

УДК 543.544.2

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ТЕРМОСКАНИРОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГАЗОВЫХ ДЕТЕКТОРОВ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ РАЗДЕЛЕНИЯ В ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

*Березкин В. Г., Гавричев В. С.*

В обзоре рассмотрено применение газовых детекторов в сочетании с термосканированием адсорбционных слоев в тонкослойной хроматографии для регистрации результатов разделения. Главное внимание уделено комбинированному методу, основанному на использовании цилиндрической тонкослойной хроматографии и пламенно-ионизационного детектора, который выполняет одновременно две функции: термосканирование адсорбционного слоя с разделенными органическими соединениями и детектирование продуктов термосканирования. Обсуждаются перспективы развития этого метода.

Библиография — 179 ссылок.

### ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение . . . . .	334
II. Общая характеристика метода термосканирования . . . . .	335
III. Методы термосканирования с последующим детектированием его продуктов . . . . .	336
IV. Методы термосканирования цилиндрического адсорбционного слоя с одновременным детектированием . . . . .	338

### I. ВВЕДЕНИЕ

Тонкослойная хроматография (ТСХ) является одним из наиболее эффективных и экономичных методов жидкостной хроматографии. В настоящее время в практике ТСХ с целью количественной и качественной оценки результатов разделения наиболее широко используются оптические методы сканирования [1, 2]. Однако применение этих методов ограничено, во-первых, возможностью анализа только тех соединений, которые поглощают излучение или флуоресцируют в не слишком неудобных для проведения измерений областях спектра, и, во-вторых, необходимостью трудоемкой градуировки, что связано обычно с высокой индивидуальной селективностью метода. Поэтому для ряда соединений (липиды, углеводороды, многие практически важные полимеры и т. д.) возникает необходимость использовать во многих случаях детекторы других типов.

Газовые детекторы, например, пламенно-ионизационный (ПИД), катарометр и др., широко и успешно применяются в газовой хроматографии; они универсальны и высокочувствительны, особенно ПИД. Поэтому их использование для сканирования пластинок ТСХ несомненно является перспективным направлением в развитии количественных методов ТСХ.

Однако для анализа с помощью газовых детекторов необходимо предварительно перевести органические вещества хроматографических зон из адсорбированного состояния в газовую фазу. Обычно эта стадия основана на испарении, окислении или термической деструкции веществ, причем ее можно совместить с собственно детектированием. Например, если применяют ПИД, то высокая температура пламени обычно обеспечивает количественный перевод анализируемых соединений в летучие химические формы.

Особенности (и определенные принципиальные ограничения этого метода) состоят в том, что вышеописанный процесс должен быть проведен в очень узкой области для увеличения разрешающей способности, особенно при оценке высокоэффективных хроматограмм. Ширина зоны испарения (деструкции) должна быть, по-видимому, не более 0,1—0,3 ширины хроматографической зоны. Однако, во-первых, практика использования метода ТСХ — газовые детекторы (ТСХ-ГД) показывает, что имеется большое число практически важных задач, для которых не требуется высокая разрешающая способность, и, во-вторых, возможности современной экспериментальной техники для существенного повышения чувствительности далеко не исчерпаны.

Проблема детектирования — одна из центральных проблем ТСХ, над успешным решением которой работают многие исследователи. Как отмечено в обзоре, посвященном перспективам ТСХ [3], важное значение будет иметь развитие эффективных и универсальных методов детектирования.

## II. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА ТЕРМОСКАНИРОВАНИЯ

На рис. 1 приведены две основные схемы, используемые в настоящее время для количественной оценки тонкослойных хроматограмм методом термосканирования с последующим (а) и одновременным (б) детектированием.

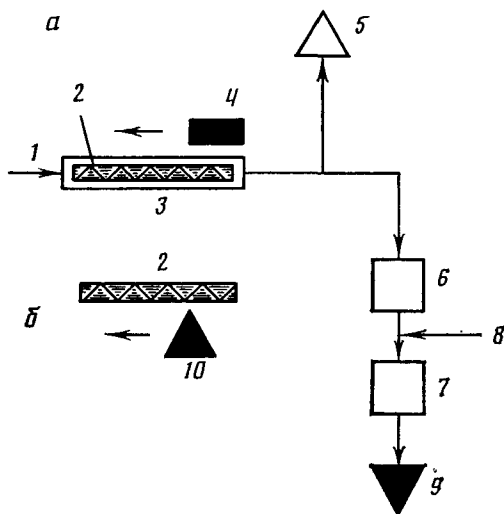


Рис. 1. Обобщенные схемы термосканирования в ТСХ. Схема с разделенными устройствами для термосканирования и детектирования (а), б — схема сканирования термодетектором; 1 — поток инертного газа или окислителя (воздух), 2 — тонкослойная хроматограмма, 3 — реактор, 4 — сканирующая печь, 5 — универсальный детектор (например, катарометр или ПИД), 6 — реактор с окислителем, 7 — каталитический реактор, 8 — поток водорода, 9 — высокочувствительный универсальный детектор, 10 — термодетектор (ПИД)

В схеме (а) печь, нагретую до 600—700°С, надвигают на реактор 3, содержащий адсорбционный слой с разделенными компонентами. Для увеличения температурного градиента впереди печи располагают холодильник. По мере нагрева хроматографической зоны летучие продукты испарения — деструкции с потоком газа-носителя (инертного или окислителя) непрерывно поступают в детектор 5 (ПИД, катарометр или детектор другого типа). Количественные характеристики детектирования, по мнению некоторых исследователей, могут быть улучшены, если летучие продукты окислить на оксиде меди до  $\text{CO}_2$  с последующим гидрированием на никелевом катализаторе.

Впервые вариант метода, в котором ТСХ-пластинку помещали внутрь прямоугольного реактора 3, был предложен в работе [4], а метод с использованием адсорбционного слоя, нанесенного на внутренние стенки трубки-реактора, был разработан в работах [5—7].

В схеме (б) для сканирования цилиндрического адсорбционного слоя, нанесенного на боковую поверхность стержня, применяют ПИД, размеры пламени которого существенно больше обычно используемых в газовой хроматографии. При этом ПИД одновременно выполняет функции печи (термодеструктора) и детектора. Метод термосканирования цилиндрического адсорбционного слоя с применением ПИД впервые был предложен Пэдди [8, 9]. В настоящее время вариант его используется в хроматографической практике наиболее широко [10].

Рассмотрим эти две группы методов более подробно.

### III. МЕТОД ТЕРМОСКАНИРОВАНИЯ С ПОСЛЕДУЮЩИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ ЕГО ПРОДУКТОВ

Известные варианты этого метода (рис. 1, а) различаются рядом основных характеристик: 1) расположением адсорбционного слоя относительно стенок реактора; 2) типом используемого газа-носителя, 3) функцией газового потока в реакторе, 4) типом используемого детектора (табл. 1). Следует отметить, что в табл. 1 не отражены методы ТСХ, связанные с термосканированием и детектированием радиоактивных соединений [6, 11], в особенности, содержащих изотопы с мягким излучением, для которых детектирование в газовой фазе предпочтительно.

Впервые метод ТСХ-ГД описан Котгривом и Линсом [4]. Пластинку для ТСХ (150 мм×12 мм, подложка — кварц, адсорбент — силикагель) помещали в нагреваемую трубку прямоугольного сечения. Авторы работы [4] неоправданно сузили границы разработанного метода, указав только на возможность анализа соединений, испаряемых с адсорбционного слоя, и не рассматривая возможность их термодеструкции. Однако в целом это исследование показало принципиальную возможность развития нового направления в количественной ТСХ — термосканирования адсорбционного слоя.

Следует отметить, что развитие этого метода для жидкостной хроматографии с капиллярной колонкой предложено в работах [12, 13]. Подвижную фазу использовали в количестве, достаточном для разделения красителей без их вымывания из слоя сорбента ( $Al_2O_3$ ). Свободную часть колонки, не содержащую сорбент, заполняли инертным сыпучим материалом и  $CuO$  для обеспечения полноты сжигания красителей. Газ-носи-

Таблица 1

Особенности метода термосканирования адсорбционного слоя с последующим детектированием

Характеристика метода	Особенности реализации метода	
Форма адсорбционного слоя тонкого слоя	традиционная (слой на прямоугольной пластинке) [4]	трубчатая [5—7]
Связь адсорбционного слоя с реактором	не связанная с реактором подложка; подложка (пластинка) выполнена из кварца [4]	адсорбционный слой нанесен на внутренние стенки трубчатого реактора; реактор выполняет роль подложки [5—7]
Функция газового потока через реактор	газ-носитель транспортирует летучие продукты в детектор [4—7]; газ-носитель является также реагентом, например, окислителем, способствующим переводу адсорбированных соединений в летучие продукты	
Тип используемого детектора	газовый детектор, применяемый, например, в газовой хроматографии (по теплопроводности ПИД) [4—7]	

тель (воздух) через колонку поступал в катарометр. Электропечь, нагретую до 650—700°С, со скоростью 1 см/мин надвигали на колонку навстречу потоку воздуха; образующийся при сгорании компонентов  $\text{CO}_2$  регистрировали детектором (рис. 2). Этот метод может быть использован не только для жидкостной хроматографии, но, например, и для трубчатой ТСХ.

Интересным вариантом ТСХ-ГД явился метод трубчатой ТСХ, в котором подложкой для закрепленного слоя активного сорбента служат внутренние стенки трубки [5—7]. После разделения (и улетучивания подвижной фазы) трубку термосканируют и продукты в токе газа-носителя поступают в детектор. Таким образом, трубка выполняет функции твердого носителя для сорбционного слоя и устройства для формирования газового потока.

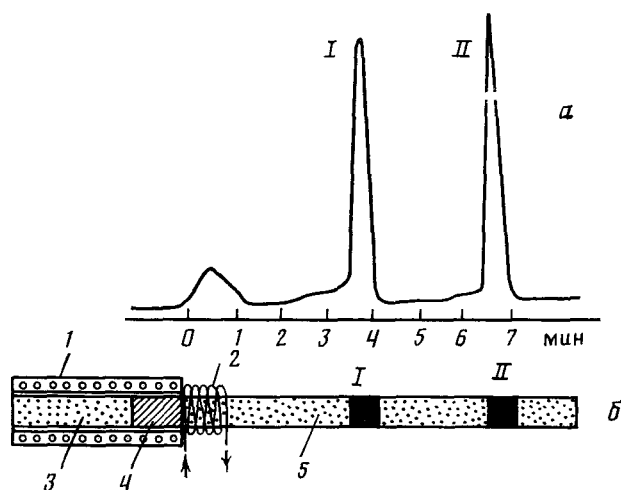


Рис. 2. Принципиальная схема термосканирования капиллярной колонки для жидкостной хроматографии (б) и хроматограмма (а) азобензола (I) и красного судана (II), разделенных на колонке с  $\text{Al}_2\text{O}_3$  [13]; 1 — электрическая печь, 2 — кварцевый змеевик, охлаждаемый водой, 3 — часть колонки, заполненная твердым носителем (сферохромом), 4 — часть колонки, заполненная  $\text{SiO}_2$ ; 5 — разделительная часть колонки, заполненная  $\text{Al}_2\text{O}_3$

В приборе для трубчатой ТСХ (рис. 1, а) может быть использован катарометр, для чего окисляют разделенные вещества (кислородом, содержащимся в газе-носителе, и  $\text{SiO}_2$  в слое адсорбента), собирают воду в ловушке и детектируют  $\text{CO}_2$  [7]. Сигнал детектора пропорционален общему содержанию углерода в хроматографической зоне. При использовании ПИД в методе ТСХ-ГД чувствительность детектирования, например липидов, близка к чувствительности анализа методом колоночной хроматографии. Следует отметить, что разделение, в частности, масла печени акулы в обоих указанных методах одинаково, но полярные липиды зарегистрированы только методом ТСХ-ГД [7].

Детектирующая система для термосканирования адсорбционного слоя, нанесенного на внутренние стенки трубки, описана также в работе [14]. Трубка из кварца или пирекса со слоем силикагеля после разделения, например, нейтральных липидов и желчных кислот, и удаления органического элюента проходит через три зоны: холодильник, пиролитическую печь и термостат, который предотвращает конденсацию и адсорбцию продуктов пиролиза.

Отметим, что в рассмотренном методе внутренний диаметр трубки-реактора должен быть достаточно большим, чтобы обеспечить подъем подвижной фазы только по адсорбционному слою, а не по трубке. Это

создает определенные трудности для увеличения температурного градиента и, следовательно, разрешающей способности метода, который в настоящее время используется весьма редко.

#### IV. МЕТОД ТЕРМОСКАНИРОВАНИЯ ЦИЛИНДРИЧЕСКОГО АДсорбЦИОННОГО СЛОЯ С ОДНОВРЕМЕННЫМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

Разработанный в 1967 г. [8] метод сканирования тонкого адсорбционного слоя с помощью ПИД (рис. 1, б) проще вышеописанных методов, в которых стадии термосканирования и детектирования разделены. Вполне удовлетворительное разделение глицеридов было достигнуто при использовании кварцевого стержня диаметром 0,5 мм и длиной 200 мм с нанесенным силикагелем. Показано, что расположение стержня в пламени и скорость его движения относительно пламени влияют на чувствительность детектирования.

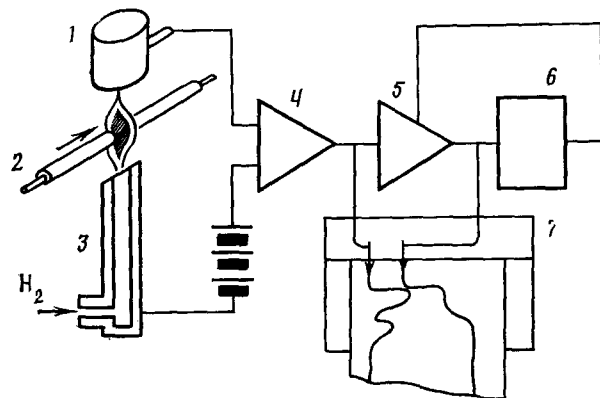


Рис. 3. Принципиальная схема устройства с ПИД для сканирования стержня с адсорбционным слоем, содержащим разделенные зоны [18]; 1 — коллекторный электрод, 2 — стержень (хромарод), 3 — горелка, 4 — усилитель тока, 5 и 6 — блоки интегрирования сигнала, 7 — двухканальный самописец

В 1970 г. описан метод сканирования, с применением двойного ПИД [15]. В качестве хроматографической системы применяли полоску из сплава хром — никель (длина 215 мм, ширина 3 мм, толщина 0,1 мм), на которую наносили слой силикагеля толщиной 0,3—0,4 мм. Несмотря на вполне удовлетворительные аналитические результаты, в хроматографической практике эта система не получила распространения.

Очень важную для реализации метода Пэдди разработку и исследование многократно используемых стержней с адсорбционным слоем выполнили Окумура и Кадоно [16, 17]. Эта несколько модифицированная позже система широко используется в практике.

На рис. 3 приведена схема сканирующего устройства прибора «Ятроскан» [18]. Как известно [19, 20], сигнал ПИД прямо пропорционален скорости поступления в пламя органического вещества, а в рассматриваемом случае (при постоянной скорости стержня) — концентрации этого вещества в хроматографической зоне. В приборе «Ятроскан» десять стержней укреплены в рамке, перемещаемой по определенной программе, и стержень за стержнем автоматически сканируются. Время сканирования одного стержня — 30 с, расход водорода — 160 мл/мин. Результаты разделения на цилиндрическом тонком слое регистрируются самопишущим прибором в виде обычной хроматограммы и в интегральной форме.

Поскольку в этом методе в качестве хроматографической системы используется адсорбционный слой цилиндрической формы, что имеет принципиальное значение для данного вида ТСХ, то целесообразно называть этот вариант цилиндрической ТСХ (ЦТСХ), а данный комбинированный метод в целом обозначать как метод ЦТСХ-ПИД.

Первые три этапа этого метода являются обычными для традиционной ТСХ: нанесение пробы на адсорбционный слой, ее разделение в потоке восходящей подвижной фазы и удаление подвижной фазы (при повышенной температуре). Предварительный этап активации стержня с помощью ПИД и последний этап сканирования стержня с разделенными зонами этим же детектором не имеют аналогов в традиционной ТСХ.

В настоящее время метод ЦТСХ-ПИД получил наибольшее распространение в аналитической практике по сравнению с другими методами термосканирования. Это объясняется, по нашему мнению, следующими причинами: 1) прибор для сканирования и методика анализа отличаются простотой (ПИД выполняет одновременно функции термосканирования и детектирования); 2) ПИД характеризуется широким линейным динамическим диапазоном, высокой чувствительностью и универсальностью, в том числе и к тем органическим соединениям (углеводородам, липидам и т. п.), для которых широко используемые методы оптического детектирования практически не применимы; 3) наличие коммерчески доступных стержней марки «Хромарод» и оборудования, выпускаемого японской фирмой «Ятрон лабораториз» [18]; 4) высокая производительность метода (около 10 анализов за 10 мин) благодаря большой скорости сканирования.

Поскольку по форме адсорбционного слоя, типу сканирования и детектирования метод ЦТСХ-ПИД отличается от традиционной ТСХ, необходимо рассмотреть особенности этого метода как при проведении хроматографического разделения, так и при количественном анализе.

### 1. Особенности хроматографического разделения методом ЦТСХ

Широко используемая цилиндрическая открытая хроматографическая система (хромарод) представляет собой кварцевый стержень, на поверхность которого нанесен пористый слой силикагеля или  $Al_2O_3$  (рис. 4).

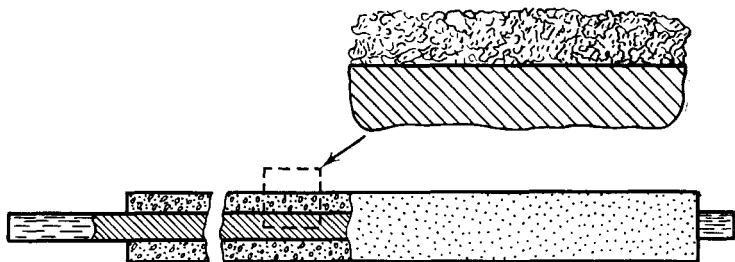


Рис. 4. Схематическое изображение стержня хромарод [18]

Геометрические параметры стержня хромарод: длина 152 мм, диаметр 0,9 мм, длина адсорбционного слоя 120 мм, толщина 75 мкм. После термосканирования стержень автоматически активируется ПИД, очищается и становится годным для повторного использования. Один стержень может быть использован для проведения 100 анализов.

В настоящее время выпускаются три типа стержней: хромарод SI, хромарод SII и хромарод A (с 1987 г. — также хромарод SIII). Первые два типа стержней получают на основе силикагеля, диаметр частиц которого составляет 10 и 5 мкм соответственно, причем хромарод SII характеризуется более высокой разрешающей способностью. Адсорбционный слой хромарода A получают из частиц  $Al_2O_3$  диаметром 10 мкм и используют обычно для разделения соединений, которые не стабильны на силикагеле, а также некоторых стереоизомеров. Адсорбционные слои на стержнях получают спеканием частиц адсорбента с добавлением в качестве связующего небольшого количества частиц легкоплавкого стекла.

Цилиндрическая форма адсорбционного слоя имеет определенные преимущества. В этой системе нет краевых эффектов, нарушающих дви-

жение фронта элюента и в ряде случаев наблюдаемых на обычных прямоугольных пластинках для ТСХ. Ширина адсорбционного слоя невелика, она составляет  $\pi d = 2,8$  мм ( $d = 0,9$  мм — диаметр адсорбционного слоя) и возможные нарушения фронта элюента имеют тенденцию к «самозалечиванию». Небольшие размеры адсорбционной системы требуют для разделения малых количеств подвижной фазы, которая нередко является весьма дорогостоящей.

Представляется оправданным дальнейшее уменьшение диаметра стержня, что, по-видимому, позволит: 1) повысить разрешающую способность детектирования разделенных зон благодаря увеличению температурного градиента на стержне при сканировании; 2) уменьшить неконтролируемые потери анализируемых веществ во время детектирования; 3) увеличить скорость детектирования; 4) уменьшить количество расходуемого элюента.

Для нанесения пробы и ее разделения используются приемы традиционной ТСХ [21, 22], хотя, по нашему мнению, более оправданно было бы использовать специальную аппаратуру, учитывающую геометрию стержней. Пробы (объемом не более 1 мкл) наносят на адсорбционный слой стержня на расстоянии 1—2 см от его конца, при этом шприц или аппликатор другого типа не должен касаться адсорбционного слоя. Разделение нанесенных проб на стержнях, закрепленных в кассетах, которые могут содержать по 10 стержней, проводят в небольших прямоугольных камерах в течение 15—40 мин. После разделения стержни высушивают для удаления подвижной фазы: при температуре выше  $100^{\circ}\text{C}$  оно занимает несколько минут. Например, для высушивания смеси хлороформа, бензола и муравьиной кислоты при  $130^{\circ}\text{C}$  достаточно трех минут [23]. Для лабильных соединений высушивание можно проводить при низких температурах в потоке инертного газа или в вакууме.

Удаление подвижной фазы перед сканированием является важным этапом, так как даже следы ее создают заметный фон и снижают чувствительность детектирования. Поэтому, по нашему мнению, целесообразно в качестве подвижных фаз использовать вещества, к которым ПИД практически не чувствителен: воду [19, 24], сероуглерод [25], аммиак [26, 27], формамид [25], муравьиную кислоту [24] и некоторые другие вещества. Возможно и желательно использовать и комбинации этих соединений.

Целесообразно также указать на возможность использования в ЦТСХ химически селективных неорганических фаз. Так, органические кислоты, их метиловые эфиры или триглицериды разделены на стержнях хромарод, пропитанных раствором нитрата серебра, в зависимости от степени ненасыщенности и изомерии молекул [28—30]. Авторы работы [30] отмечают, что использованные стержни полностью не отмываются от нитрата серебра даже при длительном выдерживании в царской водке. Возможность повторного применения стержней с нитратом серебра изучена также в работе [31].

Другой пример использования химически селективной фазы — разделение глицеридов на стержнях, пропитанных 3%-ным раствором борной кислоты [32].

Однократное разделение в ЦТСХ является наиболее простым, но не единственным способом хроматографического анализа. Описано применение многократного элюирования с использованием нескольких систем подвижных фаз для улучшения разделения сложных по составу проб. Например, на хромароде получено четкое разделение основных групп углеводородов, содержащихся в остатке вакуумной перегонки нефти, при использовании трех последовательных элюирований на определенные расстояния [33].

Важным и методически изящным является метод многократного элюирования с промежуточным сканированием части стержня. Так, при анализе липидов сыворотки крови [34, 35] вначале разделяли и сканировали с помощью ПИД нейтральные липиды, затем оставшиеся на старте фосфолипиды разделяли с использованием более полярного элюента и так-

же термосканировали. Этот вариант не имеет прямого аналога в традиционной ТСХ и его можно, по-видимому, рассматривать как вариант двухмерного разделения.

Следует выделить важную область применения метода ЦТСХ-ПИД для количественного анализа компонентов, в том числе примесных, которые не удастся определить методом традиционной ТСХ. В работе [36] определены липидные компоненты краба, причем для анализа использовали экстракт с той части ТСХ-пластинки, которая, по данным оптического сканирования (после получения соответствующих производных), не содержала даже следов каких-либо соединений. Метод ЦТСХ-ПИД может успешно применяться для анализа фракций, разделенных методом колоночной хроматографии, и экстрактов, полученных из образцов сорбента с определенных участков ТСХ-пластинки [10, 37].

Сочетание разделения на традиционной пластинке для ТСХ с последующим разделением отдельных зон методом ЦТСХ-ПИД также можно считать одним из вариантов двухмерного разделения.

Для анализа компонентов, не определяемых оптическим детектором, особенно при использовании капиллярных насадочных колонок в жидкостной хроматографии, представляет интерес предложенная ранее система [38] с движущимся транспортером. В качестве такого транспортера, по-видимому, можно использовать стержень хромарод.

Метод ЦТСХ-ПИД является, по нашему мнению, перспективным, так как он позволяет быстро и с достаточной для многих практических целей разрешающей способностью анализировать сложные объекты. Поэтому целесообразно сравнить как реализованные в этом методе варианты хроматографии, так и те, которые пока еще не используются.

В табл. 2 классифицированы различные хроматографические системы в традиционной и цилиндрической ТСХ. Фактически в ЦТСХ используется только одна хроматографическая система: (жидкость) [полярное твердое тело]. В дальнейшем весьма перспективно применение и других видов хроматографии, особенно, обращеннофазной хроматографии. По-видимому, здесь возможны два подхода: во-первых, каждый раз получать привитую фазу на адсорбционном слое (стандартными методами прививки в газовой или жидкой фазах) и, во-вторых, получать стержни с углеродным покрытием адсорбента, которое, вероятно, также будет необходимо возобновлять после каждого использования стержня.

На основании сравнения традиционной ТСХ и ЦТСХ по типам хроматографических процессов можно сказать, что в настоящее время в ЦТСХ реализуется лишь адсорбция. Использование распределительной хроматографии позволит, по нашему мнению, существенно расширить число параметров для выбора оптимального решения. Единственное дополни-

Таблица 2

Классификация хроматографических систем, применяемых в ТСХ, на основе агрегатного состояния подвижной и неподвижной фаз

Хроматографическая система	ТСХ	
	традиционная, на пластинках	цилиндрическая, на стержнях
(подвижная фаза) [неподвижная фаза]		
(Жидкость) [твердое тело]		
традиционная, прямофазная (неполярная или полярная жидкость) [полярное твердое тело]	используется	используется
обращеннофазная (полярная жидкость) [неполярное твердое тело]	используется	возможно
(Жидкость) [жидкость—твердое тело]		
традиционная, прямофазная (неполярная жидкость) [полярная жидкость—твердое тело]	используется	возможно и целесообразно
обращеннофазная (полярная жидкость) [неполярная жидкость—твердое тело]	используется	возможно



Методы элюирования в традиционной и цилиндрической ТСХ

Метод элюирования	ТСХ	
	традиционная, на пластинке	цилиндрическая, на стержне
Восходящее	используется	используется
Нисходящее	используется	целесообразно
Горизонтальное	используется	возможно
Непрерывное	используется	возможно
Радиальное и круговое	используется	—
Многokrатное	используется	используется
Ступенчатое	используется	используется
Ступенчатое с промежуточным детектированием части разделенных соединений и их удалением с адсорбционного слоя	целесообразно	используется
Двухмерное	используется	—
Центрифужное	используется	целесообразно
Градиентное	используется	целесообразно

Таблица 4

Сочетание ЦТСХ с другими аналитическими физико-химическими методами

Аналитический метод	Комбинирование с ЦТСХ
Тонкослойная хроматография	используется [10,36]
Колоночная жидкостная хроматография	предложено [10]
Газовая хроматография	возможно
Масс-спектрометрия	используется [10]
Спектральные методы	целесообразно
Электрохимические методы	возможно

тельное требование — это применение в качестве неподвижной фазы летучего соединения или вещества, к которому ПИД практически не чувствителен.

Используя адсорбент с известной и контролируемой пористостью, несомненно можно реализовать эксклюзионную ЦТСХ.

Принципиально новые возможности открываются с привлечением электромиграционных методов на цилиндрических стержнях. Весьма перспективно также применение ионного обмена для разделения неорганических и органических ионов. В этом варианте ЦТСХ, наряду с ПИД, целесообразно использовать оптические детекторы, например пламенно-фотометрический.

В табл. 3 сопоставлены известные и возможные методы элюирования в традиционной и цилиндрической ТСХ. Из неиспользуемых пока в ЦТСХ методов элюирования, по нашему мнению, представляет интерес нисходящее и центрифужное элюирования, применение которых позволило бы ускорить процесс разделения.

В последние годы в аналитической химии и хроматографии все шире внедряются гибридные методы (см., например, [39]), основанные на использовании совместно двух и более методов. Поэтому представляет интерес проанализировать возможность сочетания различных методов с ЦТСХ (табл. 4).

Таким образом, как следует из анализа табл. 2—4, метод ЦТСХ имеет широкие перспективы для развития и, по-видимому, большинство из успешных принципов разделения в жидкостной хроматографии могут быть успешно использованы и в этом методе.

Важным аспектом любого аналитического метода является оценка надежности и воспроизводимости получаемых результатов. Рассмотрим количественные аспекты метода ЦТСХ-ПИД.

## 2. Количественные аспекты метода ЦТСХ-ПИД

В рассматриваемом методе ПИД используется не в обычных условиях, для которых он и был предложен [40, 41]. Так, коэффициенты чувствительности детектора этого типа по липидам для метода ЦТСХ-ПИД отличаются от коэффициентов для газовой хроматографии [42]. На основные характеристики количественного анализа методом ЦТСХ-ПИД влияют не только условия эксплуатации ПИД (стержень проходит через пламя, причем их размеры сравнимы), но и необычные условия детектирования органических соединений, которые адсорбированы на пористом слое стержня. Транспорт этих соединений (или продуктов их деструкции) в водородное пламя затруднен ограниченным массообменом, а также высокой скоростью сканирования (около 4 мм/с). Адсорбированное нелетучее соединение сначала необходимо подвергнуть термодеструкции, что осложняет детектирование и несомненно влияет на точность количественного определения. Отмечено [43], что для получения полного сигнала от хроматографических зон некоторых веществ необходимы повторные сканирования стержня с суммированием результатов всех сканирований. С увеличением размера молекулы анализируемого вещества число сканирований увеличивается.

В работе [44] для того, чтобы избежать повторное сканирование, предложено вращать стержень на  $180^\circ$ , что улучшает контакт пламени и адсорбированного вещества.

Весьма важной проблемой в адсорбционной хроматографии вообще и в ЦТСХ в особенности является воспроизводимость аналитических свойств адсорбента и, следовательно, результатов количественного анализа. Авторы работы [45] показали, что количественные результаты повторного анализа для стержней хромарод S различны, причем это относится как к средней площади пика (точки на рис. 5), так и к ее стандартному отклонению (стрелки). Мареш и соавт. [46] полагают, что воспроизводимость метода можно в будущем повысить, если проводить предварительный отбор стержней (см., например, [47]).

Большая величина стандартного отклонения, по мнению одних исследователей, объясняется различиями свойств стержней [48], а по мнению других — недостаточной воспроизводимостью процесса детектирования [49]. Некоторые исследователи [48, 50—53] пришли к выводу, что результаты количественных определений методом ЦТСХ-ПИД, к сожалению, характеризуются невысокой точностью, хотя и достаточной для решения многих практических задач.

В связи со сказанным представляется важной работа [54], в которой предложено предварительно пропитывать стержни с силикагелевым слоем 5%-ным раствором  $\text{CuSO}_4$ . Было показано, что при определении липидов улучшается нулевая линия детектора и уменьшается разброс данных от стержня к стержню. Следует, однако, сказать, что пропитка сульфатом меди укорачивает срок службы стержней [55].

Воспроизводимость результатов повышается при увеличении скорости сканирования с 3,2 до 4,2 мм/с [56]. Интересно, что пропитка сульфата

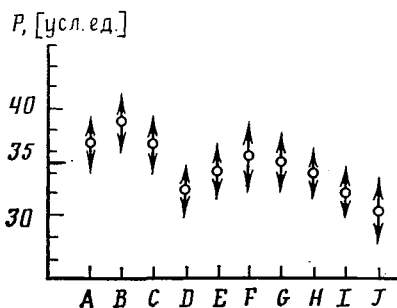


Рис. 5. Площадь пика ( $P$ , условные единицы) октадеценной кислоты для 10-ти стержней хромарод S (от A до J) [45]; величина пробы 10 мкг; нанесенную на стержень пробу не элюировали, измерения на каждом стержне проведены десятикратно

том меди приводит к изменению относительной чувствительности для различных веществ. Например, увеличивается чувствительность к метилгептаноату относительно триглицеридов.

Важное значение имеет выбор метода количественного определения. Многие исследования посвящены анализу липидов — одной из важнейших областей практического использования метода ЦТСХ-ПИД [10, 57—61].

В работе [18] на примере анализа глицеридов и свободных кислот показано, что при использовании для расчетов относительной, а не абсолютной площади пика «индивидуальность» стержня проявляется не столь резко.

Экспериментально подтверждено, что применение метода внутреннего стандарта позволяет, в отличие от абсолютной калибровки, существенно улучшить воспроизводимость результатов метода. Несмотря на то, что применение внутреннего стандарта уменьшает разброс данных при замене одного стержня другим [51, 52, 62], точные количественные результаты анализа получить затруднительно, поскольку относительная чувствительность зависит от размера пробы [62—64], соотношения вещества и концентраций анализируемого внутреннего стандарта [65], скорости сканирования [61, 66] и от того, анализируется биологический объект или искусственная смесь [46].

В работе [63] указано, что для изучения липидного состава морских организмов, осадков и морской воды, который ранее пытались определять в работах [67, 68], метод ЦТСХ-ПИД с использованием внутреннего стандарта может дать приблизительный результат: для пробы  $< 2-3$  мкг относительные коэффициенты чувствительности заметно изменяются, причем в неодинаковой степени для липидов разных классов.

Калибровочные графики липидов не линейны и не всегда экстраполируются в нулевую точку [62, 64, 69—72]. Для липидов, алифатических углеводов, сложных эфиров, кетонов, свободных жирных кислот, триглицеридов, свободных спиртов и свободных стероидов, содержащихся в морской воде, калибровочные графики описываются различными уравнениями [73]: например, для полярных липидов  $y = 0,07 + 4,19x$ , а для свободных стероидов  $y = -0,72 + 1,39x + 0,09x^2$ , при этом для достижения точности количественного анализа лучше 10 отн. % необходимо проводить много измерений (см. также [74]).

Многофакторный эксперимент по анализу смесей триглицеридов различного состава, отличающихся кислотной составляющей, на 10 стержнях хромарод S показал [56], что для количественного анализа большое значение имеют предыстория стержня, состав смеси и кислотная составляющая триглицерида, причем относительная чувствительность (стандарт — сложный эфир) со временем постепенно уменьшается. Установлено также, что коэффициенты чувствительности для единичных и смешанных образцов триглицеридов не совпадают [56], между тем как большинство исследователей для анализа биологических объектов используют коэффициенты, полученные путем калибровки по индивидуальным соединениям [46, 52, 61, 72, 74—76].

Следует отметить, что при анализе углеводов результаты метода ЦТСХ-ПИД устойчивы во времени. Так, при определении состава нефтяного масла на хромароде SII в течение 5 дней наблюдались незакономерные колебания абсолютных значений сигнала, хотя и неодинаковые для различных групп углеводов [77].

Таким образом, природа вещества оказывает влияние на погрешность измерения. Возможно, сканирование для каждой зоны или отдельных групп зон целесообразно проводить отдельно, в оптимальном для каждой зоны режиме.

Большой интерес представляют работы, направленные на увеличение не только точности количественного анализа, но и чувствительности метода. Величина анализируемой пробы существенно влияет на стандартное отклонение сигнала, и для получения воспроизводимых результатов необходимо, чтобы она была больше 1 мкг [46].

Было показано, что для прибора «Ятроскан» чувствительность определения липидов (при хорошей точности и воспроизводимости) максимальна при расходе водорода  $>200$  мл/мин, расстоянии между стержнем и соплом горелки детектора не более 0,8 мм, замене вибрационного насоса для воздуха на компрессор и промывке новых стержней концентрированной азотной кислотой [78]. Перечисленные меры привели к увеличению чувствительности в  $\sim 2$  раза и уменьшению фона в  $\sim 5$  раз; при этом стандартные отклонения сигнала составляли 5—15 отн.%. Удалось определить 0,05 мкг каждого липида в небольшом объеме пробы (0,2 мкл). По данным работы [18] чувствительность метода ЦТСХ-ПИД достаточно высока: предел детектирования составляет около 0,07 мкг/мкл. Для увеличения чувствительности применяют различные приемы: установку коллектора ионов на расстоянии  $\sim 1,7$  мм над стержнем [79], фокусирование зон вещества на стержнях [69], химическую обработку стержней, например парами иода для усиления сигнала ПИД при анализе ненасыщенных липидов [80].

Для оценки количественного аспекта нового метода важным является сравнение с традиционным методом при решении той же задачи. Мареш и соавт. [46] сравнили точность анализа липидов плазмы крови человека методами ЦТСХ-ПИД и газовой хроматографии. Воспроизводимость первого метода оказалась существенно ниже, однако следует согласиться с авторами работы [46], которые полагают, что дальнейшее развитие метода ЦТСХ-ПИД позволит улучшить этот важный показатель.

Отметим следующие важные преимущества метода ЦТСХ по сравнению с ГХ: 1) возможность применения для анализа нелетучих и термолabileльных соединений, 2) необычная селективность, которую часто трудно реализовать в газовой хроматографии, например, групповое разделение углеводов, фосфолипидов и др., 3) высокая производительность детектирования (1 сканирование за  $\sim 30$  с).

Результаты определения мальтенов и асфальтенов в тяжелых нефтях методом ЦТСХ-ПИД хорошо согласуются с данными, полученными традиционным методом Института нефти (Лондон) IP 143 [81]. Оба метода характеризуются практически одинаковой воспроизводимостью, однако метод ЦТСХ-ПИД менее трудоемок: время, необходимое для проведения анализа 9-ти образцов, составляет  $\sim 30$  мин (исключая время на взвешивание и растворение образцов).

При определении группового состава тяжелых углеводов данные метода ЦТСХ-ПИД и стандартного метода ASTM D2007 существенно различаются, что было связано с резким отличием фракций, выделенных методом ASTM, от декларируемых [33].

При использовании метода ЦТСХ-ПИД для анализа тяжелых продуктов переработки нефти и угля отсутствует такой недостаток высокоэффективной колоночной хроматографии, как потеря заметной части (от 5 до 15%) анализируемого образца [44].

В работе [82] показано, что метод ЦТСХ-ПИД дает надежные количественные результаты при определении полициклических ароматических углеводов, в отличие от таких методов, как жидкость-жидкостная экстракция, колоночная жидкостная хроматография и газовая хроматография.

В заключение следует подчеркнуть, что, несмотря на ряд критических замечаний по количественной характеристике метода ЦТСХ-ПИД, многочисленные работы свидетельствуют о положительной практике его

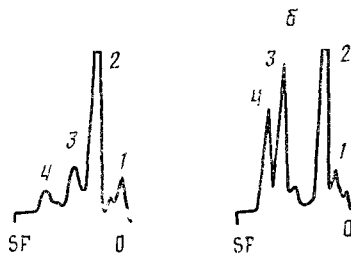


Рис. 6. Хроматография фосфолипидов мозга крысы [83]; стержень: хромарод S с сульфатом меди; элюент: хлороформ — метанол — вода (68,5 : 29 : 2,5) без добавки (а) и с добавкой (б) 0,5% муравьиной кислоты; 1 — сфингомиелин, 2 — фосфатидилхолин, 3 — фосфатидилэтаноламин, 4 — дифосфатидилглицерин, 0 — старт, SF — фронт растворителя

использования для количественного анализа разнообразных объектов — от нефти до биологически активных соединений.

Без сомнения, дальнейшее совершенствование аппаратуры позволит существенно улучшить количественные характеристики этого перспективного метода.

### 3. Практическое применение метода ЦТСХ-ПИД

Метод ЦТСХ-ПИД широко используется в различных областях науки, промышленности, медицины, охраны окружающей среды и т. д. Особый интерес он представляет для исследования тех объектов, к которым широко используемые в жидкостной хроматографии (колоночной и ТСХ) оптические методы детектирования практически не применимы, а получение соответствующих производных осложнено или нежелательно. Приведем некоторые примеры практического использования метода ЦТСХ-ПИД.

#### а) Липиды

Разделению сложных липидных смесей посвящена работа [74]. Продукты метанолиза сфингогликолипида были полностью разделены на хроматоде SII с использованием двух последовательных элюирований.

В работе [83] на стержнях, пропитанных сульфатом меди, показано разделение фосфолипидов мозга крысы (рис. 6, а). В качестве элюента, как и в предыдущих работах авторов с неимпрегнированными стержнями [75, 84], применяли смесь хлороформа с метанолом и водой. Добавка муравьиной кислоты привела к уменьшению размывания зон некоторых соединений (пики 3 и 4 на рис. 6, б) и уменьшению пика на старте.

Анализ липидов представляет определенный интерес и в связи с диагностикой некоторых заболеваний. Например, в амниотической жидкости беременных женщин в случае болезни наблюдается резкое качественное отклонение содержания липидов [51, 85, 86]. Определение липидов методом ЦТСХ-ПИД применяется для фармацевтических и клинических исследований, токсикологического анализа и анализа пищи [87—89]. Обзор данных по количественному определению липидов и их производных методом ЦТСХ-ПИД приведен в работе [90]. Помимо работ, упомянутых здесь и в предыдущих разделах, следует указать на другие исследования липидных объектов: плазмы крови [91—94], сыворотки крови [91, 92, 95], десны человека [96], дрожжей [97], микроорганизмов [98], растительных масел [99, 100, 133], а также глицеридов и жирных кислот [95, 99, 101—117], фосфолипидов [118—120] и липидов других классов [121—129].

Следует отметить, что в хроматографической практике расширяется применение компьютеров. Так, в работе [130] описано применение компьютеров в приборе «Ятроскан» для анализа липидов биологического происхождения.

В заключение отметим, что определение липидов в различных образцах в настоящее время является наиболее хорошо разработанной областью практического приложения метода ЦТСХ-ПИД, и его использование только в этой единственной области несомненно полностью оправдывает разработку данного метода.

#### б) Нефть, углеводородное топливо

Впервые применение метода ЦТСХ-ПИД для определения группового состава тяжелых топлив описано в работах [131, 132]. Разработке методики быстрого определения асфальтенов в тяжелых маслах и композиционного состава этих масел посвящена работа [134]. Методика определения мальтенов и асфальтенов на стержнях с силикагелевым слоем успешно опробована на 16-ти образцах битума, тяжелых нефтей и синтетических топлив [81]. Нерастворимые в бензоле компоненты удаляли до проведения анализа.

Жидкие продукты гидрирования угля японских месторождений были разделены на следующие фракции: насыщенные, полициклические ароматические, гетероароматические соединения, смолы и асфальтены [135].

Следует указать также на другие примеры использования метода ЦТСХ-ПИД в анализе углеводородного сырья и продуктов [136—143].

Авторы работы [33] пришли к заключению, что метод ЦТСХ-ПИД обеспечивает быстрое определение группового состава высококипящих фракций нефти, тяжелых масел и жидких продуктов переработки угля, причем проведение предварительной деасфальтизации не требуется.

Таким образом, определение углеводородов различных классов является важной областью практического приложения рассматриваемого метода.

#### в) Контроль окружающей среды и анализ физиологически активных объектов

Авторы работы [82] показали возможности и преимущества метода ЦТСХ-ПИД в определении полициклических ароматических углеводородов, экстрагируемых из фильтров для отбора проб загрязненного воздуха.

Определение состава частиц, содержащихся в выбросах дизельных двигателей, описано в работе [144]. Метод позволил анализировать нелетучие органические соединения с  $T_{кип} \geq 300^\circ \text{C}$  (предел определения  $\sim 0,03$  мкг).

Большое число работ посвящено анализу биологических объектов и лекарств: психотропных препаратов [145, 146], алкалоидов [17, 124], аминокислот, витаминов, пестицидов, кортикостероидов, сердечных гликозидов и генинов [17], эстрогенов, прогестинных и андрогенов [17, 124], сахаридов [147], антибиотиков [148], желчных кислот [149—151], аглюконов [152], глицирригизина [153].

Здесь же можно указать на следующие анализируемые объекты: поверхностно-активные вещества (хлориды четвертичных аммониевых оснований, олеаты и сульфаты олефинов [149] и другие поверхностно-активные вещества [154—156]), сульфаниловая кислота и сульфонамиды [17], фталаты [157], сапонины женьшеня [158], душистые вещества [159], экстракты пионов [160], пищевые продукты [161—163], изделия из кожи [164], косметика [165].

Приведенные в этом разделе примеры свидетельствуют о возможности эффективного применения метода ЦТСХ-ПИД и в этих важных для здоровья человека областях.

#### г) Применение в других областях

В [166] изучалось распределение жидких резин по «функциональности».  $\alpha, \omega$ -Полибутадиенолы были разделены методом ЦТСХ на три фракции: не содержащую функциональные группы, с одной и двумя функциональными группами. Сравнение двух методов сканирования — оптического и ПИД — показало, что результаты оптического метода завышены на 30—50%.

Метод ЦТСХ-ПИД успешно использован для изучения радиационной привитой сополимеризации стирола на целлюлозе [167]. Гомополистирол и -акрилонитрил определены в работе [168]. Анализ полимеров описан также в [169]. Состав промышленных эмульсий и его изменение в процессе эксплуатации изучены в работе [170].

Один из примеров использования метода ЦТСХ-ПИД для изучения кинетики образования сложного эфира приведен в работе [171]. Определение этилбензоата и бензойной кислоты проводили на Хромароде SII. Химические реакции исследованы также в работах [70, 172—174].

\* \* \*

Анализ изложенного в обзоре материала позволяет сделать заключение о том, что в ТСХ и в области сканирования сформировалось новое перспективное направление: ЦТСХ-ПИД. Практическое применение это-

го комбинированного метода особенно целесообразно прежде всего для тех соединений, которые неудовлетворительно детектируются оптическими методами. Показателем большого и постоянного интереса к методу ЦТСХ-ПВД являются многочисленные статьи, обзоры, опубликованные в последние годы [175—178], и монография чехословацкого ученого Ранни [179].

Метод имеет хорошие перспективы, некоторые из них были отмечены в настоящем обзоре. При дальнейшем развитии метода представляется целесообразным обратить внимание на следующие перспективные направления: 1) разработку новых методик, улучшающих разрешающую способность термосканирующего детектирования, 2) применение новых методов детектирования, например пламенно-фотометрических, 3) использование других вариантов хроматографии, помимо известного варианта жидкость — твердое тело.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Densitometry in thin layer chromatography/Eds. Touchstone J. et al. N. Y.: Wiley Intersci. Publ, 1979.
2. High performance thin layer chromatography/Eds. Zlatkis A. et al. Amsterdam: Elsevier; Bad Dürkheim: Institute of Chromatography, 1977.
3. Stahl E.//J. Chromatogr. 1979. V. 165. P. 59.
4. Cotgreave T., Lynes A. J.//Ibid. 1967. V. 30. P. 117.
5. Kaufman H. P., Mukherjee K. D.//Fette, Seifen, Anstrichmittel. 1969. B. 71. S. 11.
6. Haahti E., Vihko R., Jaakonmaki I., Evans R. S.//J. Chromatogr. Sci. 1970. V. 8. P. 370.
7. Mangold H. K., Mukherjee K. D.//Ibid. 1975. V. 13. P. 393.
8. Padley F. B.//Chem. Ind. (London). 1967. P. 592.
9. Padley F. B.//J. Chromatogr. 1969. V. 39. P. 37.
10. Ackman R. G.//Methods in Enzymology. Flame Ionization Detection Applied to Thin Layer Chromatography on Coated Quartz Rods./Eds. Lowenstein J. M. V. 72. Lipids. Pt D. N. Y.: Acad. Press, 1981. P. 205.
11. Mukherjee K. D., Mangold H. K.//J. Chromatogr. 1973. V. 82. P. 121.
12. Березкин В. Г., Кругликова В. С. А. С. 342128. СССР//Б. И. 1972. № 19.
13. Березкин В. Г., Кругликова В. С., Коломиец Л. Н.//Изв. АН СССР. Сер. хим. 1974. С. 1396.
14. Mukherjee K. D., Spaans H., Haahti E.//J. Chromatogr. 1971. V. 61. P. 317.
15. Szakassits J. J., Peurifoy P. V., Woods L. A.//Anal. Chem. 1970. V. 42. P. 351.
16. Okumura T.//J. Chromatogr. 1980. V. 184. P. 37.
17. Okumura T., Kadono T., Iso'o A.//Ibid. 1975. V. 108. P. 329.
18. Iatroscan TH-10. TLS/FID Analyzer. Iatron Laboratories. Tokyo, 1981.
19. Komers R., Krejci M.//Laboratory Handbook of Chromatographic and Applied Methods/Eds. Mikes O. Chichester: Ellis Horwood Limited Publ., 1979.
20. Ногаре С. Д., Джувет Р. С.//Газо-жидкостная хроматография. Ленинград: Недра, 1966. С. 242.
21. Kirchner J. G.//Thin Layer Chromatography. N. Y.: Wiley-Intersci. Publ., 1978.
22. Chromatographia na tenkých vrstvách vo farmácii a v klinickej biochemii/Eds. Sarsunova M. et al. Bratislava: Vydavateľstvo «Osveta», 1977.
23. Gantois E., Mordret F., Le Barbanchon N.//Rev. Franc. Corps Gras. 1977. V. 24. P. 167.
24. Nonaka A.//Anal. Chem. 1973. V. 45. P. 483.
25. Berezkin V. G., Rudenko B. A., Popova T. P. et al.//J. Chromatogr. 1977. V. 130. P. 318.
26. Saroff H. A., Karmen A., Healy J. W.//Ibid. 1962. V. 9. P. 122.
27. Berezkin V. G., Shkolina L. A.//Ibid. 1976. V. 119. P. 33.
28. Itoh T., Waki H., Kaneko H.//Agric. Biol. Chem. 1975. V. 39. P. 2365.
29. Tanaka M., Itoh T., Kaneko H.//Yukagaku. 1976. V. 25. P. 263.
30. Jee M. H., Ritchie A. S.//J. Chromatogr. 1986. V. 370. P. 214.
31. Sebedio J.-L., Farquarson R. E., Ackman R. G.//Lipids. 1985. V. 20. P. 555.
32. Tanaka M., Itoh T., Kaneko H.//Ibid. 1980. V. 15. P. 872.
33. Ray J. E., Oliver K. M., Wainwright J. C.//The application of the Iatroscan TLC Technique to the Analysis of Fossil Fuels, Petroanalysis-81, IP Symp. L. 1981. L.: Heyden and Son, 1981.
34. Iatroscan TH-10 Analyser. Instruction Manual. Newman-Howells Associates Limited: Winchester.
35. Ackman R. G.//Chem. Ind. (London). 1981. P. 715.
36. Ackman R. G., Nash D., McLachlan J.//Proc. N. S. Inst. Sci. 1979. V. 29. P. 501.
37. Ranny M.//Chemicke Listy. 1982. V. 76. P. 1121.
38. Haahti E.//Acta chem. scand. 1963. V. 17. P. 2565.
39. Золотов Ю. А.//Очерки аналитической химии. М.: Химия, 1977.
40. McWilliam I. G.//Пат. 224504 Австралия, 1957.
41. Harley J., Nel W., Pretorius V.//Nature. 1985. V. 181. P. 177.

42. Sebedio J.-L., Ackman R. G.//J. Chromatogr. Sci. 1981. V. 19. P. 552.
43. Rigler M. W., Leffert R. L., Patton J. S.//J. Chromatogr. 1983. V. 277. P. 321.
44. Selucky M. L.//Anal. Chem. 1983. V. 55. P. 141.
45. Fujii T., Tanaka R., Sasai K., Tanaka T.//Microquantitative Analysis of Surface Agents Using Iatroscan TH-10. Paper presented at the XIV Annual Meeting of the Japan Oil Chemists' Society. Tokyo, 1975.
46. Mareš P., Ranny M., Sedláček J., Skorepa J.//J. Chromatogr. 1983. V. 275. P. 285.
47. Hirayama P., Morita K.//Agric. Biol. Chem. 1980. V. 44. P. 2217.
48. Mills G. L., Taylour C. E., Miller A. L.//Clin. Chim. Acta. 1979. V. 93. P. 173.
49. Hammond E. W.//J. Chromatogr. 1981. V. 203. P. 397.
50. Vandamme D., Blaton V., Peeters H.//Ibid. 1978. V. 145. P. 151.
51. Ponthieu A. M., Porchet N., Fruchart J. C. et al.//Clin. Chem. 1979. V. 25. P. 31.
52. Van Tornout P., Vercaemst R., Caster H. et al.//J. Chromatogr. 1979. V. 164. P. 222.
53. Christie W. W., Hunter M. L.//Ibid. 1979. V. 171. P. 517.
54. Kaimal T. N. B., Shantha N. C.//Ibid. 1984. V. 288. P. 177.
55. Itoh T., Tanaka M., Kaneko H.//J. Am. Oil Chem. Soc. 1979. V. 56. P. 191A.
56. Kramer J. K. G., Thompson B. K., Farnworth E. R.//J. Chromatogr. 1986. V. 355. P. 221.
57. Ishii S.//Med. Technol. (Tokyo). 1980. V. 8. P. 1196.
58. Tanaka M., Itoh T., Kaneko H.//Yukagaku. 1976. V. 25. P. 263.
59. Kramer J. K. G., Fouchard R. C., Farnworth E. R.//J. Chromatogr. 1980. V. 198. P. 279.
60. Vandamme D., Vankerckhoven G., Vercaemst R. et al.//Clin. Chim. acta. 1978. V. 89. P. 231.
61. Bradley D. M., Richards C. R., Thomas N. S. T.//Ibid. 1979. V. 92. P. 293.
62. Farnworth E. R., Thompson B. K., Kramer J. K. G.//J. Chromatogr. 1982. V. 240. P. 463.
63. Volkman J. K., Everitt D. A., Allen D. I.//Ibid. 1986. V. 356. P. 147.
64. Kaitaranta J. K., Nicolaidis N.//Ibid. 1981. V. 205. P. 339.
65. Tatara T., Fujii I., Kawase T., Minagawa M.//Lipids. 1983. V. 18. P. 732.
66. Ranny M., Sedláček J., Mareš E. et al.//Seifen Oele Fette Wachse. 1983. B. 109. S. 219.
67. Kellogg R. B., Patton J. S.//Mar. Biol. 1983. V. 75. P. 137.
68. Harvey H. R., Richardson M. D., Patton J. S.//Deep-Sea Res. 1984. V. 31. P. 403.
69. Harvey H. R., Patton J. S.//Anal. Biochem. 1981. V. 116. P. 312.
70. Ranny M., Zbirovsky M., Blahova M. et al.//J. Chromatogr. 1982. V. 247. P. 327.
71. Petersson B.//Ibid. 1982. V. 242. P. 313.
72. Foot M., Clandinin M. T.//Ibid. 1982. V. 241. P. 428.
73. Delmas R. F., Parrish C. C., Ackman R. G.//Anal. Chem. 1984. V. 56. P. 1272.
74. Tanaka M., Takase K., Itoh T. et al.//J. Chromatogr. 1984. V. 284. P. 433.
75. Kramer J. K. G., Farnworth E. R., Thompson B. K.//Lipids. 1985. V. 20. P. 536.
76. Sipos C., Ackman R. G.//J. Chromatogr. Sci. 1978. V. 16. P. 443.
77. Optimising Reproducibility with the Iatroscan TLC/FID Analyser. Iatroscan TH-10. Instrument Application. № 1. Iatron Laboratories. Tokyo.
78. Terabayashi T., Ogawa T., Kawanishi V. et al.//J. Chromatogr. 1986. V. 367. P. 280.
79. Patterson P. L.//Lipids. 1985. V. 20. P. 503.
80. Banerjee A. K., Ratnayake W. M., Ackman R. G.//J. Chromatogr. 1985. V. 319. P. 215.
81. Poirier M. A., George A. E.//J. Chromatogr. Sci. 1983. V. 21. P. 331.
82. Boden H., Roussel R.//International Environment and Safety News. 1983. P. 7.
83. Kramer J. K. G., Fouchard R. C., Farnworth E. R.//J. Chromatogr. 1986. V. 351. P. 571.
84. Kramer J. K. G.//Lipids. 1980. V. 15. P. 651.
85. Tokuno K., Mitani K., Tanaka H. et al.//Rinsho Kensa. 1983. V. 27. P. 322.
86. Fruchart J. C., Pothien A., Porchet N. et al.//Ann. Biol. Clin. 1978. V. 36. P. 149.
87. Crane R. T., Goheen S. C., Larkin E. C., Rao G. A.//Lipids. 1983. V. 18. P. 74.
88. Parrish C. C., Ackman R. G.//Ibid. 1985. V. 20. P. 521.
89. Zeman I., Ranny M., Winterova L.//J. Chromatogr. 1986. V. 354. P. 282.
90. Kaneko H.//Yukagaku. 1983. V. 32. P. 565.
91. Kawai T., Hasunuma S., Nakano E. et al.//Jap. J. Clin. Pathol. 1971. V. 19. P. 293.
92. Nakano E., Sakurabayashi I., Hasunuma S. et al.//Ibid. 1972. V. 20. P. 186.
93. Shishido N., Isobe T., Horii I., Uda K.//J. Toxicol. Sci. 1976. V. 1. P. 94.
94. Horii I., Shishido N., Uda K.//Ibid. 1976. V. 1. P. 95.
95. Ueda K., Ito K., Tejima T. et al.//Jpn. J. Med. Technol. 1975. V. 19. P. 639.
96. Murai S., Obata J., Ito K. et al.//Nippon Shishubyo Gakkai Kaishi. 1976. V. 18. P. 340.
97. Kaneko H., Hosohara M., Tanaka M., Itoh T.//Lipids. 1976. V. 11. P. 837.
98. Tanaka M., Itoh T., Kaneko H.//Yukagaku. 1977. V. 26. P. 454.
99. Mordret F., Prevot A., Le Barbançon N., Barbat C.//Rev. Fr. Corps Gras. 1977. V. 24. P. 467.
100. Fruchart J. C., Ponthieu A., Porchet N. et al.//Ann. Biol. Clin. 1978. V. 36. P. 176.
101. Gantois E., Mordret F., Le Barbançon N.//Rev. Fr. Corps Gras. 1977. V. 24. P. 167.
102. Hiramatsu K., Nozaki H., Arimori S.//J. Chromatogr. 1980. V. 182. P. 301.
103. Furuya T., Nagumo T., Itoh T., Kaneko H.//Agric. Biol. Chem. 1980. V. 44. P. 517.
104. Hiramatsu K., Nozaki H., Arimori S.//Nippon Naika Gakkai Zasshi. 1980. V. 69. P. 454.



105. *Kramer J. K. G., Fouchard R. C., Farnworth E. R.*//J. Chromatogr. 1980. V. 198. P. 279.
106. *Kaitaranta J. K.*//J. Sci. Food Agric. 1980. V. 31. P. 1303.
107. *Innis S. M., Clandinin M. T.*//J. Chromatogr. 1981. V. 205. P. 490.
108. *Kaitaranta J. K., Ke P. J.*//J. Amer. Oil Chem. Soc. 1981. P. 710.
109. *Redgrave T. G., Jeffery F.*//Lipids. 1981. V. 16. P. 626.
110. *Ackman R. G.*//Fette, Seifen, Anstrichmittel. 1980. B. 82. S. 351.
111. *Kaitaranta J. K., Ackman R. G.*//Comp. Biochem. Physiol. 1981. V. 69B. P. 725.
112. *Kobayashi T., Kubota K.*//Chemosphere. 1980. V. 9. P. 777.
113. *Hiramatsu K., Arimori S.*//J. Chromatogr. 1982. V. 227. P. 423.
114. *Sebedio J.-L., Farquarson T. E., Ackman R. G.*//Lipids. 1982. V. 17. P. 469.
115. *Takemoto Y.*//Kawasaki Medical J. 1981. V. 7. P. 195.
116. *Naganuma T., Uzuka Y., Tanaka K.*//Agric. Biol. Chem. 1982. V. 46. P. 1213.
117. Analysis of Glyceride Isomers by Boric Acid-impregnated Chromarods. Iatroscan TH-10. Instrument Application № 2. Tokyo. Iatron Laboratories.
118. *Banerjee A. K., Ratnayake W. M. N., Ackman R. G.*//Lipids 1985. V. 20. P. 121.
119. *Hazel J. R.*//Ibid. 1985. V. 20. P. 516.
120. *Blahova M., Ranny M., Sedlacek J.*//Acta Univ. Carol. Med. 1986. V. 32. No. 1—2.
121. Analysis of Serum Lipid by the Iatroscan. Iatroscan TH-10. Instrument Application № 4. Tokyo. Iatron Laboratories.
122. Analysis of Lipids by Iatroscan Data. Iatroscan TH-10. Instrument Application № 5. Tokyo. Iatron Laboratories.
123. Analysis of Triglycerides Molecular Species by Silver Nitrate-impregnated Chromarods. Iatroscan TH-10. Instrument Application No. 6. Tokyo: Iatron Laboratories.
124. *Okumura T., and Kadono T.*//Jap. Anal. 1973. V. 22. P. 980.
125. *Ando S.*//Comprehensive Experimental Methodology of Biochemistry/Eds. Yamakawa T. et al. Tokyo: Jap. Biochem. Soc. 1974. P. 58.
126. *Tanaka M., Itoh T., Kaneko H.*//Yukagaku. 1979. V. 28. P. 96.
127. *Deguchi K., Kawashima S., Ichio H., Ueta N.*//J. Biochem. (Tokyo) 1979. V. 85. P. 1519.
128. *Tokunaga M., Ando S., Ueda N.*//Proc. Jap. Conf. Biochem. Lipids. 1973. V. 15. P. 195.
129. *Ranny M., Sedlacek J., Svec P.*//J. Planar Chromatogr. 1988. V. 1. P. 35.
130. *Knapp R. D., Sherrill B. C.* Lipoprotein Lipid Quantitation by Iatroscan. Lecture at the 75th Annual Meeting of the AOCS, Dallas, 1984. J. Amer. Oil Chem. Soc. 1984. V. 61. № 4.
131. *Suzuki Y., Takeuchi T.*//XXI Annual Meeting of the Japan Society for Analytical Chemistry. Abstracts of Papers. 1972. № 47.
132. *Suzuki Y., Takeuchi T.*//Bunseki Kagaku. 1972. V. 21. P. 47.
133. *Ackman R. G., Woyewoda A. D.*//J. Chromatogr. Sci. 1979. V. 17. P. 514.
134. *Yamamoto Y., Kawanobe T.*//J. Jap. Petrol. Inst. 1984. V. 27. P. 269, 373.
135. *Yokoyama S., Umematsu J., Inoue K., Katoh T., Sanada Y.*//Proc. Intern. Conf. on Coal Science. Düsseldorf, 1981; Essen: Verlag Gluckauf GmbH, 1981. P. 465.
136. *Porier M. A., Rahimi P., Ahmed S. M.*//J. Chromatogr. Sci. 1984. V. 22. P. 116.
137. *Yamamoto Y., Ohno Y.*//J. Jap. Petrol. Inst. (Sekiyu Gakkaishi). 1985. V. 28. P. 493.
138. *Yamamoto Y., Akutsu H.*//Ibid. 1986. V. 29. P. 38.
139. *Yoshida R., Miyazawa T., Yoshida T. et al.*//Fuel. 1986. V. 65. P. 421.
140. *Sol B., Romero E., Carbognani L. et al.*//Revista Technica Intevep. 1984. V. 4. P. 127.
141. *Kaschani D. T.*//Erdöl und Kohle, Erdgas, Petrochem. 1986. B. 39. S. 241.
142. *Leazar L. L.*//J. Chromatogr. Sci. 1986. V. 24. P. 340.
143. *Leming Ling, Lefeng Zhang*//Sepu. 1986. V. 4. P. 146.
144. *Obuchi A., Aoyama H., Ohi A., Ohuchi H.*//J. Chromatogr. 1984. V. 288. P. 187.
145. *Ono M., Shimamine M., Takanashi K.*//Eisei Shikensho Hokoku. 1978. V. 96. P. 67.
146. *Yamaguchi T., Kaneshima H., Tamagishi T.*//Eisei Kagaku. 1975. V. 21. P. 286.
147. *Capek K., Vydra T., Capkova J. et al.*//Coll. Czech. Chem. Commun. 1985. V. 50. P. 1093.
148. *Tomio S., Hiroyasu K., Michinori O.*//Hokkaidoritsu Eisei Kenkyu Shoho. 1983. V. 33. P. 131.
149. *Uji A.*//Yakugaku Zasshi. 1975. V. 95. P. 214.
150. *Masui T., Fujishima N.*//Kanzo. 1979. V. 20. P. 976, 1299.
151. *Beke R., De Weerd G. A., Barbier F.*//J. Chromatogr. 1980. V. 193. P. 504.
152. *Lee W. K., Kim B. K., Kim H. J.*//J. Pharm. Soc. Korea. 1977. V. 21. P. 163.
153. *Namba T., Yoshizaki M., Tomimori T. et al.*//Yakugaku Zasshi. 1975. V. 95. P. 809.
154. *Read H.*//Proc. III Int. Symp. on Instrumental High Performance Thin-Layer Chromatography. Wurzburg, West Germany, 1985; Bad Dürkheim: Institute for Chromatography, 1985. P. 157.
155. *Ando Y., Hayashi M.*//Yukagaku. 1982. V. 31. P. 372.
156. *Cozzoli O.*//Riv. Ital. Sostanze Grasse. 1980. V. 57. P. 136.
157. *Keneshima H., Ogawa H., Yamagishi T. et al.*//Hokkaidoritsu Eisei Kenkyu Shoho. 1974. V. 24. P. 64.
158. *Namba T., Yoshizaki M., Tomimori T. et al.*//Yakugaku Zasshi. 1974. V. 94. P. 252.
159. *Bindler F., Laugel P., Hasselman M.*//Dtsch. Lebensm.-Rundsch. 1979. B. 75. S. 111.
160. *Yoshizaki M., Tomimori T., Yoshioka S., Namba T.*//Yakugaku Zasshi. 1977. V. 97. P. 916.

161. *Linko R., Viorela R., Kaitaranta J. K.*//J. Sci. Agric. Soc. Finland. 1980. V. 52. P. 423.
162. *Kaitaranta J. K.*//J. Food Technol. 1982. V. 17. P. 87.
163. *Morris R. J., McCartney M. J.*//J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1983. V. 67. P. 149.
164. *Pore J.*//J. Soc. Leather Technol. Chem. 1982. V. 66. № 3. P. 41.
165. *Poré J., Rasori I.*//Parfums, Cosmet, Aromes. 1982. V. 46. P. 31.
166. *Min T. I., Miyamoto T., Inagaki H.*//Rubber Chemistry and Technology. 1977. V. 50. № 1. P. 63.
167. *Min T. I., Inagaki H.*//Polymer. 1980. V. 21. P. 309.
168. *Min T. I.*//Polimo. 1978. V. 2. P. 146 (Korean).
169. *Min T., Klein A., El-Aasser M. S., Vanderhoff J. W.*//Organic Coatings and Applied Polymer Science Proceedings, 1982. V. 46. P. 314.
170. *Houis J. P., Assimacopoulos E., Rasori I., Poré J.*//Rev. Fr. Corps Gras. 1980. V. 27. № 2. P. 61.
171. Trating of Reaction in Organic Synthesis Experiment by Iatroscan. Iatroscan TH-10. Instrument Application № 3. Tokyo: Iatron Laboratories.
172. *Toyomizu M., Hanaoka K., Nakamura T.*//Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries. 1980. V. 46. P. 1011.
173. *Miyamoto T., Yamamoto I.*//Agric. Biol. Chem. 1980. V. 44. P. 2581.
174. *Kondo Y.*//Carbohydrate Research. 1982. V. 103. P. 154.
175. *Forbes S.*//Anal. Proc. (London). 1981. V. 18. P. 19.
176. *Ranger H. O.*//J. Liquid Chromatogr. 1981. V. 4. P. 2175.
177. *Itoh T., Tanaka M., Kaneko H.*//Thin Layer Chromatography: Quantitative Environmental and Clinical Applications. N. Y.: Wiley Intersci, 1981. P. 536.
178. *Mukherjee K. D.*//Quantitative Thin-Layer Chromatography and Its Industrial Applications/Ed. by Treiber L. R. New York — Basel: Marcel Dekker, 1987. P. 97.
179. *Ranny M.*//Thin-layer Chromatography with Flame Ionization Detection. Dordrecht, Boston, Lancaster, Tokyo: D. Reidel Publishing Company, 1987. 198 p.

Институт нефтехимического  
синтеза им. А. В. Топчиева  
АН СССР, Москва