тонкослойной хроматографии (ТСХ) методам управления потоком подвижной фазы. Использование их позволяет устранить некоторые из основных недостатков традиционной ТСХ при сохранении большинства ее преимуществ. Рассмотрены непрерывный, непрерывный с проточным детектированием, центрифужный варианты ТСХ, а также вариант ТСХ под давлением. Показано, что управление потоком подвижной фазы не только дает возможность успешно использовать ТСХ для выбора условий разделения в колоночной жидкостной хроматографии (КЖХ), но и приближает его к КЖХ по эффективности и экспрессности, а также открывает новые возможности для автоматизации ТСХ.

Библиография — 143 ссылки.

Оглавление

I. Введение	656
II. Классификация методов ТСХ с управляемым потоком подвижной фазы	657
III. Непрерывная комбинированная (двухстадийная) ТСХ	659
IV. Непрерывная одностадийная ТСХ с проточным детектированием	661
V. Непрерывная ТСХ с движущимся закрепленным слоем сорбента	667
VI. Центрифужная ТСХ	669
VII. Тонкослойная хроматография под давлением	671

I. ВВЕДЕНИЕ

Метод тонкослойной хроматографии, предложенный в 1938 г. советскими учеными Измайловым и Шрайбер [1], является в настоящее время одним из основных в жидкостной хроматографии. Он используется при исследовании органических [2] и неорганических [3] веществ, находит применение в биохимии и фармакологии [4], [5], в медицине [6], при анализе окружающей среды [7], полимеров [8] и т. д. Такое широкое применение ТСХ объясняется следующими достоинствами этого метода: 1) простотой оборудования и методики проведения эксперимента, 2) возможностью целенаправленно и относительно легко изменять большое число параметров, оптимизируя процесс разделения, 3) экономичностью, 4) возможностью одновременно и независимо разделять большое число проб в ходе одного определения (до 20 проб). Следует также особо подчеркнуть такие важные особенности ТСХ как возможность быстрой и простой замены подвижной и неподвижной фаз, определяющих селективность метода [4, 9—15], и применение двумерного разделения [4, 9, 10, 16], существенно увеличивающего реальную разрешающую способность метода. К достоинствам ТСХ относится также то, что на пластиинке можно анализировать все компоненты смеси, а не только дошедшие до детектора, как в колоночной хроматографии.

Наиболее распространенным вариантом жидкостной хроматографии является в настоящее время колоночная жидкостная хроматография (КЖХ) и особенно ее современный вариант — высокоеффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Однако отмеченные выше особенности ТСХ обеспечивают ей ряд преимуществ перед КЖХ, которые обусловили также достаточно широкое распространение ТСХ в аналитической практике. Более того, некоторые авторы при сравнении КЖХ и

TCX отдают предпочтение последней [17—19]. В обзоре [20] высказано мнение о том, что, хотя по эффективности и числу разделяемых компонентов ВЭЖХ превосходит высокоэффективную TCX (ВЭTCX), это различие между ними не является принципиальным.

Однако традиционной TCX по сравнению с ВЭЖХ присущи и определенные недостатки: 1) меньшая воспроизводимость величин удерживания, 2) обычно большая длительность разделения, 3) наличие некоторых осложняющих факторов, которые могут отрицательно влиять на воспроизводимость хроматографического процесса (например, наблюдаемое в ряде случаев расслоение раствора многокомпонентных подвижных фаз при их движении по сорбционному слою [21], испарение и адсорбция паров подвижной фазы), 4) большая трудоемкость и сложность автоматизации всего процесса, от введения пробы и подготовки хроматографической пластиинки до количественной оценки получаемых результатов.

Большинство недостатков традиционной TCX связано с использованием нестационарного, практически неуправляемого потока подвижной фазы (см., например, [4, 9, 10, 22—24]). Скорость движения подвижной фазы по слою существенно изменяется в процессе элюирования, причем расстояние, пройденное фронтом подвижной фазы (Z_f), связано со временем элюирования (t) квадратичной зависимостью [9, 22—25]:

$$Z_f^2 = kt \quad (1)$$

где k — константа скорости, величина которой зависит от природы подвижной и неподвижной фаз.

Из уравнения (1) следует, что скорость движения фронта подвижной фазы по мере удаления от места подвода элюента значительно падает. Необходимо также отметить, что перепад давлений, создаваемый за счет капиллярных сил, не позволяет получать оптимальные скорости движения подвижной фазы на всем протяжении зоны элюирования. Поэтому, как правило, элюирование на большей части пластины в традиционной TCX протекает при скоростях, меньших оптимальной.

Нестационарность потока подвижной фазы, образование зоны ненасыщенности в прифронтовой области элюента, в которой содержание растворителя по отношению к сорбенту существенно отличается от равновесного [9, 25—27], и процессы испарения и адсорбции компонентов подвижной фазы [28] оказывают заметное отрицательное влияние на эффективность разделения, воспроизводимость величин удерживания, а также на время хроматографирования. Ряд работ [29—33] посвящен оптимизации хроматографического процесса в TCX, в основном за счет согласованного подбора сорбента, подвижной фазы и длины хроматографической пластиинки. На наш взгляд, важную роль в оптимизации процесса разделения в TCX играет также создание, во-первых, стационарного и, во-вторых, оптимального или приближающегося к оптимальному потока подвижной фазы. Использование и развитие методов элюирования, позволяющих получать устойчивый (и желательно управляемый) поток подвижной фазы, является одним из перспективных направлений в TCX, поскольку в совокупности с известными методами оптимизации условий разделения [29—33] оно помогает преодолеть основные из перечисленных выше недостатков традиционной TCX, сохранив при этом большинство ее достоинств. Именно поэтому настоящий обзор посвящен рассмотрению методов TCX с управляемым потоком подвижной фазы (TCX-УП).

II. КЛАССИФИКАЦИЯ МЕТОДОВ TCX С УПРАВЛЯЕМЫМ ПОТОКОМ ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ

К методам TCX-УП целесообразно отнести такие варианты TCX, в которых создается стационарный поток подвижной фазы, управляемый только за счет использования специальных методов элюирования и воздействия на хроматографическую систему различных физических сил.

Среди известных в настоящее время вариантов ТСХ-УП можно выделить две группы: методы непрерывной ТСХ и ТСХ с принудительным потоком подвижной фазы. Такое разделение вызвано, в основном, различием в силах, определяющих движение подвижной фазы. В первой группе методов это капиллярные силы. К этой группе относятся: непрерывная комбинированная (двухстадийная), непрерывная одностадийная (проточная) и непрерывная ТСХ с движущимся закрепленным слоем сорбента.

В непрерывной двухстадийной ТСХ пробу наносят на сухой сорбент, затем подвижную фазу элюируют до места удаления ее из слоя в режиме обычной ТСХ при переменной скорости элюирования (первая стадия); далее, вплоть до окончания разделения, скорость элюирования остается постоянной (вторая стадия). Скорость элюирования на второй стадии зависит от длины зоны элюирования, т. е. от расстояния между местом подачи элюента и местом его удаления.

В случае непрерывной одностадийной ТСХ пробу вводят непосредственно в установившийся поток подвижной фазы. Скорость элюирования от момента ввода пробы и до окончания ее разделения постоянна.

В третьем методе из этой группы сорбент, закрепленный на гибкой подложке, движется в направлении, противоположном движению разделяемых компонентов. Пробу можно наносить на сухой сорбент или вводить в поток подвижной фазы.

Термин «ТСХ с принудительным потоком» (forced flow TLC) введен Калашем [34] совсем недавно. Он был применен непосредственно для обозначения метода ТСХ под давлением (ТСХ-Д) [35], в котором движение подвижной фазы в слое сорбента, как и в случае ВЭЖХ, осуществляется за счет избыточного давления на входе элюента в хроматографическую систему. Однако нам кажется целесообразным включить в понятие «ТСХ с принудительным потоком» (ТСХ-ПП) все варианты ТСХ, в которых какой-либо внешний фактор, например, центробежная сила или магнитное поле, воздействуя на данную хроматографическую систему, определяет характер движения подвижной фазы. В соответствии с этим центрифужная ТСХ, где элюент движется в основном под действием центробежных сил, так же как и ТСХ-Д, отнесена нами к методам ТСХ с принудительным потоком подвижной фазы.

Заметим, что нисходящая ТСХ [36], в которой сила тяжести увеличивает скорость движения подвижной фазы по сравнению с восходящим и горизонтальным вариантами элюирования, также могла бы быть причислена к ТСХ-ПП. Однако по причине малого влияния гравитационной составляющей на элюирование [37] данный метод рассматривается только как один из вариантов непрерывной ТСХ.

Ниже на схеме представлена классификация методов ТСХ-УП. На ней показаны возможности различных вариантов ТСХ-УП по управле-

Схема

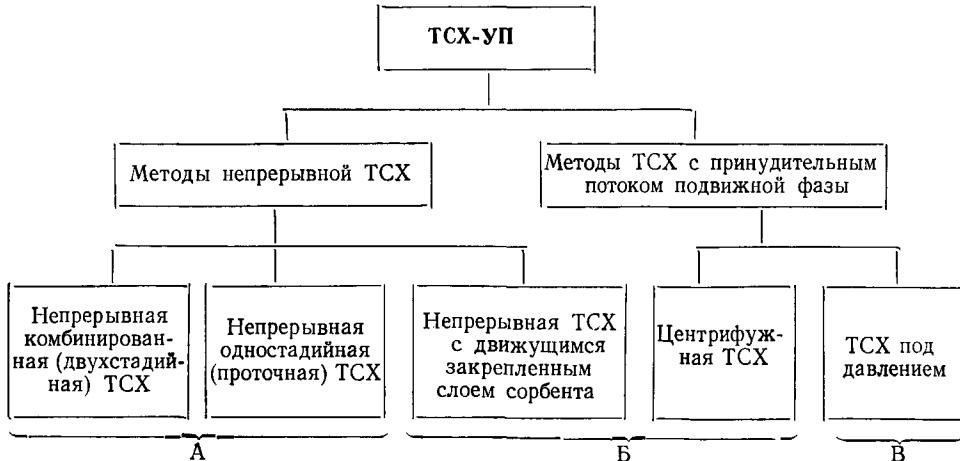


Таблица 1

Основные варианты жидкостной хроматографии

Характеристика	Традиционная ТСХ	ТСХ с управляемым потоком подвижной фазы	КЖХ
Тип используемой сорбционной системы	открытая	открытая или закрытая	закрытая
Причина движения подвижной фазы по сорбционному слою	капиллярные силы	капиллярные силы или перепад давления по слою	перепад давления
Скорость потока подвижной фазы по длине слоя	переменная	постоянная (управляемая)	постоянная (управляемая)
Возможность управления потоком подвижной фазы	нет	есть	есть
Способ детектирования компонентов	на слое сорбента (статическое)	статическое и динамическое	в потоке подвижной фазы (динамическое)
Чувствительность детектирования *	высокая	высокая	высокая
Воспроизводимость	средняя	высокая	высокая
Количество одновременно анализируемых проб	большое	большое	ограниченное (обычно одна)
Использование сорбционного слоя	однократное **	однократное **	многократное
Расход сорбента на серию анализов	большой	минимальный	минимальный

* КЖХ обладает следующими преимуществами над традиционной ТСХ: 1) отсутствием сорбента в зоне детектирования и 2) большей длиной светового пути в измерительной ячейке.

** Некоторые виды хроматографических пластинок в ТСХ могут быть повторно использованы после их регенерации.

нию скоростью движения потока подвижной фазы. В методе ТСХ-Д (группа В) интервал создаваемых скоростей практически такой же, как и в ВЭЖХ. Использование методов группы Б сокращает время анализа в 2÷5 раз, а методов группы А — в 1,5÷3 раза по сравнению с традиционной ТСХ.

Следует отметить, что предложенное подразделение методов ТСХ-УП на две группы достаточно условно. Так, например, режим непрерывного элюирования реализуется как центрифужной ТСХ, так и в ТСХ-Д.

Сравнение основных вариантов жидкостной хроматографии по типу применяемой сорбционной системы, характеру сил, обусловливающих движение подвижной фазы, и т. д. проведено в табл. 1.

III. НЕПРЕРЫВНАЯ КОМБИНИРОВАННАЯ (ДВУХСТАДИЙНАЯ) ТСХ

Термин «непрерывная хроматография» используется в ТСХ в двух значениях. Во-первых, для обозначения процесса разделения пробы, которая непрерывно подается в хроматографическую систему. При непрерывном разделении подвижная фаза с одной стороны, проба и слой сорбента с другой перемещаются в различных направлениях. Впервые этот метод был предложен в работе [38], а в планарной (бумажной) хроматографии реализован автором работы [29]. Во-вторых, этот термин применяют для обозначения того варианта ТСХ, в котором непрерывным является только поток подвижной фазы, причем объем последней больше необходимого для смачивания сорбента на всю длину хроматографической пластиинки. Нами термин «непрерывная хроматография» рассматривается здесь и далее только в его втором значении.

Основной целью непрерывной ТСХ является улучшение разделения анализируемой смеси посредством увеличения расстояния, на которое перемещаются разделяемые компоненты.

Первоначальным вариантом непрерывной ТСХ был комбинированный (двухстадийный) метод. Впервые он был реализован [40] в восходящей хроматографии на свободном слое оксида алюминия. Разделяемый

образец наносили на сухой слой сорбента и затем осуществляли элюирование. Подвижную фазу испаряли с конца хроматографической пластиинки. В этом случае процесс разделения до достижения края пластиинки происходит точно так же, как и в обычной ТСХ. По достижении элюентом края пластиинки вдоль слоя сорбента устанавливается стационарный поток подвижной фазы. Скорость потока определяется скоростью перемещения фронта подвижной фазы в конце зоны элюирования. Изменения скорости движения растворителя при данном сочетании подвижной и неподвижной фаз можно достичь, изменяя длину зоны элюирования. В недавно вышедшей работе¹ сделана попытка оптимизации условий

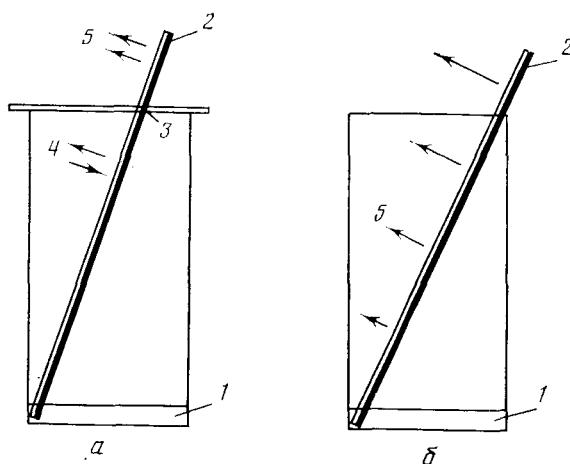


Рис. 1. Методы непрерывной ТСХ [20]: *а* — метод постоянной скорости потока подвижной фазы [45—47]; *б* — метод градиента скорости потока подвижной фазы вдоль слоя [48, 49]: 1 — подвижная фаза; 2 — тонкостенная пластиинка, на которой происходит разделение; 3 — щель в крышке камеры, через которую проходит верхний конец пластиинки; 4 — равновесие сорбции и десорбции паров подвижной фазы (газовое пространство в камере насыщено парами подвижной фазы); 5 — испарение подвижной фазы с пластиинки (в результате испарения вдоль пластиинки возникает градиент скорости подвижной фазы)

разделения в непрерывной ТСХ в зависимости от константы скорости движения элюента, степени разделения и величин R_f разделяемых компонентов.

Несколько позднее авторами [41, 42] были разработаны оригинальные и изящные методы нынешней двухстадийной непрерывной ТСХ. Интересные способы осуществления этого варианта ТСХ описаны также в работах [43, 44]. Однако наиболее часто используется метод постоянного потока подвижной фазы, предложенный в работах [45—47], а также метод градиентного потока подвижной фазы или метод испарения [48, 49]. Различия между ними достаточно ясно передает рис. 1.

Для проведения непрерывной ТСХ в одинаковых условиях Труттер [45, 47] предложил применять специальную крышку камеры со щелью, в которую вставляют пластиинку. Подвижная фаза при выходе за пределы камеры быстро испаряется. Позже близкая конструкция была независимо предложена в работе [46]. Этот метод успешно применяли и в последующих работах [50].

Отметим некоторые полезные модификации метода Труттера. В работе [51] для ускорения процесса «съема» подвижной фазы с конца хроматографической пластиинки предложено использовать слой угля. Применение бумажного фитиля для съема элюента с пластиинки и подачи его через щель за пределы камеры с целью последующего испарения было описано в работах [52, 53]. Для сбора подвижной фазы можно использовать и сам сорбент, располагая его толстый слой — «валик» — на краю хроматографической пластиинки [54—56].

¹ Johnson E. K., Wenning M. J., Tecklenburg R. E. J., Nurok D. J. High Resolution Chromatography and Chromatography Comms. 1986, v. 9, p. 285.

Таким образом, в методе Трутера (рис. 1, а) и его модификациях используется камера, насыщенная парами подвижной фазы, а испарение растворителя происходит за ее пределами. Поэтому скорость движения подвижной фазы вдоль пластинки в пределах камеры постоянна.

В дальнейшем получили широкое распространение камеры с небольшим объемом газовой фазы. Впервые камера этого типа была предложена Бреннером и Нидервизером специально для непрерывной тонкослойной хроматографии [57]. В дальнейшем она была существенно усовершенствована рядом исследователей [58–62]. Особого внимания, по нашему мнению, заслуживает описанная в [61, 62] оригинальная камера, отличающаяся простотой и удобством в эксплуатации.

Во втором известном варианте осуществления непрерывной ТСХ (рис. 1, б) подвижная фаза испаряется с хроматографической пластинки уже в зоне разделения и во время разделения [48, 49]. В результате частичного испарения элюента скорость движения подвижной фазы уменьшается от начала к концу пластинки. Этот отрицательный градиент скорости потока приводит к тому, что ширина зоны уменьшается (зона сжимается), а разделение улучшается, что особенно важно для анализа примесей. Однако недостатком этого интересного варианта непрерывной хроматографии является недостаточная воспроизводимость условий эксперимента, что естественно отражается и на воспроизводимости величин удерживания, эффективности и критерия разделения анализируемых соединений.

В дальнейшем был предложен и развит новый метод, основанный на интенсификации процесса испарения — так называемый метод «горячей пластинки» [63, 64]. В этом методе на пластинке создается зона повышенной температуры, в которой в результате ускоренного испарения возникает заметный градиент скорости потока подвижной фазы, приводящий к сжатию хроматографических зон.

Описанные варианты непрерывной ТСХ (метод испарения и метод горячей пластинки) целесообразно, по нашему мнению, использовать в основном для концентрирования примесей при анализе.

В практике непрерывной хроматографии чаще используют изотермический вариант.

Все рассмотренные варианты предусматривают двухстадийную схему непрерывной ТСХ. Наличие первой стадии хроматографирования и нанесение разделяемого образца на сухой сорбент значительно снижают воспроизводимость и эффективность метода непрерывной ТСХ. Помимо того, условия разделения, выбранные с помощью этого метода, достаточно сложно использовать в ВЭЖХ. Именно это явилось побудительной причиной для разработки одностадийного метода непрерывной ТСХ, в котором проба вводится непосредственно в поток подвижной фазы [65]. Важной особенностью этого метода является детектирование разделяемых компонентов, как и в ВЭЖХ, в ходе элюирования. Поэтому подробнее одностадийная непрерывная ТСХ будет рассмотрена ниже в разделе, посвященном одностадийной ТСХ с проточным детектированием.

Метод непрерывной ТСХ с вводом пробы в поток элюента часто называют проточной ТСХ [66], а двухстадийный вариант — непрерывной ТСХ. Введение в данном обзоре понятий «двух- и одностадийная непрерывная ТСХ» отражает существенные отличия этих вариантов ТСХ. Это необходимо и потому, что в литературе часто проточный вариант называют непрерывным и наоборот, хотя они, как показано выше, принципиально отличаются друг от друга.

IV. НЕПРЕРЫВНАЯ ОДНОСТАДИЙНАЯ ТСХ С ПРОТОЧНЫМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

Важной независимой стадией любого хроматографического метода является оценка результатов разделения, или стадия детектирования. В непрерывной ТСХ для определения качественного и количественного состава анализируемой смеси можно применять следующие способы:

1) сканирование (оптическое) пластинки с разделенными хроматографическими зонами (см., например, [23, 24]), 2) непрерывное измерение концентрации анализируемых соединений в движущемся элюенте на хроматографической пластинке или после нее, 3) сочетание обоих способов: для «легких» компонентов — метод детектирования в потоке подвижной фазы, а для «тяжелых» или вообще неэлюируемых в данных условиях — метод сканирования.

Первый и третий способы представляются нам более трудоемкими по сравнению со вторым, однако при решении ряда аналитических задач они являются оптимальными. В настоящее время сканирование — это наиболее распространенный метод автоматической оценки результатов разделения в ТСХ.

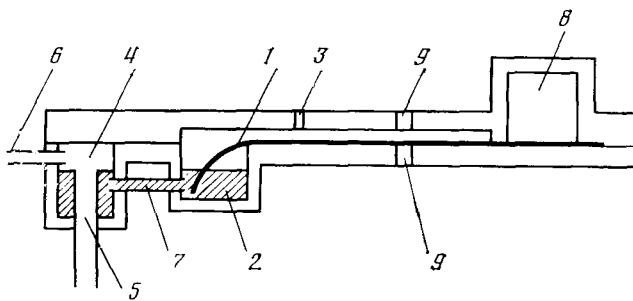


Рис. 2. Схема первого тонкослойного хроматографа [65]: 1 — пластинка для ТСХ на гибкой светопроницаемой подложке; 2 — резервуар для подвижной жидкой фазы; 3 — отверстие в покровной пластинке для введения пробы на хроматографическую пластинку; 4 — предварительная камера для подвижной фазы со сливной трубкой 5; 6 — трубка для подачи подвижной фазы; 7 — соединительная трубка; 8 — камера пониженного давления для испарения подвижной фазы; 9 — отверстия для детектирования

Реализация второго метода фактически означает создание проточного жидкостного тонкослойного хроматографа. Роль колонки в нем выполняет тонкослойная пластинка, адсорбционный слой которой открыт по крайней мере с одной стороны. Поскольку второму варианту непрерывной ТСХ в литературе уделяется, по нашему мнению, неоправданно мало внимания, хотя он позволяет существенно снизить трудоемкость ТСХ, сохранив ее традиционные преимущества, представляется целесообразным обсудить этот метод более подробно. Ранее его рассматривали только в монографии [67] и обзоре [68].

Рассмотрение метода непрерывной ТСХ с проточным детектированием в обзоре, посвященном вариантам управления подвижной фазой, объясняется тем, что метод одностадийной непрерывной (проточной) ТСХ был создан впервые именно как вариант непрерывной ТСХ с проточным детектированием. Применение проточного детектора способствовало более успешному развитию непрерывной ТСХ.

Метод проточной ТСХ первоначально был разработан с целью быстрого подбора условий эксперимента для колоночной жидкостной хроматографии [65].

Схема использованного в [65] тонкослойного хроматографа показана на рис. 2. Постоянство подачи подвижной фазы обеспечивается путем поддержания практически постоянного уровня жидкости в рабочем резервуаре 2, сообщающемся с камерой 4. Введение пробы осуществляется микропипеткой через отверстие 3 в верхней крышке. Отметим, что с целью компенсации возможных ошибок измерения хроматографическая система является двойной. Две части одной гибкой тонкослойной пластинки работают независимо: в хроматографе имеются два отверстия в верхней крышке для введения анализируемых проб и два отверстия для световодов, с помощью которых регистрируются результаты разделения. Световоды соединены с источником света, снаб-

Таблица 2

Характеристики разделения азокрасителей в условиях непрерывной ТСХ с проточным детектированием (подвижная фаза — толуол) [65]

Краситель	<i>t</i> , мин	<i>c</i> , мм	<i>N</i> , т. т.
N-этил-1-[<i>n</i> -фенилазофенил]азо]-2-нафтиламин	17,5	4,5	648
1-[<i>n</i> -бутилфенил]азо]-2-нафтол	39	10	654
1-[<i>n</i> -метоксифенил]азо]-2-нафтол	61	17	501
1-[<i>m</i> -метоксифенил]азо]-2-нафтол	90	25	506
1-[<i>o</i> -метоксифенил]азо]-2-нафтол	162	41	683

Обозначения: *t* — время удерживания, *c* — ширина зоны разделяемого компонента, *N* — число теоретических тарелок (т. т.).

женным зеленым фильтром (550 нм). В качестве приемника излучения используют фоторезистор. Отвод жидкой подвижной фазы с пластиинки осуществляется в камере 8 под вакуумом. Расстояние между местом введения пробы и областью детектирования составляет около 4 см.

На рис. 3 в качестве примера приведена хроматограмма смеси красителей, полученная на первом тонкослойном хроматографе. Параметры хроматографических зон разделяемых красителей приведены в табл. 2 [65]. Принимая во внимание, что приведенные в табл. 2 данные относятся к небольшой длине слоя (4 см), их следует рассматривать как вполне удовлетворительные. Для сравнения отметим, что колонки, использовавшиеся в начальный период развития газожидкостной хроматографии, характеризовались близкой к данной в табл. 2 эффективностью.

В работе [69] дана общая оценка метода непрерывной ТСХ с проточным детектированием. В ней показано, что непрерывно-элюентная плоскостная хроматография может быть использована для разделения как органических, так и неорганических соединений, а в качестве неподвижной плоскостной фазы можно применять не только неорганические, но и органические адсорбенты, в том числе и ионообменные. В ряде случаев в плоскостной хроматографии в качестве сорбента целесообразно использовать хроматографическую бумагу. Представляют интерес различные градиентные методы улучшения разделения, и в частности методы, основанные на использовании сорбционных слоев различной формы [70, 71].

Непрерывная плоскостная хроматография с проточным детектированием дает возможность использовать преимущества двух основных методов жидкостной хроматографии: плоскостной, для которой характерны гибкость, простота смены колонки-пластиинки, экономичность и т. д., и колоночной, обеспечивающей высокую воспроизводимость величин удерживания, высокую автоматизацию процесса и т. д.

Метод непрерывно-элюентной хроматографии с проточным детектированием может быть реализован в двух вариантах: I вариант — анализируемый образец наносят на сухой сорбционный слой и затем элюируют потоком подвижной фазы (традиционный метод нанесения пробы

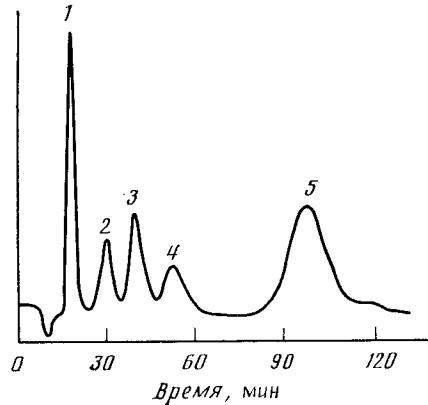


Рис. 3. Хроматограмма смеси азокрасителей, полученная на первом тонкослойном хроматографе [65]; условия разделения: неподвижная фаза — пластиинка для ТСХ «Полиграм Sil C» толщиной слоя силикагеля 0,25 мм, подвижная фаза: толуол в смеси с 2% этианола; обозначения пиков соответствуют порядковым номерам красителей в табл. 2

в ТСХ), разделенные компоненты детектируют проточным детектором; II вариант — анализируемый образец наносят на смоченный движущейся подвижной фазой сорбционный слой и разделенные компоненты детектируют проточным детектором (метод, используемый в непрерывной ТСХ [61]).

Для оценки этих вариантов введения пробы в непрерывной ТСХ были проведены две серии измерений из семи повторных разделений на одной и той же пластинке [69]. Данные по средней скорости движения азокрасителей на пластинке для ТСХ при использовании обоих вариантов, а также данные по воспроизводимости этих величин приведены в табл. 3 [69]. В качестве характеристики воспроизводимости была ис-

Таблица 3

Средние скорости движения азокрасителей (\bar{U}_a) по хроматографической пластинке и характеристика их воспроизводимости $\Phi_{\max} = \frac{\Delta U_{\max}}{\bar{U}_a} 100\%$ в условиях непрерывной ТСХ при введении анализируемого вещества на сухой слой сорбента (I вариант) и на смоченный движущимся элюентом сорбционный слой (II вариант) [69]

Сорбент (неподвижная фаза)	Азокраситель	\bar{U}_a , мм/мин				Φ_{\max} , %	
		бензол (I)	толуол (I)	бензол (II)	толуол (II)	бензол (I)	толуол (I)
Силикагель КСК+5% гипса	1	1,82	1,70	1,27	0,99	22	2
	2	0,95	0,37	0,69	0,66	20	0
	3	0,57	0,46	0,54	0,38	7	2
	4	0,42	0,32	0,41	0,28	12	2
	5	0,30	0,21	0,30	0,20	10	0
Кизельгель 60F 254	1	2,40	2,18	2,00	0,92	16	1
	2	1,72	0,71	1,33	0,42	21	1
	3	0,90	0,33	0,67	0,24	13	0
	4	0,50	0,22	0,45	0,18	8	2
	5	0,30	0,10	0,31	0,11	4	2
Силперл+5% гипса	1	3,87	2,50	2,29	2,00	13	1
	2	1,56	0,92	1,21	0,88	16	1
	3	1,04	0,58	0,89	0,51	11	0
	4	0,65	0,33	0,60	0,30	8	2
	5	0,48	0,22	0,48	0,22	6	0

Обозначения: ΔU_{\max} — наибольшее отклонение от средней скорости движения азокрасителя в серии опытов; 1 — азобензол, 2 — диметиловый желтый, 3 — *n*-метоксиазобензол, 4 — *n*-аминоазобензол, 5 — судан-3

пользована величина максимального отклонения скорости движения хроматографической зоны от ее средней величины (Φ_{\max} , %). Измерения были проведены с использованием двух подвижных фаз: бензола и толуола. Как следует из табл. 3, линейная скорость перемещения хроматографической зоны (или величина удерживания) воспроизводится при введении пробы в поток элюента (II вариант) со случайной погрешностью в 6–10 раз меньшей, чем при введении пробы на сухой слой сорбента (I вариант). Продолжительность анализа, определяемая по времени удерживания последнего компонента смеси, для обоих вариантов оказалась одинаковой, однако время удерживания легких компонентов меньше для I варианта, по-видимому, по причине большей скорости движения потока в начальный период распространения подвижной фазы по сухому сорбенту и наличию зоны ненасыщенности вблизи фронта растворителя.

Аналогичные результаты были получены при разделении аминокислот. Хроматограммы смесей красителей и аминокислот приведены на рис. 4. Изменение фоновой линии в области легких (слабо-удерживаемых) компонентов на хроматограммах *a* и *b* объясняется тем, что при введении анализируемой пробы на сухой слой сорбента по достижении фронтом подвижной фазы детектора происходит постепенное изменение сигнала в результате движения через детектор

зоны ненасыщенности с переменным содержанием элюента. При введении пробы на слой сорбента с движущимся с постоянной скоростью потоком элюента это явление, естественно, не наблюдается (хроматограммы *б* и *г*).

Поскольку при введении пробы на слой сорбента с элюентом в непрерывной ТСХ с проточным детектированием (НТСХ-ПД) процессы разделения по существу не отличаются от происходящих в колоночной хроматографии, то этот вариант ТСХ, по-видимому, является одним из наиболее рациональных способов подбора оптимальных условий раз-

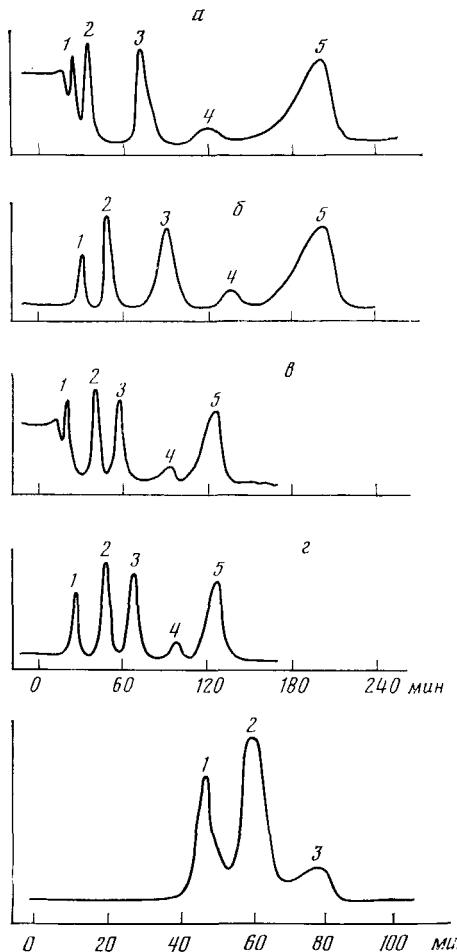


Рис. 4. Хроматограммы смесей азокрасителей и аминокислот, полученные на тонкослойном хроматографе [69]: *а* — *г* — разделение смеси пяти азокрасителей (обозначения указаны в табл. 3) на пластинах с силикагелем «Кизельгель 60F 254» фирмы «Мерк» (*а* и *б*) и «Силлерл» фирмы «Кавальер» (*в* и *г*); подвижная фаза: бензол, пробы — 600 нл, введение пробы на сухой слой сорбента (*а*, *в*) или на слой сорбента с движущимся потоком элюента (*б*, *г*); *д* — разделение смеси 4-аминосалициловой кислоты (1), триптофана (2) и гистидина (3); неподвижная фаза — силикагель «Силлерл» + 5% гипса, подвижная фаза: этанол — вода (70 : 30); введение пробы на слой сорбента с движущимся элюентом: расстояние от места ввода пробы до зоны детектирования 40 мм

деления в жидкостной колоночной хроматографии, на что впервые обратили внимание авторы [65]. Возможности НТСХ-ПД по оптимизации условий разделения на примере анализа смеси красителей показаны в работе [72]. Однако по нашему мнению, этот метод несомненно имеет и самостоятельное значение. Поэтому отметим некоторые его положительные особенности. Во-первых, НТСХ-ПД позволяет легко и просто заменять подвижную и неподвижную фазы. Во-вторых, этот метод позволяет анализировать образцы, содержащие компоненты, которые фактически не элюируются, так как периодическая смена тонкослойной пластиинки не представляет затруднений. В-третьих, метод по уровню автоматизации приближается к колоночной хроматографии.

Важно отметить, что введение пробы в поток подвижной фазы за линией фронта растворителя позволяет получить более симметричные пики [62]. Таким образом, этот способ введения пробы представляет интерес и для обычных вариантов ТСХ. НТСХ-ПД занимает промежуточное положение между двух- и одностадийным вариантами непрерыв-

ной ТСХ, так как, хотя образец вводится в поток элюента, поток этот еще не является установившимся.

Важное значение в любом инструментальном методе имеет конструкция прибора. Тонкослойный хроматограф, несколько отличающийся от первого прибора [65], описан в работе [69]. Схема этого жидкостного хроматографа приведена на рис. 5. Для удаления растворителя с хроматографической пластинки здесь применен фильтр, обдуваемый потоком воздуха, а не вакуумная камера, как в [65]. Использование фильтра для подачи растворителя на пластинку позволило сделать более

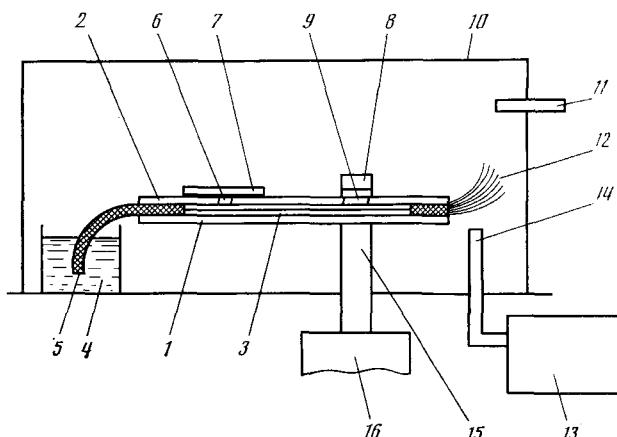


Рис. 5. Схема тонкослойного хроматографа [69]: 1 — основание (нижняя крышка) камеры для тонкослойной пластинки, 2 — верхняя крышка камеры, 3 — пластинка с сорбционным слоем, 4 — емкость для подвижной фазы, 5 — бумажный фильтр, 6 — окошко для введения анализируемой пробы, 7 — крышка, 8 — радиолюминесцентный источник света, 9 — щелевая диафрагма, 10 — светонепроницаемый кожух, 11 — трубка для отвода воздуха с парами подвижной фазы, 12 — фильтр для испарения подвижной фазы, 13 — воздушный микропомпессор, 14 — трубопровод для подачи воздуха, 15 — световод, 16 — фотоэлектронный умножитель

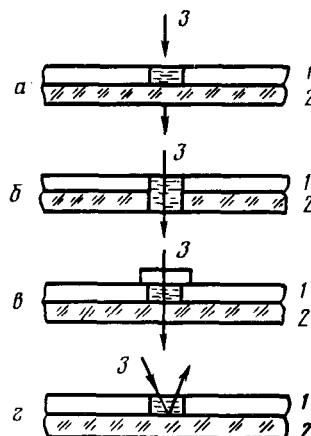
разнообразными типы пластинок, которые могут применяться в тонкослойном хроматографе. В частности, в этом приборе могут быть применены пластиинки на твердой подложке. Использование радиолюминесцентного источника света [73] позволило упростить конструкцию, а применение источников с различными максимумами в спектрах излучения — расширить область применения спектрального детектора. В качестве материала подложки для адсорбционного слоя используют не только стеклянные, но и кварцевые пластиинки, что создает возможность измерения в ультрафиолетовой области спектра [69]. Другие решения описаны в [74]. Они основаны на использовании небольшого отверстия в сорбционном, обычно непрозрачном, слое пластиинки в качестве оптической микрокюветы детектора, где и происходит измерение концентрации разделяемых соединений в потоке подвижной фазы. Заполнение этого отверстия подвижной фазой не вызывает заметного искажения хроматографических зон разделяемых компонентов. На рис. 6 показаны возможные типы микрокювет в тонкослойной хроматографической пластиинке [74]. Применение микрокювет повышает чувствительность определения в 1,5—10 раз по сравнению с вариантами, в которых на пути измеряемого излучения находится тонкий слой сорбента [75]. Диаметр микрокюветы не превышает 1—3 мм. В [75] отмечается также возможность использования микрокювет для электрохимического детектирования разделяемых соединений.

Эффективность разделения при использовании пластиинок с толщиной слоя 0,4 мм и рабочей длиной слоя 100 мм, приготовленных в лаборатории, для судана составляла $N=700$ т. т. Использование пластиинки фирмы «Мерк» для высокоеффективной ТСХ позволило увеличить эф-

фективность до 3450 т. т. (при рабочей длине слоя 60 мм) [69]. Это существенно больше величины, полученной в работе [65].

Интересным и перспективным направлением развития проточной ТСХ является использование ее для разделения различных соединений с применением подвижных фаз, состоящих из двух и более компонентов. При хроматографировании в режиме одностадийной непрерывной ТСХ «расслоение» компонентов подвижной фазы, в отличие от традиционной ТСХ [21], маловероятно. Это позволяет применять для разделения различных объектов сложные подвижные фазы [72, 76, 77],

Рис. 6. Типы оптических проточных микрокювет в пластиинке для ТСХ [74]: *а* — микрокювета в сорбционном слое, *б* — микрокювета в сорбционном слое и подложке, *в* — открытая микрокювета в сорбционном слое, *г* — микрокювета в сорбционном слое, нанесенном на подложку с отражающей поверхностью; *1* — сорбционный слой, *2* — подложка, *3* — направление потока излучения



а также проводить разделение в режиме градиентного элюирования [78]. Подробнее методика и теория проведения непрерывного ТСХ разделения с использованием многокомпонентных подвижных фаз описаны в недавно вышедшей работе². В этой работе также показано, что данные по разделению, полученные методом непрерывной ТСХ, хорошо согласуются с результатами разделения методом ВЭЖХ и, следовательно, их целесообразно использовать для оптимизации условий разделения в ВЭЖХ.

Метод НТСХ-ПД может быть успешно использован для оценки разделительных свойств порошков сорбентов [79], что открывает еще одну принципиальную возможность применения ТСХ при проведении физико-химических измерений.

Анализируя перспективы развития непрерывной ТСХ с проточным детектированием, по нашему мнению, следует обратить внимание на возможность использования для осуществления НТСХ-ПД незначительно модифицированного стандартного оборудования, например хроматографа с *U*-камерой [80], а также детекторов, основанных на использовании лазер-возбужденной флюoresценции [81], фотоионизации [82], фотоакустической спектроскопии [83] и т. д.

V. НЕПРЕРЫВНАЯ ТСХ С ДВИЖУЩИМСЯ ЗАКРЕПЛЕННЫМ СЛОЕМ СОРБЕНТА

Для увеличения эффективности разделения в единицу времени, как известно [29, 32, 84], повышают скорость элюирования и увеличивают расстояние, на котором происходит разделение. Высоких скоростей движения подвижной фазы в непрерывной ТСХ можно достичь, сокращая зону элюирования [37], что в свою очередь снижает общее число эффективных теоретических тарелок. Осуществление разделения в непрерывной ТСХ с использованием зоны элюирования большой длины приводит к значительному падению скорости движения элюента и, как следствие, к существенному уменьшению удельной эффективности.

Интересное решение проблемы повышения удельной и общей эффек-

² Soczewiński E. In: Planar Chromatography, v. 1/Ed. by Kaiser R. E. Heidelberg: Huethig, 1986, p. 79.

тивности путем увеличения скорости элюирования при одновременном увеличении расстояния, которое проходят разделяемые компоненты в ходе анализа, в режиме непрерывной ТСХ было предложено авторами работы [85]. Они разработали метод, в котором бесконечная лента с нанесенным на нее сорбентом перемещается в сторону, противоположную направлению движения элюируемых веществ. Этот метод получил название барабанной ТСХ [85]. Он основан на том, что в ходе элюирования расстояние между фронтом подвижной фазы и местом ее подачи остается неизменным. Поддерживая это расстояние минимально возможным, достигают высоких скоростей элюирования. Разделение в барабанной ТСХ проводят следующим образом. Пластиинку на гибкой основе прикрепляют к цилинду, наносят на нее разделяемый образец и затем опускают цилиндр в элюент так, чтобы образец находился выше зеркала элюента. По достижении фронтом подвижной фазы линии испарения барабан приводят во вращательное движение против направления перемещения элюента со скоростью, которая равна скорости фронтального перемещения, но имеет обратный знак. Таким образом, разделительный слой перемещается относительно пятна, линий погружения и выпаривания (фрона) с одинаковой скоростью. Следовательно, разделяемые компоненты могут элюироваться через сорбционный слой любой длины с достаточно высокой скоростью. Авторы [85] показали, что метод барабанной ТСХ является более эффективным и менее продолжительным по времени анализа, чем традиционная и обычная непрерывная ТСХ, а также превосходит по эффективности метод центрифужной ТСХ.

Однако барабанная ТСХ, обладая высокой эффективностью и экспрессностью разделения, имеет ряд ограничений. Во-первых, этот метод позволяет разделять только вещества, мало отличающиеся по величинам R_f . Во-вторых, поддерживать необходимую скорость вращения барабана при разделении бесцветных веществ довольно сложно. Тем не менее, этот метод, мало пригодный для разделения многокомпонентных смесей, состоящих из веществ с сильно различающимися величинами R_f , может оказаться весьма эффективным при разделении и анализе веществ с близкими свойствами, например оптических изомеров.

Принцип, аналогичный использованному в барабанной ТСХ, был применен в методе трехкамерной ТСХ [86]. В этом случае хроматографирование осуществляют на длинной замкнутой полоске фольги, покрытой тонким слоем сорбента. Фольга, перемещаясь, поступает в состоящее из трех стеклянных камер устройство для элюирования (рис. 7).

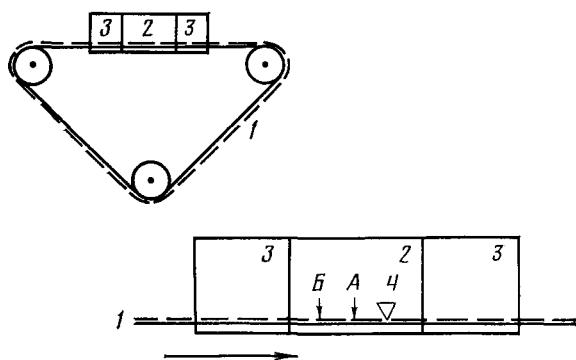


Рис. 7. Схема трехкамерной ТСХ [86]: 1 — фольга с хроматографическим слоем, 2 — основная камера, 3 — боковые камеры, 4 — желобок для подвода растворителя; А и Б — разделяемые вещества

Разделение происходит в средней камере. Две другие служат для испарения растворителя из слоя сорбента. Скорость перемещения фольги с адсорбентом регулируется с помощью электромотора, соединенного с валиками. Разделяемую смесь наносят на сорбент и помещают в сред-

нюю камеру, в которую затем подают элюент. При хроматографировании скорость движения ленты должна быть такой, чтобы определяемый компонент находился все время на одинаковом расстоянии от фронта элюента. По окончании хроматографирования увеличивают скорость движения хроматограммы и последовательно перемещают все разделенные компоненты на противоположную от места подачи элюента сторону. После высушивания каждой из хроматографических зон получают очень четкое разделение образца на сравнительно небольшом расстоянии.

Метод, сходный с барабанной ТСХ, описан в работе [87]. В этом методе пленка со слоем сорбента перематывается с одной катушки на находящуюся под ней другую катушку. Последняя, как и в барабанной ТСХ, погружена в резервуар с элюентом. В данном случае участок разделения значительно превосходит по длине окружность цилиндра в барабанной ТСХ. Авторы [87] проводили разделение на участках сорбционного слоя различной длины.

Следует заметить, что рассмотренные здесь методы непрерывной ТСХ являются вариантами элюентной хроматографии со слоем сорбента, движущимся относительно точки подачи элюента [88, 89].

VI. ЦЕНТРИФУЖНАЯ ТСХ

Центрифужная хроматография, впервые предложенная [90] как вариант бумажной хроматографии, впоследствии получила применение в ТСХ [91, 92]. Этот метод реализуется в двух вариантах: линейном и радиальном [85]. В радиальном, или круговом, варианте центрифужной ТСХ хроматографическая система вращается вокруг своей оси, так, что движение подвижной фазы ускоряется под действием центробежных сил, как и в линейном варианте. В случае радиальной центрифужной ТСХ подвижную фазу подают в центр круговой сорбционной системы. Расход подвижной фазы можно регулировать микронасосом. Центробежные силы, по мнению авторов [85], играют ту же роль, что и давление в ВЭЖХ.

В случае линейной центрифужной ТСХ величина, эквивалентная давлению в ВЭЖХ, может быть выражена зависимостью [85]:

$$P = \rho \omega^2 Z_f^2 / 2 \quad (2)$$

где ρ — плотность подвижной фазы, ω — угловая скорость вращения пластины и Z_f — расстояние от места подачи до фронта подвижной фазы.

На основании изложенного центрифужную ТСХ можно отнести к методам ТСХ с управляемым принудительным потоком. Стабилизация потока осуществляется применением режима непрерывной ТСХ, а скорость элюирования регулируется скоростью вращения подложки. Заметим, что скорость элюирования прямо пропорциональна квадрату угловой скорости вращения [85].

Подробный критический обзор по центрифужной хроматографии [93], написанный в 1964 г., не утратил своего значения и сегодня. Авторы [4] считают, что экономия времени при элюировании тонкослойных хроматограмм методом центрифужной ТСХ не очень велика. С этим мнением нельзя полностью согласиться. Для проведения очень длительных разделений этот метод несомненно экономически оправдан, и он продолжает использоваться в аналитической практике и в последние годы: обращенно-фазная центрифужная ТСХ успешно применялась для разделения полярных соединений растительного происхождения³, ионообменный вариант центрифужной ТСХ был использован для определения Fe, Co, Ni, Cu, Hg и других металлов⁴. Различные аспекты применения центрифужной ТСХ обсуждаются в работах [94—96]. Воз-

³ Orsini F., Verotta L. J. Chromatogr. 1985, v. 349, p. 69.

⁴ Song Yirong, Yin Bohai. Xibei Daxue Xuebao, Ziran Kexueban, 1985, v. 15, № 2, p. 56; C. A., 1986, v. 104, 179, 193.

можности центрифужной ТСХ для препаративного разделения продемонстрированы авторами работы [97]. Они показали, что удельная нагрузка пробой в этом методе может составлять для одного соединения от 10 до 1000 мг на 1 мм толщины адсорбционного слоя. Результаты детального исследования, проведенного в работе [97], представляют интерес не только для препаративной, но и для аналитической хроматографии. На рис. 8 [97] приведена зависимость времени разделения от общей скорости подвижной фазы. Как следует из приведенных данных, увеличение скорости подвижной фазы приводит к существенному

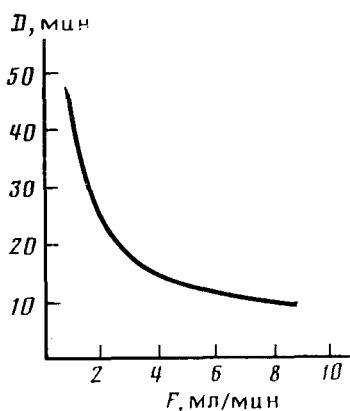


Рис. 8

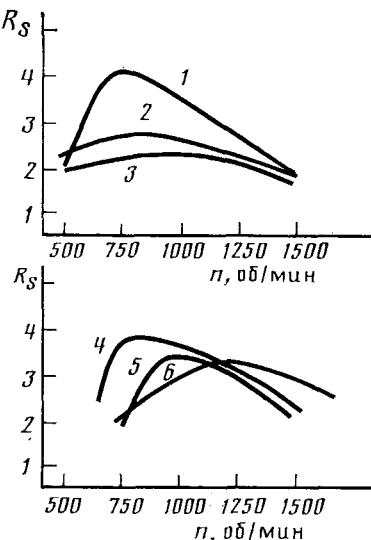


Рис. 9

Рис. 8. Зависимость продолжительности разделения (D) от объемной скорости подвижной фазы (F); условия эксперимента: неподвижная фаза: силикагель 60 с 1,5% акрионаля, подвижная фаза: гексан — этилацетат (80 : 20), скорость вращения 750 об/мин [97]

Рис. 9. Зависимость критерия разделения (R_s) для гидразоновых красителей от скорости вращения хроматографической системы (n), [97]; условия эксперимента: неподвижная фаза — силикагель 60 с 1,5% акрионаля, подвижная фаза: гексан — этилацетат (80 : 20), объемная скорость подачи подвижной фазы в хроматографическую систему, мл/мин: 1 — 3,5; 2 — 2,1; 3 — 1,1; 4 — 5,2; 5 — 7,1; 6 — 8,8

сокращению продолжительности хроматографического процесса, которое является особенно резким в области малых скоростей. На рис. 9 [97] приведена зависимость критерия разделения гидразонов (красителей) от объемной скорости подачи подвижной фазы и скорости вращения хроматографической системы. Максимальное разрешение при средней скорости подвижной фазы (5,2—3,5 мл/мин) достигалось в области относительно малых скоростей вращения хроматографической системы (~ 750 об/мин).

Проводя сравнение препаративной центрифужной ТСХ с традиционной препаративной ТСХ и колоночной хроматографией, авторы [97] приходят к обоснованному выводу о том, что данный метод имеет определенные преимущества.

Следует обратить внимание на появление в последнее время нескольких новых методов и вариантов аппаратурного оформления центрифужной ТСХ [98—100]. В работе [98] описан новый метод плоскостной препаративной хроматографии — последовательная центрифужнослойная хроматография (ПЦСХ). По мнению авторов метода, он объединяет достоинства препаративной и аналитической центрифужной, антирадиальной и последовательной ТСХ. Аппаратура для ПЦСХ позволяет проводить круговое хроматографирование с центрифугированием при различных скоростях вращения. Подача элюента в любую точку пластины дает возможность дополнительно разделять отдельные компонен-

ты, используя индивидуальные подвижные фазы. Кроме того, имеется возможность проводить антирадиальное хроматографирование под действием капиллярных сил. Таким образом, метод ПЦСХ, фактически являющийся гибридным, расширяет возможности центрифужной ТСХ.

Новый центрифужный противоточный хроматограф для распределительной хроматографии предложен японскими исследователями [99]. С его помощью было проведено экспрессное препаративное разделение ряда смесей аминокислот, сахаров и насыщенных жирных кислот.

Возможности центрифужной ТСХ для существенного увеличения скорости движения подвижной фазы в ВЭТСХ продемонстрированы в работе [101]. Показано, что результаты, получаемые при трехминутном разделении с центрифугированием, эквивалентны 12-минутному разделению при помощи обычной круговой ТСХ.

Метод центрифужной бумажной хроматографии, его возможности и перспективы развития рассмотрены в обзоре [102].

Возможности достижения высоких скоростей движения подвижной фазы в методе центрифужной хроматографии ограничены. По мнению авторов [85], использование скоростей вращения, при которых создаются давления выше 1 атм (см. уравнение (2)), вызовет разрыв столбика растворителя и смешение воздуха с растворителем в точке его ввода. Еще одно ограничение связано с применением в центрифужной хроматографии открытого слоя сорбента: возрастание сопротивления слоя сорбента по мере увеличения скорости элюирования может привести к «переливанию» элюента через сорбент. Именно поэтому центрифужная хроматография не позволяет достигать тех же скоростей движения подвижной фазы, что и в ВЭЖХ.

VII. ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ ПОД ДАВЛЕНИЕМ

Наиболее простой, эффективный и традиционный способ достижения достаточно высокой скорости потока подвижной фазы через слой сорбента — это создание избыточного давления в начале сорбционного слоя. Однако для реализации этого метода необходимо использовать закрытый слой. Такое решение для ТСХ было предложено в 1977 г. венгерскими исследователями [35]. Фактически это вариант тонкослойной колоночной жидкостной хроматографии, так как колонка содержит тонкий слой сорбента. Тонкослойные пластины с закрытым слоем были известны в плоскостной хроматографии и ранее (см., например, [103—105]), однако они не получили распространения в жидкостной хроматографии.

Схема простого и оригинального прибора [35, 106, 107] для осуществления ТСХ под давлением показана на рис. 10. Особенностью

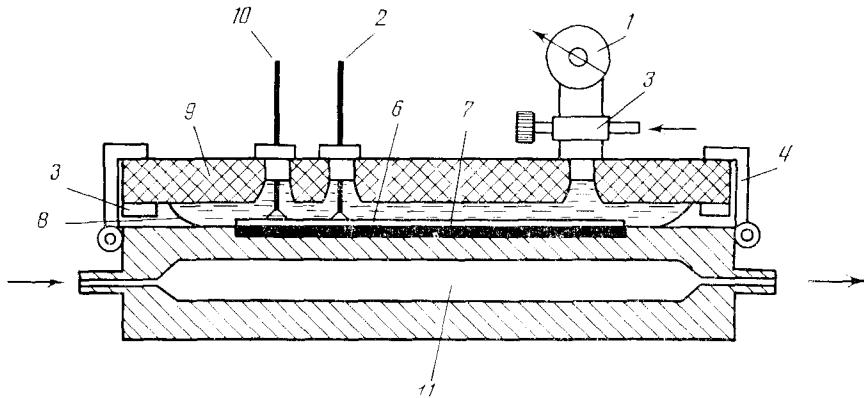


Рис. 10. Схема прибора для ТСХ под давлением [106]: 1 — манометр, 2 — устройство для введения анализируемого образца под давлением, 3 — ввод для газа или жидкости, 4 — скободержатели, 5 — уплотняющая прокладка, 6 — слой сорбента, 7 — стеклянная или пластиковая подложка, 8 — полимерная мембрана, 9 — крышка из прозрачного материала, 10 — устройство для ввода подвижной фазы, 11 — устройство для термостатирования

ет отметить, что в приборе можно применять стандартные пластинки любого типа. Нижней стенкой плоской колонки является подложка хроматографической пластинки, а в качестве верхней стенки используют полимерную пленку-мембрану 8, которая под давлением газа или жидкости плотно прижимается к адсорбционному слою 6 пластинки 7. Давление на входе в плоскую хроматографическую колонку естественно должно быть ниже внешнего давления, используемого для прижимания полимерной пленки к адсорбционному слою с целью образования закрытой хроматографической системы — «колонки». Из-за краевых эффектов, которые в условиях повышенного давления существенно нарушают фронт подвижной фазы и дезорганизуют поток растворителя, при реализации метода линейной ТСХ-Д необходимо либо использовать специальные пластинки с сорбционным слоем на основе силикагеля, окиси алюминия или талька [108], либо наносить на края стандартных пластинок инертный по отношению к данной подвижной фазе материал. В качестве такого материала применяют парафин или разнообразные пластические вещества. На рис. 11 показаны пластинки для ТСХ-Д. Для образования линейного фронта подвижной фазы над адсорбционным

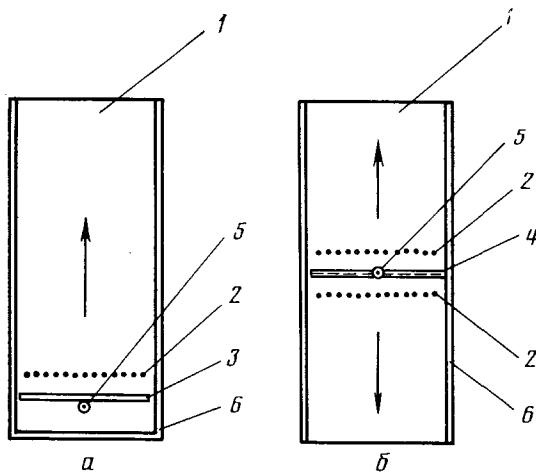


Рис. 11. Линейное элюирование в одном направлении (а) и в двух противоположных направлениях (б) в ТСХ-Д [109]: 1 — хроматографическая пластинка, 2 — область нанесения на слой анализируемых проб, 3 — капиллярный канал в адсорбционном слое для организации линейного фронта подвижной фазы, 4 — вставка с капиллярным каналом для подвижной фазы, 5 — ввод элюента, 6 — край, импрегнированный инертным материалом

слоем пластинки для ТСХ размещают вставку с каналом, соединенным с отверстием, через которое в плоскую хроматографическую систему подают растворитель. Канал можно создать и непосредственно в адсорбционном слое, удалив часть сорбента [109]. В условиях повышенного давления растворитель очень быстро заполняет капиллярный канал, который становится, таким образом, линейным источником растворителя и выполняет в ТСХ-Д фактически роль ванночки с подвижной фазой, используемой в обычной ТСХ. На рис. 11 показаны два варианта осуществления линейной ТСХ на стандартных пластинках: а — элюирование в одном направлении, б — элюирование в двух противоположных направлениях. Посредством ТСХ-Д можно проводить двумерное разделение [110], которое, как известно, характеризуется наибольшей, по сравнению с другими методами ТСХ, пиковой емкостью.

В методе ТСХ-Д могут успешно применяться и другие варианты традиционной ТСХ, отличающиеся формой сорбционного слоя: треугольная [71], антикруговая [111] и круговая [23]. Использование круговой хроматографии в этом варианте ТСХ описано, например, в работах [107, 109, 112]. Практически реализовать этот вариант ТСХ-Д, по-видимому, наиболее просто, так как при этом отпадает необходимость покрывать края пластинки каким-либо материалом. Анализируемые пробы обычно наносят на пластинку предварительно, до ее помещения в прибор ТСХ-Д. Работы [113—116] посвящены вопросам оптимизации режима работы в ТСХ-Д. По мнению авторов [116] оптимальная линейная скорость движения подвижной фазы зависит от размера

частиц сорбционного слоя и лежит в интервале $0,10 \div 0,28$ мм/с. Последующее развитие метод ТСХ-Д получил в работах [117—120].

Закономерности движения фронта подвижной фазы в ТСХ-Д отличны от известных в традиционной ТСХ, для которой выполняется квадратичный закон [9, 22—25] (см. уравнение (1)), а вблизи фронта имеется зона ненасыщенности [7, 27]. Как было установлено (см., например, [109]), для линейной ТСХ-Д справедливо следующее уравнение:

$$Z_f = k_{\text{TCX-D}} t \quad (3)$$

где Z_f — расстояние фронта растворителя от линии введения подвижной фазы, t — время, $k_{\text{TCX-D}}$ — постоянная. Эта закономерность выполняется при следующих условиях: 1) объемная скорость подачи подвижной фазы в хроматографическую систему (F) есть величина постоянная, 2) слой сорбента регулярно упакован, его ширина — b , толщина — d , а доля свободного объема — β . Время t , за которое фронт подвижной фазы переместится на расстояние Z_f , определяется соотношением:

$$t = (Z_f b d \beta) / F$$

откуда

$$Z_f = (F / b d \beta) t \quad (4)$$

Из уравнений (3) и (4) вытекает:

$$U_f = k_{\text{TCX-D}} = F / b d \beta$$

где U_f — линейная скорость фронта.

Зная параметры сорбционного слоя b , d и β , а также объемную скорость подачи подвижной фазы в систему, можно определить линейную скорость подачи подвижной фазы.

Для круговой ТСХ-Д на основании уравнений материального баланса можно записать следующие соотношения:

$$t = \pi Z_{f-r}^2 d \beta / F$$

где Z_{f-r} — радиус фронта подвижной фазы на хроматограмме.

$$\begin{aligned} Z_{f-r} &= \left(\frac{F t}{\pi d \beta} \right)^{\frac{1}{2}} \\ U_{f-r} &= \frac{d Z_{f-r}}{d t} = \frac{1}{2} \left(\frac{F}{\pi d \beta t} \right)^{\frac{1}{2}} \end{aligned} \quad (5)$$

или

$$U_{f-r} = \frac{1}{2} \frac{F}{\pi d \beta Z_{f-r}}$$

Таким образом, линейная скорость жидкой подвижной фазы в условиях круговой ТСХ-Д обратно пропорциональна величине Z_{f-r} . Следовательно, в этих условиях линейная скорость элюента непостоянна, она уменьшается с удалением точки измерения от места введения подвижной фазы. Однако известно, что эффективность хроматографической системы, характеризуемая высотой, эквивалентной теоретической тарелке (ВЭТТ), существенно зависит от линейной скорости подвижной фазы, причем эта зависимость имеет резкий оптимум. В качестве примера приведем зависимость ВЭТТ от линейной скорости подвижной фазы (см. рис. 12). Как следует из рис. 12, ВЭТТ достаточно резко зависит от линейной скорости подвижной фазы. Поэтому представляется целесообразным осуществлять и в круговой хроматографии хроматографическое разделение при постоянной линейной скорости. Реализовать это условие можно путем программирования скорости потока элюента.

В связи с тем, что скорость подвижной фазы в известных вариантах круговой ТСХ-Д уменьшается по мере продвижения ее фронта, ВЭТТ увеличивается. В качестве примера на рис. 13 приведены данные

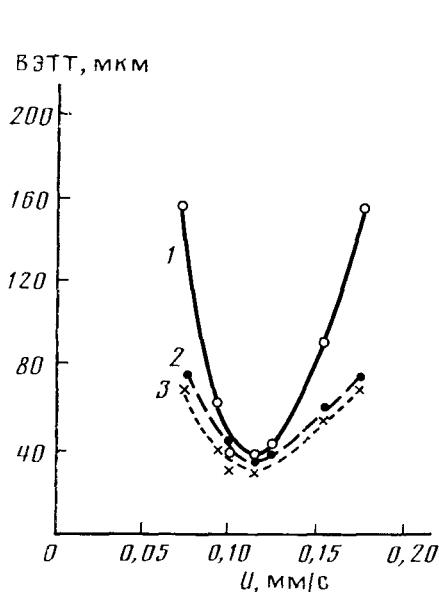


Рис. 12

Рис. 12. Зависимость ВЭТТ от линейной скорости подвижной фазы (U) [131]; неподвижная фаза — пластинка 200×200 мм (Fixion 50×8), подвижная фаза: натрий лимоннокислый буфер, рН 4,2; 1 — аргинин, 2 — лизин, 3 — гистидин

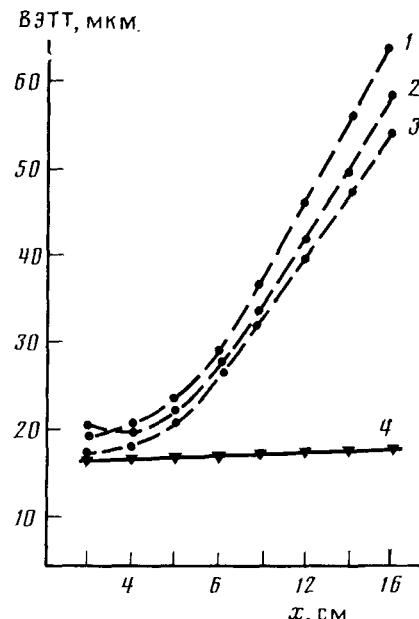


Рис. 13

Рис. 13. Зависимость ВЭТТ от расстояния, пройденного фронтом подвижной фазы (x) [126], в условиях традиционной ТСХ (1—3) и ТСХ-Д (4): 1 — иенасыщенная камера, 2 — ультрамикрокамера, 3 — насыщенная камера; условия эксперимента: неподвижная фаза — силикагель 60, диаметр зерна 5 мкм, подвижная фаза: метиленхлорид, сорбат — краситель масляный желтый

по изменению ВЭТТ в зависимости от расстояния, на которое продвинулся фронт подвижной фазы. Как видно, в случае линейной ТСХ-Д эффективность практически не изменяется, но она резко падает при использовании традиционных для ТСХ методов элюирования. Следует отметить, что максимальная эффективность также достигается в случае линейной ТСХ-Д.

На рис. 14 приведены две денситограммы (хроматограммы) смеси соединений, применяемых в качестве допингов [121]. Методом ТСХ-Д (рис. 14, а) все соединения удовлетворительно разделяются за 25 мин; при использовании традиционной ТСХ (рис. 14, б) некоторые соединения вообще не удается разделить (например, соединения 2 и 3, 5 и 6), а другие разделяются неудовлетворительно (например, соединения 3 и 4, 7 и 6), причем время разделения составляет 95 мин (почти в 4 раза больше, чем в ТСХ-Д).

Метод ТСХ-Д не имеет каких-либо ограничений по типу анализируемых соединений, он используется для разделения соединений различных классов: аминокислот и их производных [122—124], афлатоксинов B_1 , B_2 , C_1 , C_2 , M_1 [125], красителей [126], органических кислот и их производных [127]. Этот метод применяют в обращеннофазной [128—130] и ионообменной ТСХ [131], используют в фитохимии [132]. Некоторые классы разделяемых соединений и используемые для разделения системы подвижных фаз приведены в табл. 4. Возможности метода ТСХ-Д обсуждались также в работах [133—142].

Отличный от реализованного венгерскими исследователями [106, 107] вариант осуществления ТСХ-Д был недавно предложен авторами работы [143]. В этом случае [143] пластина располагается на термостатируемом основании сорбционным слоем вниз и придавливается к нему при последовательном наложении сверху на подложку пластины слоя силиконовой резины и термостатируемого покрытия с использова-

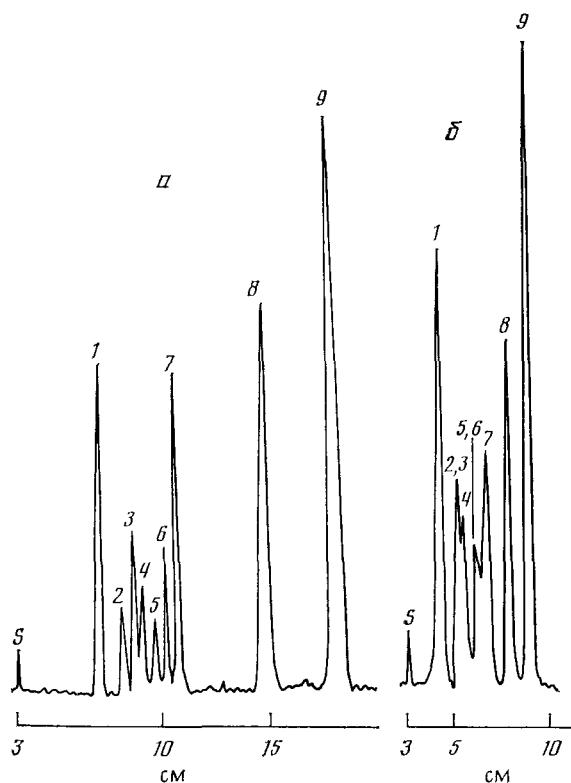


Рис. 14. Резделение допинговых соединений методами ТСХ-Д (а) и традиционной ТСХ (б) [121]. 1 — стрихнин, 2 — эфедрин, 3 — мефамфетамин, 4 — фенметразин, 5 — метилфенидат, 6 — амфетамин, 7 — дезопион, 8 — корамин, 9 — кофеин, S — старт; неподвижная фаза — силикагель 60 «Мерк», подвижная фаза: *n*-бутанол — хлороформ — метилэтилкетон — вода — уксусная кислота (25 : 17 : 8 : 4 : 6), скорость (для ТСХ-Д) — 0,85 см/мин

нием пресса, развивающего усилие до 20 т. Элюент подается снизу на сорбционный слой в центр пластины или на ее периферию. В первом случае реализуется круговой вариант ТСХ-Д, а во втором — антирадиальный. Элюент поступает из сосуда, в котором путем подачи в него инертного газа при высоком давлении создается избыточное давление.

Таблица 4

Некоторые примеры практического использования тонкослойной хроматографии под давлением [108]

Анализируемые соединения	Подвижная фаза
Эфирное масло	метиленхлорид или бензол
Липофильные красители	метиленхлорид
Кортикоиды	нитрометан
Желчные кислоты и их производные	этилацетат
Алкалоиды спорыни	ацетонитрил
Динитрофенилгидразоны алифатических альдегидов	дизопропиловый эфир
Эфирное масло	бензол — этилацетат (98 : 2)
Аддукты димедона с алифатическими альдегидами	хлороформ — этилацетат (95 : 5)
Аминокислоты нуклеиновых оснований, нуклеозиды	<i>n</i> -бутиловый спирт — ледяная уксусная кислота — вода (4 : 1 : 1)
Алкалоиды мака	смеси ацетонитрил — вода
Глюкозиды паперстянки	смеси ацетонитрил — вода
Динитрофенилгидразоны алифатических альдегидов	смеси метанол — вода, ацетонитрил — вода

Основным достоинством данного варианта устройства для осуществления ТСХ-Д является возможность относительно простой реализации антирадиальной ТСХ-Д.

Большой опыт, накопленный в процессе разработки и изучения возможностей метода ТСХ-Д, позволяет рекомендовать его для широкого применения. В настоящее время венгерскими специалистами наложен выпуск серийных приборов для ТСХ-Д [108, 114, 136, 140].

Рассматривая перспективы метода ТСХ-Д, нам хотелось бы обратить внимание на целесообразность применения его варианта с проточным детектированием. При использовании этого метода для пропартивного разделения имеет смысл использование одного детектора, расположенного за сорбционным слоем. Отметим, что нам неизвестны работы, в которых давалась оценка возможностей метода ТСХ-Д по пропартивному разделению, хотя этот аспект его практического использования представляет большой интерес.

Для аналитического разделения перспективным является вариант непрерывной ТСХ-Д с серией независимых детекторов, в котором хроматографическая пластина выступает как набор параллельно расположенных индивидуальных колонок для одновременного и независимого разделения ряда проб.

ЛИТЕРАТУРА

1. Измайлов Н. А., Шрайбер М. С. Фармация, 1938, № 3, с. 1.
2. Кубардин С. А., Макаров К. А. Тонкослойная хроматография в органической химии. М.: Химия, 1978.
3. Волынец М. П. Тонкослойная хроматография в неорганическом анализе. М.: Наука, 1974.
4. Chromatographia na Tenkých Vrstvách vo Farmácií a v Klinickej Biochémii/Ed. by Sarsunova M., Schwarz V., Michalec G. Bratislava: Osvela, 1977.
5. Buerheim-Svendsen A., Verpoorte R. J. of Chromatogr. Library, v. 23A: Chromatography of Alkaloids, Pt. A: Thin-layer Chromatography. Elsevier, 1983.
6. Thin-Layer Chromatography: Quantitative Environmental and Clinical Applications/Ed. by Touchstone J. C., Rogers D. Wiley Intersci. Publ., 1980.
7. Chromatographic Analysis of the Environment/Ed. by Grob R. L. N. Y.: M. Dekker, 1975.
8. Беленький Б. Г., Виленчик Л. З. Хроматография полимеров. М.: Химия, 1978.
9. Geiss F. Die Parameter der Dünnenschicht-Chromatographie. Braunschweig: Vieweg, 1972.
10. Kirchner J. G. Thin-Layer Chromatography. N. Y.: Wiley Intersci. Publ., 1978.
11. Perry J. A. J. Chromatogr., 1979, v. 165, p. 117.
12. Issaq H. J. J. Liq. Chromatogr., 1981, v. 4, p. 955.
13. Scott R. M. Ibid., 1981, v. 4, p. 2147.
14. Gasparič J., Churáček J. Laboratory Handbook of Paper and Thin-Layer Chromatography. N. Y.: Wiley Intersci. Publ. 1978.
15. Burkert W. G., Owensby C. N., Hinze W. L. J. Liq. Chromatogr. 1981, v. 4, p. 1065.
16. Zakaria M., Gonnord M. F., Guiochon G. J. Chromatogr., 1983, v. 271, p. 127.
17. Хара Сёдзи. Гэндай кагаку (Chem. Today), 1983, № 142, p. 48; РЖХим, 1983, 18717.
18. Ritter W. Anal. Proc., 1984, v. 21, № 11, p. 430.
19. Glendhill B. Lab. Equip. Dig., 1983, v. 21, № 11, p. 73.
20. Jupille T. H. Crit. Rev. in Analyt. Chem., 1977, v. 6, p. 325.
21. Wawrzynowicz T., Soczewiński E. J. Chromatogr., 1979, v. 169, p. 191.
22. Stahl E. Dünnenschicht-Chromatographie. Ein Laboratoriums Handbuch. Berlin — Heidelberg — N. Y., 1967.
23. HPTLC — High Performance Thin-Layer Chromatography/Ed. by Zlatkis A., Kaiser R. E. Amsterdam: Elsevier, 1977.
24. Touchstone J. C., Dobbins M. F. Practice of Thin-Layer Chromatography. N. Y.: Wiley Intersci. Publ., 1978.
25. Ruoff A., Steward G., Shin H., Giddings J. Kolloid. Z., 1960, B. 173, S. 14.
26. Berezhkin V. G., Bolotov S. L. J. High Resolution Chromatography and Chromatography Commun., 1981, v. 4, p. 398.
27. Березкин В. Г., Рейфман Л. С., Чечевичкин В. Н., Юркевич А. А. Журн. аналит. химии, 1984, т. 39, с. 1404.
28. Stewart G. H., Gierke T. D. J. Chromatogr. Sci., 1970, v. 8, p. 129.
29. Guiochon G., Bressolle F., Siouffi A. Ibid. 1979, v. 17, p. 368.
30. Frey H.-P., Ackermann G. Talanta, 1983, v. 30, p. 101.
31. Родионова Р. А., Векслер М. А., Арзамасцев А. П. Хим.-фармацевт. журн., 1983, т. 17, с. 375.
32. Виленчик Л. З., Куренбин О. И., Беленький Б. Г. Журн. физ. химии, 1984, т. 58, с. 3019.

33. Szekely G., Delly R. *Chimia*, 1978, v. 32, p. 261.

34. Kalász H. *Chromatographia*, 1984, v. 18, p. 628.

35. Tyihák E., Kalász H., Mincsóvics E., Nagy J. *Proc. XVII Hung. Annu. Meet. Biochem.*, 1977, v. 17, p. 183.

36. Lapp C., Erali K. *Bull. Sci. Pharmacol.*, 1940, v. 47, p. 49.

37. Guiochon G., Siouffi A. J. *Chromatogr. Sci.*, 1978, v. 16, p. 598.

38. Martin A. J. *P. Disc. Faraday Soc.*, 1949, v. 7, p. 332.

39. Solms J. *Helv. Chim. Acta*, 1955, v. 38, p. 1127.

40. Mottier M., Potterat M. *Anal. Chim. Acta*, 1955, v. 13, p. 46.

41. Stanley W. L., Vannier S. H. *J. Assoc. Agric. Chem.*, 1957, v. 40, p. 582.

42. Mistryukov E. A. *J. Chromatogr.*, 1962, v. 9, p. 311.

43. Seikel M. K., Millett M. A., Saeman J. F. *Ibid.*, 1964, v. 15, p. 115.

44. Goedel L., Zimmerman W., Lommer P. Z. *Physiol. Chem.*, 1963, B. 333, S. 35.

45. Truter E. V. *J. Chromatogr.*, 1964, v. 14, p. 57.

46. Van Den Eijnden D. H. *Analyst. Biochem.*, 1974, v. 57, p. 321.

47. Truter E. V. *Adv. Chromatogr.*, 1965, v. 1, p. 113.

48. Stewart G. H., Gierke T. D. J. *Chromatogr. Sci.*, 1970, v. 8, p. 129.

49. Stewart G. H., Wendel C. T. *Ibid.*, 1975, v. 13, p. 105.

50. Smith S. L., Bishara R. H., Drummond G. E. *J. Liq. Chromatogr.*, 1981, v. 4, p. 2205.

51. Libbey L. M., Day E. A. *J. Chromatogr.*, 1964, v. 14, p. 29.

52. Anwar M. H. *J. Chem. Educ.*, 1963, v. 40, p. 29.

53. Cavina G., Moretti G. J. *Chromatogr.*, 1966, v. 22, p. 41.

54. Prochazka Z. *Chem. Listy*, 1961, v. 55, p. 974.

55. Bennett R. D., Heftmann E. J. *Chromatogr.*, 1963, v. 12, p. 245.

56. Züllich G., Braun W., Lisbou B. *Ibid.*, 1975, v. 103, p. 396.

57. Brenner M., Niederwieser A. *Experientia*, 1961, v. 17, p. 237.

58. Lees T. M., Lynch M. J., Mosher F. R. *J. Chromatogr.*, 1965, v. 18, p. 595.

59. Hara S., Hibe K. *Ibid.*, 1972, v. 66, p. 75.

60. Hara S., Yamazaki S., Ichikawa H. *Chem. Ind. (London)*, 1969, p. 1657.

61. Soczewiński E., Wawrzynowicz T. *Chromatographia*, 1978, v. 11, p. 466.

62. Soczewiński E., Matysik G. J. *High Resolution Chromatography and Chromatography Communis.* 1979, v. 2, p. 259.

63. Turina S., Jamnicki V. *Anal. Chem.*, 1972, v. 44, p. 1892.

64. Turina S., Soljić Z., Marajanović V. *J. Chromatogr.*, 1969, v. 39, p. 81.

65. Schmid H. V., Cramer Y., Arm H. *Chimia*, 1976, v. 30, No. 2, p. 62.

66. Канев А. С., Рысев О. А., Чечевичкин В. Н. *Завод. лаб.*, 1981, т. 47, № 4, с. 13.

67. Березкин В. Г., Бочков А. С. *Количественная тонкослойная хроматография*. М.: Наука, 1980.

68. Бочков А. С., Лезин А. А., Павлушкин Г. Г., Рысев О. А., Чечевичкин В. Н. Измерения, контроль, автоматизация, 1981, № 5/39, с. 36.

69. Berezkin V. G., Vinogradova R. G., Rysiev O. A., Chechevichkin V. N., Romanov F. I. J. *High Resolution Chromatography and Chromatography Communis.* 1982, v. 5, p. 93.

70. Issaq H. J. *J. Liq. Chromatogr.*, 1981, v. 4, p. 1393.

71. Issaq H. J. *Ibid.*, 1980, v. 3, p. 789.

72. Воронцов А. М., Канев А. С., Рысев О. А., Чечевичкин В. Н. *Журн. физ. химии*, 1980, т. 54, с. 2385.

73. Михальченко Г. А. *Приборы и техника эксперимента*, 1965, т. 1, № 1, с. 157.

74. Березкин В. Г., Бочков А. С. А. с. СССР 752165 (1979); Б. И., 1980, № 28, с. 172.

75. Bochkov A. S. *J. Liq. Chromatogr.*, 1982, v. 5, p. 1567.

76. Nurok D., Becker R. M., Sasic K. A. *Anal. Chem.*, 1982, v. 54, p. 1955.

77. Tecklenburg R., Nurok D. *Chromatographia*, 1984, v. 18, p. 249.

78. Soczewiński E., Matysik G. *Proc. III Int. Symp. on Instr. High Performance Thin-Layer Chromatogr./Ed.* by Kaiser R. E. Würzburg, 1985, p. 413.

79. Белоцерковский Г. М., Князев А. С., Рысев О. А., Чечевичкин В. Н. *Журн. прикл. химии*, 1984, т. 57, с. 753.

80. Thin-Layer Chromatography. TLC-86. CAMAG, Müttenz, Switzerland, 1986.

81. Diebold C. J., Zare R. N. *Science*, 1977, v. 196, p. 1439.

82. Locke D. C., Dhingre B. S., Baker A. D. *Anal. Chem.*, 1982, v. 54, p. 447.

83. Oda S., Sawada T. *Ibid.*, 1981, v. 53, p. 471.

84. Guiochon G., Siouffi A. J. *Chromatogr. Sci.*, 1978, v. 16, p. 470.

85. Saunders D. L., Snyder L. R. *Ibid.*, 1970, v. 8, p. 706.

86. Arm H., Cramer Y. *Chimia*, 1973, v. 27, p. 541.

87. Halpaap H., Bausch H. J. *Chromatogr.*, 1970, v. 48, p. 144.

88. Алишоев В. Р., Березкин В. Г. *Докл. АН СССР*, 1964, т. 155, с. 876.

89. Березкин В. Г., Алишоев В. Р. А. с. СССР 161969 (1963); Б. И., 1964, № 8, с. 71.

90. Caronna H. *Chim. Ind. (Milan)*, 1955, v. 37, p. 113.

91. Rosmus J., Pavliček M., Deyl Z. In: *Thin-Layer Chromatography/Ed.* by Marini-Betólo G. B. Amsterdam: Elsevier, 1964, p. 119.

92. Korzun B. P., Brody S. J. *Pharm. Sci.*, 1964, v. 53, p. 454.

93. Deyl Z., Rosmus J., Pavliček M. *Chromatogr. Rev.*, 1964, v. 6, p. 19.

94. Derguini F., Balogh-Nair V., Nakanishi K. *Tetrahedron Letters*, 1979, v. 51, p. 4899.

95. Hostettmann K., Hostettmann-Kaldas M., Sticher O. J. *Chromatogr.*, 1980, v. 202, p. 154.

96. Sticher O., Erdelmeir C. *Planta medica*, 1981, v. 42, p. 128.

97. Stahl E., Müller J. *Chromatographia*, 1982, v. 15, p. 493.

98. Nyiredy S., Erdelmeir C. A. J., Sticher O. J. High Resolution Chromatography and Chromatography Communis, 1985. v. 8, p. 73.

99. Murayama Watura, Kobayashi Tetsuya, Kosuge Yasutaka, Yano Hideki, Nunogaki Yoshiaki, Nunogaki Kanishi. J. Chromatogr., 1982, v. 239, p. 643.

100. Laub R. J., Zink D. L. Amer. Lab., 1981, v. 13, No. 1, p. 55.

101. McCamey D. A., Wade R. L., Lee K. Y. «Abstr. Pap. presented Pittsburgh Conf. and Expo. Anal. Chem. and Appl. Spectrosc. Atlantic City — N. Y., March 8—13, 1982.» S. 1, s. a., p. 264; РЖХИМ, 1983, 7Г433.

102. Bhattacharya K. N. Metals and Miner. Rev., 1982, v. 21, No. 4, p. 97.

103. Bekesy N. Biochem. Z., 1942, B. 312, S. 100.

104. Brown W. G. Nature, 1939, v. 143, p. 377.

105. Williams T. J. Introduction to Chromatography. Glasgow: Blackie, 1947, p. 36.

106. Tyihák E., Mincsovics E., Kalász H. J. Chromatogr., 1979, v. 174, p. 75.

107. Mincsovics E., Tyihák E., Kalász H. Ibid., 1980, v. 191, p. 293.

108. Chrompres-10. Overpressured Thin-Layer Chromatography. Labor-MIM — Hungary, Budapest.

109. Lengyel Z., Tyihák E., Mincsovics E. J. Liq. Chromatogr., 1982, v. 5, p. 1541.

110. Tyihák E., Szekely T. J., Mincsovics E. In: Instrumental High Performance Thin-Layer Chromatography Interlaken-1982/Ed. by Kaiser R. E. Bad Dürkheim: Institute for Chromatography, 1982.

111. Kaiser R. E. J. High Resolution Chromatography and Chromatography Communis, 1978, v. 1, p. 164.

112. Kalász H., Nagy J., Mincsovics E., Tyihák E. J. Liq. Chromatogr., 1980, v. 3, p. 845.

113. Tyihák E., Mincsovics E., Kalász H., Nagy J. J. Chromatogr., 1981, v. 211, p. 45.

114. Dallenbach-Toelke K., Nyiredy Sz., Meier B., Sticher O. J. Chromatogr., 1986, v. 365, p. 63.

115. Szepesi G., Gazdag M., Pap-Sziklai Z., Vegh Z. Chromatographia, 1984, v. 19, p. 422.

116. Kalász H., Nagy J. V Danybe Symp. on Chromatography. Moscow: Nauka, 1985, p. 187.

117. Tyihák E., Mincsovics E., Körmendi F. Hungarian Sci. Instruments, 1983, v. 55, p. 33.

118. Tyihák E., Mincsovics E. Ibid., 1984, v. 57, p. 1.

119. Tyihák E., Mincsovics E. Proc. III Int. Symp. on Instrumental High Performance Thin-Layer Chromatogr./Ed. by Kaiser R. E. Würzburg, 1985, p. 435.

120. Harsanyi G., Yaradi M. Ibid., p. 61.

121. Gulyás H., Kemeny G., Hollós J., Pucsok J. J. Chromatogr., 1984, v. 291, p. 471.

122. Ngo-Tuan-Cong, Tyihák E., Vajda M., Mincsovics E. J. High Resolution Chromatography and Chromatography Communis, 1982, v. 5, p. 511.

123. Fáter Z., Kemeny G., Mincsovics E., Tyihák E. Dev. Food Sci., 1983, v. 5A, p. 483.

124. Abraham M., Polyak B., Szajani B., Boross L. J. Liq. Chromatogr., 1983, v. 6, p. 2635.

125. Gulyás H. J. Chromatogr., 1985, v. 319, p. 105.

126. Mincsovics E., Tyihák E., Kalász H. Ibid., 1980, v. 191, p. 293.

127. Dudas K., Szepesi G., Pap A., Feher T., Mincsovics E., Tyihák E. Anal. Chem. Symp. Ser., 1982, v. 10, p. 417.

128. Szepesi G., Vegh Z., Gyulay Z., Gazdag M. J. Chromatogr., 1984, v. 290, p. 127.

129. Gazdag M., Szepesi G., Hernyes M., Vegh Z. Ibid., 1984, v. 290, p. 135.

130. János É., Cserháti T., Tyihák E. J. High Resolution Chromatography and Chromatography Communis, 1982, v. 5, p. 634.

131. Kalász H., Nagy J. J. Liq. Chromatogr. 1981, v. 4, p. 985.

132. Tyihák E., Mincsovics E., Tetenyi P., Zambo J., Kalász H. Herba Hung., 1980, v. 19, No. 1, p. 113.

133. Hauck H. F., Jost W. J. Chromatogr., 1983, v. 262, p. 113.

134. Лейстнер Л., Салма Э., Кузьмин Н. М. Журн. аналит. химии, 1982, т. 37, с. 1384.

135. Newman J. M. Inter. Lab., 1985, v. 15, № 5, p. 22.

136. Newman J. M. Amer. Lab., 1985, v. 17, № 4, p. 52.

137. Newman J. M. Lab. Pract., 1985, v. 34, № 1, p. 65.

138. Vajda J., Leisztnér L., Pick J., Anh-Tuan N. Chromatographia, 1986, v. 21, p. 152.

139. Bardocz S., Karsai T., Elodi P. Chromatographia, 1985, v. 20, p. 23.

140. Varady M., Harsanyi G. Hungarian Sci. Instruments, 1985, v. 59, p. 1.

141. Kery Á., Turiák Gy., Verzar-Petri G. V. Danube Symp. on Chromatography. Moscow: Nauka, 1985, p. 188.

142. Tyihák E. Ibid., p. 5.

143. Kaiser R. E., Rieder R. J. In: Planar Chromatography, v. 1/Ed. by Kaiser R. E. Heidelberg: Huethig, 1986, p. 165.

Институт нефтехимического
синтеза АН СССР, Москва