

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 флюоресцируют 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 практические 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.

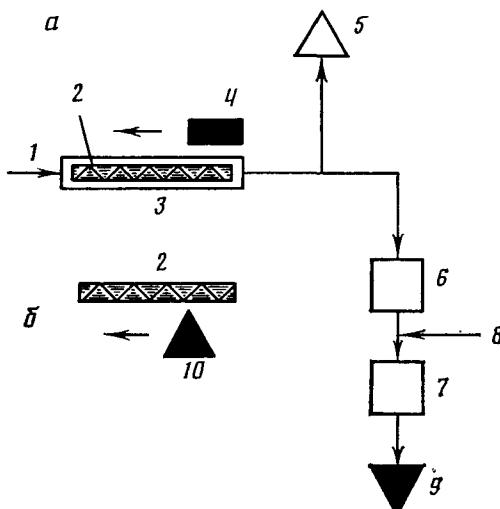


Рис. 1. Обобщенные схемы термосканирования в ТСХ
Схема с разделенными устройствами для термосканирования и детектирования (а), б — схема сканирования термодетектором; 1 — поток инертного газа или окислителя (воздух), 2 — тонкослойная хроматограмма, 3 — реактор, 4 — сканирующая печь, 5 — универсальный детектор (например, катарометр или ПИД), 6 — реактор с окислителем, 7 — катализитический 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 ходильник. 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 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 трубы-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 Пэдли [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-носитель

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°C, со скоростью 1 см/мин надвигали на колонку навстречу потоку воздуха; образующийся при сгорании компонентов CO₂ 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 трубы [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.

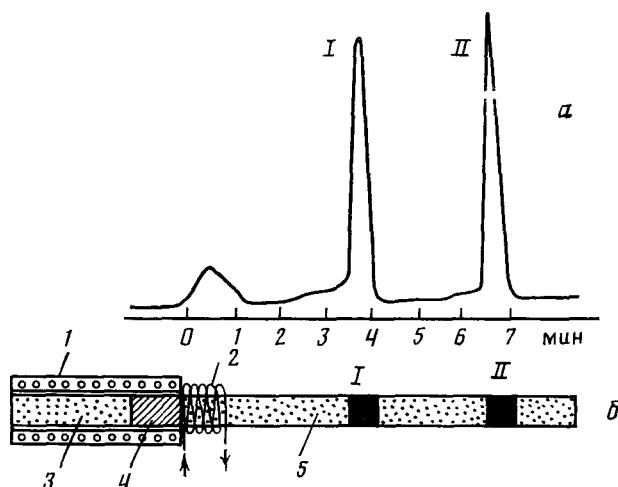


Рис. 2. Принципиальная схема термосканирования капиллярной колонки для жидкостной хроматографии (б) и хроматограмма (а) азобензола (I) и красного судана (II), разделенных на колонке с Al₂O₃ [13]; 1 — электрическая печь, 2 — квадратный змеевик, охлаждаемый водой, 3 — часть колонки, заполненная твердым носителем (сферахромом), 4 — часть колонки, заполненная CuO; 5 — разделительная часть колонки, заполненная Al₂O₃

В приборе для трубчатой ТСХ (рис. 1, а) может быть использован катарометр, для чего окисляют разделенные вещества (кислородом, содержащимся в газе-носителе, и CuO в слое адсорбента), собирают воду в ловушке и детектируют CO₂ [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 трубы, 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 терmostат, 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 глициеридов 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.

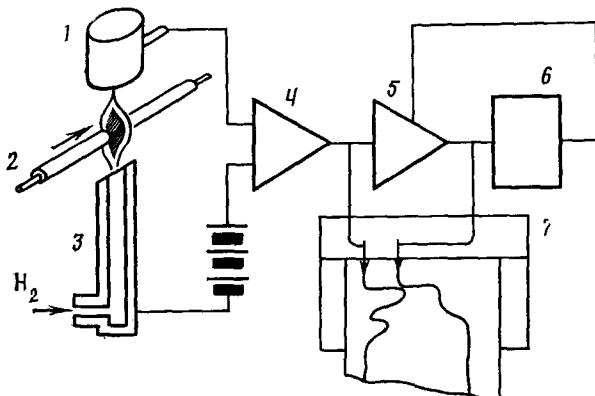


Рис. 3. Принципиальная схема устройства с ПИД для сканирования стержня с адсорбционным слоем, содержащим разделенные зоны [18]; 1 — коллекторный электрод, 2 — стержень (хромарод), 3 — горелка, 4 — усилитель тока, 5 и 6 — блоки интегрирования сигнала, 7 — двухканальный самописец

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 Пэдли разработку и исследование многократно используемых стержней с адсорбционным слоем выполнили Окумуро 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 самопищущим 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).

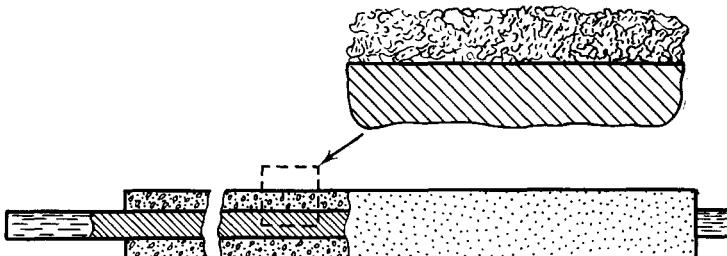


Рис. 4. Схематическое изображение стержня хромарод [18]

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°С оно занимает несколько минут. Например, для высушивания смеси хлороформа, бензола и муравьиной кислоты при 130°С 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], амиак [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 удается 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, обращенофазной 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 дополнительное требование — это обеспечение адекватности агрегатного состояния подвижной и неподвижной фаз.

Таблица 2

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

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

Таблица 3

Методы элюирования в традиционной и цилиндрической ЦСХ

Метод элюирования	ЦСХ	
	традиционная, на пластинке	цилиндрическая, на стержне
Восходящее	используется	используется
Нисходящее	используется	целесообразно
Горизонтальное	используется	возможно
Непрерывное	используется	возможно
Радиальное и круговое	используется	—
Многократное	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 ЦСХ с другими аналитическими физико-химическими методами

Аналитический метод	Комбинирование с ЦСХ
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 лётчего соединения или вещества, к которому ПИД практически не чувствителен.

Используя адсорбент с известной и контролируемой пористостью, несомненно можно реализовать эксклюзационную ЦСХ.

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 ЦСХ, наряду с ПИД, целесообразно использовать оптические детекторы, например пламенно-фотометрический.

В табл. 3 сопоставлены известные и возможные методы элюирования в традиционной и цилиндрической ЦСХ. Из неиспользуемых пока в ЦСХ 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 ЦСХ (табл. 4).

Таким образом, как следует из анализа табл. 2—4, метод ЦСХ имеет широкие перспективы для развития и, по-видимому, большинство известных 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°, 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 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 сульфа-

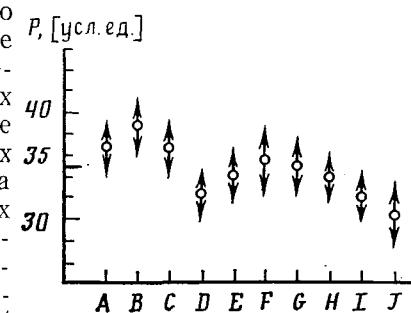


Рис. 5. Площадь пика (P , условные единицы) октадеценовой кислоты для 10-ти стержней хромарод S (от A до J) [45]; величина пробы 10 мкг; нанесенную на стержень пробу не элюировали, измерения на каждом стержне проведены десятикратно

том меди приводит к изменению относительной чувствительности для различных веществ. Например, увеличивается чувствительность к метилгептанаоту 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 углеводородов, сложных эфиров, кетонов, свободных жирных кислот, триглицеридов, свободных спиртов и свободных стеринов, содержащихся в морской воде, калибровочные графики описываются различными уравнениями [73]: например, для полярных липидов $y = 0,07 + 4,19x$, а для свободных стеринов $y = -0,72 + 1,39x + 0,09x^2$, 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 углеводородов результаты метода ЦТСХ-ПИД устойчивы во времени. Так, при определении состава нефтяного масла на хромароде SII в течение 5 дней наблюдалась незакономерные колебания абсолютных значений сигнала, хотя и неодинаковые для различных групп углеводородов [77].

Таким образом, природа вещества оказывает влияние на погрешность измерения. Возможно, сканирование для каждой зоны или отдельных групп зон целесообразно проводить раздельно, 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 ~ 2 раза и уменьшению фона в ~ 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 термолабильных соединений, 2) необычная селективность, которую часто трудно реализовать в газовой хроматографии, например, групповое разделение углеводородов, фосфолипидов и др., 3) высокая производительность детектирования (1 сканирование за ~ 30 с).

Результаты определения малтенов 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 ~ 30 мин (исключая время на взвешивание и растворение образцов).

При определении группового состава тяжелых углеводородов 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 углеводородов, 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

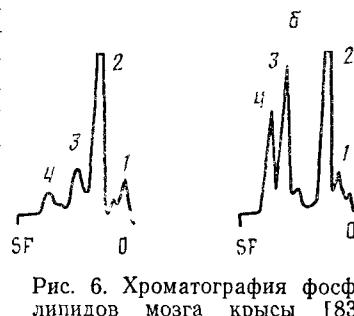


Рис. 6. Хроматография фосфолипидов мозга крысы [83]; стержень: хромарод S с сульфатом меди; элюент: хлороформ — метanol — вода (68,5 : 29 : 2,5) без добавки (а) и с добавкой (б) 0,5% муравьиной кислоты; 1 — сфингомиелин, 2 — фосфатидилхолин, 3 — фосфатидилэтаноламин, 4 — дифосфатидилглицерин, 0 — старт, 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 сфиногликолипила были полностью разделены на хромароде 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 малттенов и асфальтенов на стержнях с силикагелевым слоем успешно опробована на 16-ти образцах битума, тяжелых нефтей и синтетических топлив [81]. Нерастворимые в бензole 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 $\sim 0,03 \text{ мкг}$).

Большое число работ посвящено анализу биологических объектов и лекарств: психотропных препаратов [145, 146], алкалоидов [17, 124], аминокислот, витаминов, пестицидов, кортикоидов, сердечных глюкозидов и генинов [17], эстрогенов, прогестинов и андрогенов [17, 124], сахарида [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 сульфонаты [45], сульфаты олефинов [149] и другие поверхностью-активные вещества [154—156]), сульфаниловая кислота и сульфонамиды [17], фталаты [157], сапонины женьшения [158], душистые вещества [159], экстракти 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». α, ω -Полибутиадиенолы 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-ПИД 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. Haahki 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., Haahki E./J. Chromatogr. 1971. V. 61. P. 317.
15. Szakasits 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., Джусвет 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 tenkych vrstvach vo farmacii a v klinickej biochemii/Eds. Sar sunova M. et al. Bratislava: Vydatelstve «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., Farquharson 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. Haahki E./Acta chem. scand. 1963. V. 17. P. 2565.
39. Золотов Ю. А./Очерки аналитической химии. М.: Химия, 1977.
40. McWilliam I. G./Плат. 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., Sedlacek 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 Tournout 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., Farnsworth 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., Feuchard R. C., Farnsworth 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. Fanworth 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., Nicolaides 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., Sedlacek J., Mares 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., Farnsworth 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., Farnsworth 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.//Jpn. 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., Udaka K.//J. Toxicol. Sci. 1976. V. 1. P. 94.
 94. Horii I., Shishido N., Udaka 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 Barbanchon 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 Barbanchon 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., Farnsworth 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., Farquharson 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., Kawanoobe 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 Weerdt 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 Durkheim: 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. *Houïs 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