

# Мицеллярная жидкостная хроматография

Е.М.Басова, В.М.Иванов, О.А.Шпигун

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Химический факультет  
119899 Москва, Ленинские горы, факс (095) 932–8846

Рассмотрены теоретические основы и возможности практического применения мицеллярной жидкостной хроматографии (МЖХ). Обсуждены различные модели удерживания в МЖХ, факторы, влияющие на эффективность и селективность разделения (природа и концентрация ПАВ и органического модификатора, pH, ионная сила и температура). Обсуждены преимущества и ограничения МЖХ и проведено сравнение МЖХ с обращенно-фазовой ВЭЖХ и ион-парной хроматографией. Показаны возможности применения МЖХ для анализа лекарственных препаратов, в том числе в биожидкостях, в неорганическом анализе для разделения анионов, катионов переходных металлов, хелатов металлов, гетерополисоединений.

Библиография — 146 ссылок.

## Оглавление

|                                                                               |      |
|-------------------------------------------------------------------------------|------|
| I. Введение                                                                   | 1083 |
| II. Модели удерживания для мицеллярной жидкостной хроматографии               | 1084 |
| III. Эффективность мицеллярной жидкостной хроматографии                       | 1087 |
| IV. Селективность мицеллярной жидкостной хроматографии                        | 1090 |
| V. Удерживание и строение молекул сорбатов                                    | 1095 |
| VI. Аналитическое применение мицеллярной жидкостной хроматографии             | 1097 |
| VII. Сравнение возможностей ион-парной и мицеллярной жидкостной хроматографии | 1099 |

## I. Введение

В последние годы исследование вторичных химических равновесий (кислотно-основных, комплексообразования, образования ионных пар и сольubilизации) в обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) значительно возросло, так как их использование приводит к увеличению селективности разделения. Применение растворов ПАВ с концентрацией выше критической концентрации мицеллообразования (ККМ) в качестве подвижных фаз в ОФ ВЭЖХ привело к возникновению мицеллярной жидкостной хроматографии (МЖХ), которая является альтернативой классической ОФ ВЭЖХ с водно-органическими элюентами.<sup>1–4</sup>

Мицеллярная жидкостная хроматография имеет ряд преимуществ перед другими хроматографическими методами. Во-первых, благодаря двойственной природе ПАВ, обладающих как гидрофобными, так и гидрофильными свойствами, возможно одновременное разделение смеси ионных и неион-

ных сорбатов. Во-вторых, благодаря способности мицелл повышать растворимость в воде незаряженных сорбатов, они могут выступать в роли органических модификаторов; при этом мицеллярные элюенты дешевы и нетоксичны. В-третьих, в МЖХ можно эффективно влиять на селективность разделения, поскольку она зависит от большого числа параметров: природы (типа и заряда) и концентрации ПАВ, добавок различных органических модификаторов, ионной силы (добавок солей) и pH подвижной фазы, природы неподвижной фазы. В-четвертых, биологические жидкости можно вводить прямо в хроматографическую колонку без предварительного осаждения белков, так как анионные и неионные ПАВ способны сольubilизировать белки. Это упрощает подготовку проб, ускоряет анализ различных лекарственных препаратов. В-пятых, повышается чувствительность определения, так как для многих веществ отмечается усиление интенсивности люминесценции, низкотемпературной фосфоресценции и поглощения в присутствии ПАВ. В-шестых, использование мицеллярных градиентов позволяет выполнять скоростные разделения, так как не требуется кондиционирования колонки при смене подвижной фазы, поскольку концентрация свободного ПАВ в растворе практически постоянна после уравнивания колонки растворами ПАВ с концентрацией выше ККМ. В-седьмых, многими авторами показана корреляция между удерживанием и коэффициентами распределения в системе октанол–вода и биологической активностью, и МЖХ может быть полезна для оценки гидрофобности сорбатов и предсказания биоактивности.

Существенным недостатком метода является ухудшение эффективности разделения по сравнению с классической ОФ ВЭЖХ. Предложено два способа преодоления этого недостатка — использование так называемых гибридных элюентов, т.е. подвижных фаз, содержащих небольшие добавки органических модификаторов (обычно короткоцепочечных

**Е.М.Басова.** Доктор химических наук, старший научный сотрудник лаборатории хроматографии Химического факультета МГУ.  
Телефон: (095)939–2277.

**В.М.Иванов.** Доктор химических наук, профессор лаборатории спектроскопических методов анализа того же факультета.  
Телефон: (095)939–2277.

**О.А.Шпигун.** Доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией хроматографии того же факультета.  
Телефон: (095)939–1382.

Область научных интересов авторов: спектроскопические и хроматографические методы в аналитической химии, ионная хроматография, органические реагенты.

Дата поступления 17 мая 1999 г.

спиртов), или повышение рабочей температуры. Добавка спиртов в мицеллярные подвижные фазы приводит не только к увеличению эффективности разделения, но и к изменению селективности и повышению экспрессности анализа. Поэтому в последние годы особое внимание уделяют развитию метода МЖХ с использованием гибридных элюентов.

Несмотря на то, что метод развивается всего около 20 лет (первая статья появилась в 1980 г.<sup>5</sup>), опубликовано несколько статей обзорного характера,<sup>2,6–9</sup> посвященных обсуждению как основных теоретических проблем МЖХ, так и последних достижений.<sup>7</sup> Однако в русскоязычной литературе ни в одной из многочисленных монографий или обзоров, посвященных ВЭЖХ, нет упоминаний об этом методе (за исключением работы<sup>1</sup>, где практически приведено только понятие МЖХ).

Цель настоящего обзора — восполнить этот пробел. В обзоре обобщены описанные в литературе модели удерживания в МЖХ, обсуждены причины низкой эффективности разделения и способы ее повышения, возможности изменения селективности разделения и примеры применения МЖХ в анализе и определении неорганических, лекарственных и биологически активных соединений.

## II. Модели удерживания для мицеллярной жидкостной хроматографии

Мицеллярная жидкостная хроматография — вариант распределительной хроматографии, когда молекулы сорбата распределяются между тремя фазами: неподвижной, мицеллярной и немиецеллярной (водной) подвижными фазами. В МЖХ учитываются три равновесия: распределение сорбата между мицеллой и немиецеллярной (водной) фазой, характеризующееся коэффициентом распределения  $P_{MW}$ ; распределение сорбата между мицеллой и неподвижной фазой с коэффициентом распределения  $P_{SM}$ ; распределение сорбата между неподвижной фазой и водной подвижной фазой с коэффициентом распределения  $P_{SW}$ . Было предложено несколько уравнений, связывающих удерживание сорбатов в МЖХ с концентрацией мицелл.<sup>10–12</sup> В работе<sup>10</sup> это зависимость

$$\frac{V_s}{V_e - V_0} = \frac{V(P_{MW} - 1)}{P_{SW}} [M] + \frac{1}{P_{SW}}, \quad (1)$$

где  $V_s$ ,  $V_e$  и  $V_0$  — объем неподвижной фазы, объем элюирования сорбата и мертвый объем колонки соответственно;  $V$  — мольный объем ПАВ;  $[M]$  — концентрация ПАВ в виде мицелл в растворе, рассчитываемая как  $[M] = c - c_{cr}$ , где  $c$  — общая концентрация ПАВ в растворе;  $c_{cr}$  — критическая концентрация мицеллообразования. Зависимость  $V_s/(V_e - V_0)$  от  $[M]$  должна быть линейной, величина  $V(P_{MW} - 1)$  равна константе ассоциации сорбата с мицеллой<sup>9</sup> и может быть получена экспериментально из тангенса угла наклона и величины отрезка, отсекаемого прямой на оси ординат.

В работе<sup>11</sup> предложено уравнение, связывающее основной хроматографический параметр — коэффициент емкости ( $k'$ ) — с концентрацией мицелл ПАВ

$$\frac{1}{k'} = \frac{K_2}{\phi[L_s]K_1} [M] + \frac{1}{\phi[L_s]K_1}, \quad (2)$$

где  $K_2$  — константа ассоциации сорбата с мицеллой;  $\phi$  — фазовое отношение,  $[L_s]$  — концентрация лиганда неподвижной фазы;  $K_1$  — константа связывания (адсорбции) сорбата из водной подвижной фазы с неподвижной фазой.

В данном случае зависимость  $1/k'$  от  $[M]$  должна быть прямой, константы ассоциации сорбатов с мицеллой также могут быть легко получены из экспериментальных данных. При этом уравнения (1) и (2) эквивалентны.<sup>13</sup>

Исходя из общей модели вторичных равновесий в хроматографии,<sup>14,15</sup> в работе<sup>12</sup> выведено уравнение

$$k' = \left( \frac{K_{SM}[M]}{1 + K_{SM}[M]} \right) k'_{SM} + \left( \frac{1}{1 + K_{SM}[M]} \right) k'_S, \quad (3)$$

где  $K_{SM}$  — константа ассоциации сорбата с мицеллой;  $k'_S$  и  $k'_{SM}$  — коэффициенты емкости сорбата и комплекса сорбат–мицелла.

Преобразование уравнения (3) с учетом того факта, что комплекс сорбат–мицелла в МЖХ не удерживается, так как мицелла является частью подвижной фазы, приводит к уравнениям

$$k' = \left( \frac{1}{1 + K_{SM}[M]} \right) k'_S \quad (4)$$

или

$$\frac{1}{k'} = \frac{K_{SM}}{k'_S} [M] + \frac{1}{k'_S}. \quad (5)$$

Уравнение (5) эквивалентно уравнениям (1) и (2).

Следует отметить, что константа ассоциации сорбата с мицеллой, найденная из любого уравнения — (1), (2) или (5), — называется константой ассоциации на мономер. Поскольку концентрация мицелл дается уравнением

$$[M] = (c - c_{cr})/n, \quad (6)$$

где  $n$  — число агрегации, то при умножении константы  $K_2/K_{SM}$  или  $V(P_{MW} - 1)$  на  $n$  получается константа ассоциации на мицеллу.

При изучении механизма удерживания гидрофобных, малорастворимых в воде алкилбензолов в МЖХ с неионогенными ПАВ (НПАВ) (поли(гидроксиэтилен[10]- или [23]-)додеканолы (Brij 22 или Brij 35 соответственно)) уравнение (1) было модернизировано и предложена модель ограниченной растворимости.<sup>16</sup> Предполагая, что  $P_{MW} - 1 \approx P_{MW}$ , и обозначая  $P_{SM} = P_{SW}/P_{MW}$ , получено уравнение

$$\frac{1}{k'} = \frac{1}{\phi} \left( \frac{V[M]}{P_{SM}} \right) + \frac{1}{\phi P_{SW}}, \quad (7)$$

которое в предельном случае (нерастворимость в воде) переходит в уравнение

$$k' = P_{SM} \left( \frac{\phi}{V[M]} \right). \quad (8)$$

Анализ уравнений (1) и (2) показывает, что удерживание уменьшается ( $1/k'$  увеличивается) с увеличением концентрации мицелл в подвижной фазе, т.е. элюирующая сила мицеллярных подвижных фаз увеличивается с увеличением концентрации мицелл.

И уравнение (1), и уравнение (2) использовали для определения констант ассоциации сорбатов с различными ПАВ как в чисто мицеллярных, так и в гибридных элюентах.<sup>10,11,17–20</sup> В обоих случаях получены прямые с хорошими коэффициентами корреляции;<sup>18</sup> значения констант ассоциации, рассчитанные двумя методами, также хорошо согласуются между собой.

Замечено, что в присутствии мицелл катионного ПАВ (КПАВ) — бромида цетилтриметиламмония — константы ассоциации ряда производных бензола и нафталина с мицеллами выше, чем в присутствии анионного ПАВ (АПАВ) — додецилсульфата натрия.<sup>18</sup> Это можно объяснить предпочтительными электростатическими взаимодействиями положительно заряженных головных групп мицелл бромида цетилтриметиламмония и делокализованных электронов ароматического кольца сорбатов. Однако еще более высо-

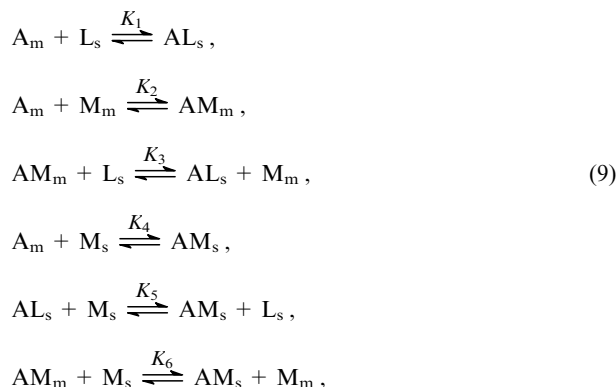
кие значения констант ассоциации сорбат–мицелла получены в случае НПАВ Brij 35, что трудно объяснить, если рассматривать только гидрофобные взаимодействия.

Как следует из основных равновесий, учитываемых при выводе уравнений (1) и (2), величины  $P_{mw}$  и  $K_2$  зависят только от природы сорбата и используемой мицеллярной системы, но не зависят от природы неподвижной фазы.<sup>17</sup> Следует отметить, что погрешность определения констант ассоциации также зависит от природы сорбата и увеличивается с увеличением его гидрофобности (значения  $P_{sw}$  велики и величина  $1/P_{sw}$  в уравнении (1) мала).

Добавление органического модификатора к мицеллярному раствору приводит к изменению характеристик мицеллярной системы (ККМ и числа агрегации),<sup>21, 22</sup> что должно, в свою очередь, привести к изменению взаимодействий сорбат–мицелла и, следовательно, к изменению удерживания.<sup>21, 22</sup> Взаимодействия сорбат–мицелла, как правило, уменьшаются в среде, модифицированной спиртами.<sup>9</sup> Действительно, константы ассоциации сорбат–мицелла, рассчитанные для ряда производных бензола и нафталина, с додецилсульфатом натрия и бромидом цетилтриметиламмония выше в чисто водных мицеллярных растворах, чем в растворах, содержащих 5 или 10 об.% модификатора — *n*-бутанола. Это связано, по мнению авторов работы<sup>20</sup>, с конкуренцией между молекулами сорбата и модификатора за взаимодействие с мицеллой. Добавки в систему солей (например, NaCl) могут увеличивать взаимодействие между сорбатом и мицеллой додецилсульфата натрия; при этом значения констант ассоциации могут быть даже выше, чем в чисто мицеллярных подвижных фазах.<sup>20</sup>

Таким образом, способность мицелл селективно сольбировать сорбат или взаимодействовать с ним является основой разделения в МЖХ с использованием привитых алкильных неподвижных фаз. Известно, что молекулы мономеров ПАВ легко адсорбируются на таких неподвижных фазах, меняя их свойства и внося определенный вклад в удерживание и селективность при проведении МЖХ. Однако при выводе уравнений (1), (2), (5) равновесие адсорбции ПАВ на неподвижной фазе не учитывается.

В работах<sup>23, 24</sup> объяснен механизм хирального узнавания при разделении энантиомеров 2,2'-дигидрокси-1,1'-динафтил- и -1,1'-динафтил-2,2'-диилгидрофосфатов МЖХ с использованием в подвижных фазах различных солей желчных кислот (например, холата натрия). С помощью трехфазной системы авторам это сделать не удалось. Предложена новая модель гетерогенной неподвижной фазы: на ODS(октадецилсульфат)неподвижной фазе адсорбируются мицеллы, в которые и происходит распределение аналитов. На основании существования в системе следующих равновесий:



где А, М и L — сорбат, мицелла и сольватированная неподвижная фаза соответственно, а индексы m и s относятся к подвижной и неподвижной фазам соответственно, выведено уравнение

$$\frac{1}{k'} = \frac{V_m}{K_3 K_4 V^L [L_s] + K_4 V_s^M [M_s]} + \frac{V_m^M [M_m]}{K_3 V^L [L_s] + V_s^M [M_s]}, \quad (10)$$

где  $V^L$ ,  $V_s^M$ ,  $V_m$  и  $V_m^M$  — объемы сольватированной неподвижной фазы; мицелл, адсорбированных на неподвижной фазе; мицелл растворителя и мицелл в подвижной фазе;  $[M_m] = c - c_{cr}$ , где  $c$  — общая концентрация ПАВ.

Механизм удерживания зависит от концентрации сорбатора (ацетонитрила) в подвижной фазе: при низких концентрациях ацетонитрила доминирует его распределение между мицеллами в подвижной и в неподвижной фазах. При более высоких — механизм хирального узнавания определяет распределение между объемом раствора подвижной фазы и адсорбированными на неподвижной фазе мицеллами. Однако учет равновесия адсорбции мицелл на неподвижной фазе не привел к изменению общей зависимости между удерживанием и концентрацией мицеллизированного ПАВ: как и в случае уравнений (1) и (2), зависимость  $1/k'$  от  $[M]$  линейна.

При выводе уравнений в качестве модельных сорбатов использовали нейтральные органические соединения, главным образом ароматические углеводороды. Распределение сорбата в мицелле определяется природой мицеллы и балансом гидрофильных и гидрофобных свойств сорбата. Мицелла имеет слоистое строение. В водном растворе она состоит из углеводородного ядра, водно-углеводородного слоя, толщина которого составляет обычно две–три группы  $CH_2$  и соответствует глубине проникновения молекул воды внутрь углеводородной части мицеллы или, наоборот, углеводородных цепей внутрь водной фазы (здесь достигается гидрофильно-гидрофобный баланс), слоя гидратированных полярных групп, прилегающего к мицелле неоднородного слоя раствора (диффузная часть двойного электрического слоя в случае ионных мицелл).<sup>22</sup> Поскольку в МЖХ мицеллу рассматривают как макроскопически гомогенную среду, нельзя однозначно сказать, где располагается сорбат. Так как для многих нейтральных органических соединений показано наличие корреляции между коэффициентами емкости и коэффициентами распределения в системе октанол–вода,<sup>8, 9</sup> считают, что основными взаимодействиями являются гидрофобные; сорбат при этом находится либо в гидрофобном углеводородном ядре, либо в ближайшем к нему слое. При распределении заряженных органических сорбатов помимо гидрофобных должны наблюдаться и электростатические взаимодействия, в том числе и с модифицированной за счет адсорбции мономерных ПАВ поверхностью неподвижной фазы.

Проведено систематическое изучение удерживания в МЖХ монопротонных,<sup>25–28</sup> дипротонных и пвиттер-ионных (аминокислот и пептидов) соединений.<sup>26–28</sup> Удерживание монопротонных соединений описывается<sup>26</sup> уравнением

$$k' = \frac{\phi L_s (K_s^{HA} + K_s^A - K_a/[H^+])}{1 + K_m^{HA} [M] + (1 + K_m^A - [M]K_a/[H^+])}, \quad (11)$$

где  $K_s^{HA}$ ,  $K_s^A$ ,  $K_m^{HA}$ ,  $K_m^A$  — константы связывания слабой кислоты НА и сопряженного с ней основания А с лигандами неподвижной фазы  $L_s$  и мицеллой М;  $K_a$  — константа диссоциации НА в водном растворе;  $[M]$  — концентрация мицелл, рассчитываемая как стехиометрическая концентрация ПАВ за вычетом ККМ. Уравнение (11) позволяет предсказать удерживание при любой концентрации мицелл и протонов.

Для дипротонных сорбатов в подвижной фазе существует равновесие



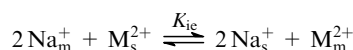
Каждая из частиц взаимодействует с мицеллой с константами равновесия  $K_{mc}$ ,  $K_{mz}$  и  $K_{ma}$  соответственно и с неподвижной фазой с константами  $K_{sc}$ ,  $K_{sz}$  и  $K_{sa}$  соответственно. Для расчета коэффициента емкости предложено уравнение

$$k' = \left[ \frac{k'_c(1 + K_{mc}[M]) + k'_z(1 + K_{mz}[M])K_{a1}}{[\text{H}^+]} + \frac{k'_a(1 + K_{ma}[M])K_{a1}K_{a2}}{[\text{H}^+]^2} \right] / \left[ \frac{1 + K_{mc}[M] + (1 + K_{mz}[M])K_{a1}}{[\text{H}^+]} + \frac{(1 + K_{ma}[M])K_{a1}K_{a2}}{[\text{H}^+]^2} \right], \quad (12)$$

где  $k'_c$ ,  $k'_z$  и  $k'_a$  — коэффициенты емкости ионов  $\text{HABN}^+$ ,  $\text{ABN}^+$  и  $\text{AB}$  соответственно;  $K_{ma}$  — кажущаяся константа диссоциации в мицеллярном растворе. Уравнения (11) и (12) полезны при изучении зависимости селективности от pH подвижной фазы. Они выведены в предположении существования только гидрофобных взаимодействий различных частиц (заряженных, незаряженных, цвиттер-ионов) с мицеллой и с неподвижной фазой с учетом протекания вторичных кислотно-основных равновесий в подвижной фазе.<sup>26</sup> Взаимодействия сорбат-мицелла в мицеллярной хроматографии цвиттер-ионов описаны в работе<sup>27</sup>. В работе<sup>28</sup> на примере цефалоспоринов изучен механизм удерживания в МЖХ цвиттер-ионов.

Поскольку гидрофобность неорганических анионов и катионов обычно невелика и основными взаимодействиями в таких системах являются электростатические, для объяснения механизма разделения катионов переходных металлов МЖХ была предложена ионообменная модель,<sup>29</sup> в которой ионные мицеллы (и неподвижную фазу, покрытую додецилсульфатом натрия) считают ионообменниками; удерживание определяется концентрациями мицелл и противоионов.

Для равновесия ионного обмена



(ионы  $\text{Na}^+$  — противоионы в мицелле додецилсульфата натрия, а индексы m и s относятся к фазам мицеллы и раствора соответственно,  $K_{ie}$  — константа) получено уравнение

$$\lg K_{MW}^{\text{app}} = \lg ([\text{Na}_m^+]^2 K_{ie}) - 2 \lg [\text{Na}_s^+], \quad (13)$$

где  $K_{MW}^{\text{app}}$  — кажущийся коэффициент распределения сорбата между водной и мицеллярной фазами. Для расчета  $K_{MW}$  использовано уравнение (11), предложенное ранее этим же автором<sup>30, 31</sup> для расчета времени удерживания в эксклюзионной МЖХ, упрощенное с учетом того, что внутренний объем для ODS-неподвижной фазы пренебрежимо мал

$$\frac{1}{V_r - V_0} = \frac{(K_{MW} - 1)v c_m + 1}{K_{SW} V_s}, \quad (14)$$

где  $V_r$ ,  $V_0$  и  $V_s$  — объем удерживания (элюирования) сорбата, мертвый объем колонки и объем неподвижной фазы;  $K_{MW}$  и  $K_{SW}$  — коэффициент распределения сорбата из водной фазы в мицеллу и в неподвижную фазу соответственно;  $v$  — парциальный мольный объем мицеллы;  $c_m$  — концентрация мицелл, равная, как и во всех ранее разобранных случаях, концентрации ПАВ за вычетом ККМ; Уравнение (14) аналогично уравнению (1).

Чтобы минимизировать распределение сорбатов в неподвижную фазу, в элюент рекомендовано добавлять соли, а также комплексообразующий реагент — винную кислоту.<sup>32</sup>

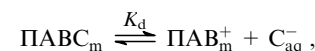
Если удерживание подчиняется ионообменной модели, то зависимость  $\lg K_{MW}^{\text{app}}$  от  $\lg [\text{Na}_s^+]$  должна быть линейной, что и получено экспериментально для всех металлов, причем тангенс угла наклона прямой равен 2.

Если учитывать комплексообразование ионов металла с тартрат-ионами в подвижной фазе (комплексы ML с константой устойчивости  $\beta_L$  и  $\text{MHL}^+$  с константой устойчивости  $\beta_{HL}$ ) уравнение (13) преобразуется в уравнение (15) ( $K_2$  — константа диссоциации винной кислоты).

$$\begin{aligned} \frac{1}{K_{MW}^{\text{app}}} &= [\text{Na}_s^+]^2 \left( 1 + \beta_{HL}[\text{HL}^-] + \frac{\beta_L[\text{L}^{2-}]}{K_{ie}[\text{Na}_m^+]^2} \right) = \\ &= [\text{Na}_s^+]^2 \left[ \frac{1 + (\beta_{HL}[\text{H}^+]/K_2 + \beta_L)[\text{L}^{2-}]}{K_{ie}[\text{Na}_m^+]^2} \right] \end{aligned} \quad (15)$$

В этом случае также получена линейная зависимость  $\lg K_{MW}^{\text{app}}$  от  $\lg [\text{Na}_s^+]$  для всех ионов металлов, т.е. комплексообразование не влияет на распределение сорбатов в мицеллярную фазу. Это понятно, так как в присутствии мицелл константы ионизации слабых кислот ( $pK_a$ ) увеличиваются,<sup>21</sup> что приводит к уменьшению концентрации реакционноспособного лиганда  $\text{L}^{2-}$  в системе. Так, если для винной кислоты при pH 4.35 в водном растворе присутствует 50% формы  $\text{L}^{2-}$ , то в присутствии додецилсульфата натрия — только 4%.<sup>29</sup>

Механизм, основанный на стехиометрической ионообменной модели для анионов в системе с катионным ПАВ, предложен в работе<sup>33</sup>. На основании существования равновесий аналита А и противоиона С



где индексы aq, s и m относятся к водному раствору, неподвижной фазе и мицеллярной фазе соответственно;  $K_{ies}$  и  $K_{iem}$  — константы ионообменного равновесия раствор-смола и раствор-мицелла;  $K_d$  — константа равновесия перехода противоиона из мицеллы в водную фазу выведены уравнений

$$\frac{\phi}{k'} = \frac{[\text{C}_{\text{aq}}^-]}{K_{ies}[\text{C}_s^-]} \left( 1 + \frac{K_{iem}c_m}{[\text{C}_{\text{aq}}^-] + K_d} \right), \quad (16)$$

$$\frac{n_s^c}{(V_r - V_0)[\text{C}_{\text{aq}}^-]} = \frac{1}{K_{ies}} \left( 1 + \frac{K_{iem}c_m}{[\text{C}_{\text{aq}}^-]} \right), \quad (17)$$

где  $n_s^c$  — количество молей противоиона в неподвижной фазе, которое равно количеству молей адсорбированного гексадецилтриметиламмония на неподвижной фазе,  $c_m$  — концентрация мицелл;  $V_r$  и  $V_0$  — объем удерживания аналита и мертвый объем колонки соответственно. Концентрация противоиона в водной фазе  $[\text{C}_{\text{aq}}^-]$  определяется как сумма концентраций добавленного противоиона  $\text{C}^-$  (за счет диссоциации мицелл) и противоионов мономерных ПАВ ( $c - c_{cr}$ ). Удерживание ионов в ионной мицеллярной хроматографии может быть описано стехиометрической ионообменной моделью и формально подчиняется псевдофазной модели, когда концентрация добавленного противоиона достаточно высока; при этом можно пренебречь концентрацией противоиона, образующегося при диссоциации мицелл.

Модель мицеллярной эксклюзионной хроматографии<sup>30, 31</sup> базируется на уравнении (1) и учитывает, что мицеллы хлоридов цетилтриметиламмония, додецилтриметиламмония<sup>30</sup> или додецилсульфата натрия<sup>31</sup> могут

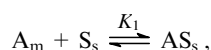
частично проникать в неподвижную фазу (внешний раствор). Во внутреннюю часть неподвижной фазы мицеллы не проникают, но там содержатся мономеры ПАВ (внутренний раствор) и ионы удерживаются за счет ионных взаимодействий. Удерживание в этом случае описывается уравнением

$$\frac{1}{V_r - V_e} = \frac{(K_{MW} - 1)V_{c_m} + 1}{V_i + V_s K_{SW}}, \quad (18)$$

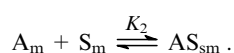
где  $V_r$ ,  $V_e$ ,  $V_i$  и  $V_s$  — объем удерживания сорбата, объемы внешнего раствора, внутреннего раствора и неподвижной фазы соответственно;  $K_{MW}$  — коэффициент распределения (отношение концентраций) сорбата в мицеллярной фазе и в фазе внутреннего раствора;  $K_{SW}$  — коэффициент распределения (отношение концентраций) сорбата в неподвижной фазе и в фазе внутреннего раствора;  $V$  — мольный объем ПАВ;  $c_m$  — концентрация мицелл в элюенте. Зависимость  $1/(V_r - V_e)$  от  $c_m$  линейна как для анионов ( $\text{IO}_3^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ),<sup>30</sup> так и для катионов ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ).<sup>31</sup>

Таким образом, для описания МЖХ существуют две основные модели — уравнения (1) и (2), — адекватно описывающие зависимость удерживания сорбатов от концентрации мицеллизированного ПАВ в подвижной фазе и основанные на трех равновесиях: распределении сорбата между мицеллярной подвижной фазой и водной подвижной фазой, между мицеллярной подвижной фазой и неподвижной фазой, между неподвижной фазой и водной подвижной фазой. Основным типом взаимодействий в случае органических незаряженных и заряженных сорбатов являются гидрофобные, а для катионов переходных металлов — электростатические. Неподвижная фаза всегда модифицирована за счет адсорбции мономерных молекул ПАВ, однако этот эффект учитывается лишь качественно. Во многих случаях наблюдали<sup>34–36</sup> необратимую адсорбцию ПАВ на различных коммерческих силикагелях с привитыми группами  $\text{C}_{18}$ . Необратимо сорбируемое количество ПАВ, как показано на примере бромиды цетилтриметиламмония, зависит от характеристик сорбента, типа элюента и температуры.<sup>36</sup> В случае додецилсульфата натрия 6%  $\text{C}_{14}$ , первоначально сорбированного на неподвижной фазе, сорбируются необратимо.<sup>35</sup> В целом необратимая адсорбция более вероятна для мономерных неподвижных фаз с высокой плотностью прививки лигандов и ПАВ с небольшой полярной головной группой (когда и ПАВ, и привитой лиганд имеют длину алкильной цепи больше восьми атомов углерода).<sup>35</sup> На ранних стадиях изучения МЖХ считали, что адсорбция ПАВ прекращается после ККМ. Исследования 1989 г.<sup>37</sup> показали, что при адсорбции додецилсульфата натрия на Resolve  $\text{C}_{18}$  более 58% от его общего содержания адсорбируется, когда концентрация в подвижной фазе изменяется в интервале от 2 до 70 ККМ. Для Brij-22 и Brij-35 более 50% общего адсорбированного количества ПАВ сорбируется на Resolve  $\text{C}_{18}$  из растворов с начальной концентрацией более 50 ККМ. Таким образом, адсорбция и НПАВ, и АПАВ продолжается и после достижения ККМ.

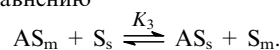
Недавно появилась публикация<sup>38</sup>, в которой авторы попытались учесть адсорбцию ПАВ на поверхности неподвижной фазы. Модель также является трехфазной. Неподвижная фаза — ПАВ, адсорбированное на ODS-сорбенте. Сорбат, находящийся во внемицеллярной подвижной фазе  $A_m$ , может связываться с ПАВ на неподвижной фазе  $S_s$  в виде комплекса  $AS_s$  по уравнению



а с ПАВ в подвижной фазе  $S_m$  в виде комплекса  $AS_m$  по уравнению



Может также происходить прямой перенос сорбата, связанного с ПАВ в подвижной фазе  $AS_m$ , в неподвижную фазу по уравнению



Коэффициент емкости можно выразить уравнением

$$k' = \frac{K_1 V_s^S [S_s]}{V_m + K_2 V_m^S [S_m]}, \quad (19)$$

где  $V_s^S$ ,  $V_m$  и  $V_m^S$  — объем адсорбированного на неподвижной фазе ПАВ, объем основной массы растворителя и объем ПАВ в подвижной фазе.

Из уравнения (19) следует, что

$$\frac{1}{k'} = \frac{V_0'}{K_1 W_s} + \frac{K_2 V_m^S [S_m]}{K_1 W_s}, \quad (20)$$

где  $W_s = V_s^S [S_s]$  — масса адсорбированного на неподвижной фазе ПАВ;  $V_m = V_m^S - V_0$ . Зависимость  $1/k'$  от  $[S_m]$  (определяют как общую концентрацию ПАВ в подвижной фазе) должна быть линейна. Определено содержание додецилсульфата натрия на неподвижной фазе (16.5%), что почти равно отношению углерод:кремний исходного сорбента (17.1%). То есть октадецильные группы сорбента в большой степени покрыты адсорбированным ПАВ, и неподвижную фазу можно рассматривать как адсорбированное ПАВ. Зависимость  $1/k'$  от  $[S_s]$  линейна для изученных модельных сорбатов — хлорида бензилтриэтиламмония и фенилаланина. Следует отметить, что вид уравнения (20) аналогичен виду уравнения (2), только в уравнение (2) входит концентрация ПАВ в виде мицелл в растворе (за вычетом ККМ), а в уравнение (20) — общая концентрация ПАВ в растворе.

Включение некоторых других равновесий — кислотно-основных в подвижной фазе или адсорбции мицелл на неподвижной фазе — не изменяет выражения, описывающего зависимость удерживания от концентрации мицелл. Электростатические взаимодействия (ионный обмен между катионами металлов и катионами диффузной части двойного электрического слоя) учтены в ионообменной модели МЖХ, в которой удерживание зависит как от концентрации мицелл, так и от концентрации противоионов.

### III. Эффективность мицеллярной жидкостной хроматографии

Один из главных недостатков метода МЖХ — низкая эффективность по сравнению с ОФ ВЭЖХ. В литературе приведено несколько объяснений этого явления. В одном из них<sup>39</sup> предполагают, что основным фактором размывания полосы является сопротивление массопереносу сорбата в неподвижную фазу из-за плохого смачивания неподвижной фазы. В работе<sup>40</sup> считают, что сопротивление массопереносу происходит как за счет низких скоростей выхода сорбата из мицеллы, так и за счет его медленной десорбции с неподвижной фазы. При построении модели авторы работы<sup>40</sup> учитывали кинетику адсорбции – десорбции сорбата в неподвижную фазу (с неподвижной фазы), с одной стороны, и кинетику входа – выхода сорбата из мицеллы в объем немиецеллярной подвижной фазы, с другой. Рассчитав константы скорости всех процессов, авторы работы<sup>40</sup> показали, что константа скорости входа в мицеллу значительно выше константы скорости адсорбции на неподвижной фазе (силикагель с  $\text{C}_{18}$ -привитыми радикалами Supelcosil LC 1) за счет различий в расстоянии, которое нужно пройти сорбату. Так, 0.10 М раствор додецилсульфата натрия содержит  $9.03 \cdot 10^{17}$  мицелл  $\cdot \text{cm}^{-3}$ . Следовательно, чтобы доставить сорбат из объема раствора к поверхности неподвижной фазы, необходимо преодолеть около 180 мицелл, тогда как для повторного столкновения с мицеллой нужно пройти

значительно меньшее расстояние. Для того чтобы сорбат перешел из мицеллы в неподвижную фазу, необходима его определенная ориентация по отношению к неподвижной фазе. Для обратного перехода определенной ориентации не требуется, сорбат может войти в мицеллу в любой точке. Константы скорости всех четырех процессов зависят от природы сорбатов.

Небольшие, хорошо растворимые в воде молекулы с большими константами скоростей входа и выхода из мицеллы могут быстро двигаться в объем раствора, многократно входить в мицеллу и выходить из нее прежде, чем достигнут поверхности неподвижной фазы. Для таких гидрофильных сорбатов эффективность (массоперенос) не лимитируется мицеллярными равновесиями. Для более гидрофобных сорбатов сродство к мицелле выше и константы скорости выхода из мицеллы значительно ниже (например, для пирена в 1000 раз ниже, чем для бензола). Следовательно, гидрофобные сорбаты остаются в мицелле значительно дольше, уменьшая массоперенос между мицеллой и неподвижной фазой. Поскольку наблюдается симбатная корреляция между константами скорости выхода сорбата из мицеллы и константами десорбции с неподвижной фазы, гидрофильные сорбаты могут чаще возвращаться в объем подвижной водной фазы и тем самым быть ближе к равновесию. Гидрофобные сорбаты остаются в неподвижной фазе значительно дольше. Следствием различий в скоростях этих процессов для сорбатов гидрофильного и гидрофобного характера является хорошая эффективность для первых и размытые пики для вторых.

Для улучшения эффективности и формы пиков предложено добавлять в подвижную фазу небольшие количества органических модификаторов и работать при повышенных температурах.<sup>40</sup> Наблюдаемые улучшения эффективности в присутствии 2–5 об.% спиртов авторы работы<sup>40</sup> объясняют улучшением массопереноса в подвижной фазе за счет увеличения скорости выхода сорбата из мицеллы, так как немиецеллярная часть подвижной фазы становится менее полярной. Увеличение эффективности при повышении температуры (для небольших сорбатов типа бензола и фенола число теоретических тарелок ( $N$ ) увеличивается на 50–100% при 50–60 °C) авторы связывают как с улучшением мицеллярной кинетики, так и с понижением вязкости подвижной фазы. Добавки в подвижную фазу 3% пропанола и повышение температуры до 40 °C позволяют достигнуть эффективностей, близких к эффективностям ОФ ВЭЖХ с водно-органическими элюентами.<sup>39,41</sup> Благоприятствует повышению эффективности уменьшение концентрации ПАВ.<sup>40</sup> Действительно, в работе<sup>42</sup> было показано, что использование повышенных концентраций ПАВ в подвижной фазе может вызвать потерю эффективности. Еще один фактор, влияющий на высоту, эквивалентную теоретической тарелке (ВЭТТ), — линейная скорость.<sup>40</sup> Если для маленьких молекул (бензол) получена зависимость, почти аналогичная полученной для обычной ОФ ВЭЖХ, то для больших молекул (нафталин, антрацен) падение эффективности с увеличением скорости значительно больше. В работе<sup>40</sup> рекомендуют работать при низких скоростях потока.

В МЖХ низкую эффективность связывают<sup>36,43–45</sup> с адсорбцией ПАВ на поверхности неподвижной фазы, что приводит к плохому массопереносу в неподвижной фазе.<sup>43,44</sup> Отмечена<sup>43</sup> прямая зависимость между количеством ПАВ в неподвижной фазе и уменьшением эффективности.

На основании определения коэффициентов диффузии ряда сорбатов (2-нафтола, *n*-нитроанилина, *n*-нитрофенола, нафталиндисульфоновых и нафталинтрисульфоновой кислот) в отсутствие и в присутствии в подвижной фазе додецилсульфата и метансульфоната натрия авторы работы<sup>43</sup> попытались выяснить, какой из процессов массопереноса (в подвижной или неподвижной фазах) является причиной

плохой эффективности. Сорбаты можно разделить на две группы: те, которые сильно взаимодействуют с мицеллами (2-нафтол, *n*-нитроанилин и *n*-нитрофенол), и те, которые не взаимодействуют, отталкиваются или исключаются из мицелл (натриевые соли 2,6-нафталиндисульфоновой, 4,5-дигидроксинафталин-2,7-дисульфоновой и 1,3,6-нафталинтрисульфоновой кислот). Первая группа сорбатов имеет в мицеллярных подвижных фазах заметно меньшие коэффициенты диффузии. Так, коэффициент диффузии 2-нафтола и 1,6-нафталиндисульфоната натрия  $6.0 \cdot 10^{-6}$  и  $6.71 \cdot 10^{-6} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$  в воде;  $5.67 \cdot 10^{-6}$  и  $4.73 \cdot 10^{-6} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$  в 0.1 М растворе  $\text{MeSO}_3\text{Na}$ ;  $0.90 \cdot 10^{-6}$  и  $4.0 \cdot 10^{-6} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$  в 0.1 М растворе додецилсульфата натрия. Если бы размывание полос определял медленный массоперенос в мицеллярной фазе, то наблюдались бы различные значения эффективностей для двух групп сорбатов. Кроме того, при различных концентрациях ПАВ в подвижной фазе не наблюдается значительных изменений  $N$ . Все это указывает на то, что наиболее вероятным фактором, вызывающим ухудшение эффективности, является сопротивление массопереносу в неподвижной фазе. Эффективность сильно зависит от скорости потока. Например, в случае *n*-нитроанилина для колонки  $300 \times 4$  мм с пропилнитрильной неподвижной фазой  $N$  увеличивается с 400 до 1300 при уменьшении скорости потока подвижной фазы с 1.5 до  $0.25 \text{ мл} \cdot \text{мин}^{-1}$ . Однако это не может служить доказательством в пользу только замедленного процесса массопереноса в подвижной фазе, так как, согласно уравнению Ван Деемтера, оба члена, вносящие вклад в величину ВЭТТ за счет сопротивления массопереносу как в подвижной, так и в неподвижной фазах, пропорциональны линейной скорости потока.

Полагают,<sup>42</sup> что улучшение эффективности МЖХ с мицеллами ионных ПАВ происходит за счет изменений в подвижной фазе: за счет снижения плотности электрического заряда на поверхности ионных мицелл уменьшается барьер отталкивания. Действительно, введение алканов не влияет на поверхностную плотность заряда и не приводит к улучшению эффективности для очень гидрофобных сорбатов. Добавки спиртов не приводят к повышению эффективности МЖХ с НПАВ, например с Brij-35.

В работе<sup>46</sup> для того, чтобы уменьшить сопротивление массопереносу в неподвижной фазе и улучшить эффективность, предложено использовать гибридные подвижные фазы. Введение добавок коротко- и среднецепочечных спиртов вызывает десорбцию ПАВ с неподвижной фазы, что ведет к улучшению массопереноса в неподвижной фазе (из неподвижной фазы), а также повышает смачивание.<sup>37,39,41,42</sup> Этот эффект увеличивается с ростом концентрации и гидрофобности модификатора.<sup>19,37,47</sup> Исследование<sup>41</sup>, проведенное на широком круге сорбатов, показало, что не для всех сорбатов наблюдается одинаковое улучшение эффективности колонки, но все же был сделан вывод, что причиной увеличения эффективности является уменьшение количества адсорбированного ПАВ на неподвижной фазе.

Другой механизм влияния спиртов на эффективность предложен в работе<sup>44</sup>. По мнению авторов, при использовании гибридных элюентов возможны изменения в структуре самой неподвижной фазы от глыбоподобной до щеточной, что также может улучшить массоперенос в неподвижную фазу (из неподвижной фазы). При этом отмечается, что при использовании гибридных элюентов значительное повышение эффективности наблюдается с гидрофобными, но не с гидрофильными сорбатами.<sup>35,43–45</sup>

Поскольку нет единой точки зрения на причины плохой эффективности МЖХ, исследователи постоянно возвращаются к этой проблеме.<sup>35,45,48</sup> Так, исследование влияния природы органического модификатора (этилацетат, *n*-пропанол) на эффективность колонки, заполненной различными сорбентами с привитыми  $\text{C}_{1-}$ ,  $\text{C}_8-$ ,  $\text{C}_{18-}$  или цианопропильными группами, при элюировании подвижными фазами с

концентрациями ПАВ выше или ниже ККМ позволило выявить корреляцию между эффективностью колонки и степенью смачивания поверхности привитых сорбентов органическим растворителем.

Изучено влияние на эффективность колонки концентрации додецилсульфата натрия ( $0-0.35$  моль  $\cdot$  л $^{-1}$ ) и *n*-пропанола ( $0-0.8$  моль  $\cdot$  л $^{-1}$ ) при ионной силе ( $\text{NaClO}_4$ )  $0-0.3$  моль  $\cdot$  л $^{-1}$ .<sup>45</sup> В отсутствие мицелл в подвижной фазе эффективность колонки изменяется незначительно. Это позволяет предположить, что уменьшение количества додецилсульфата натрия, адсорбированного на неподвижной фазе, не является причиной увеличения эффективности в присутствии спиртов, как это считали авторы работ<sup>35, 39, 41, 42</sup>. В отсутствие мицелл при низких концентрациях спирта (не выше  $0.13$  моль  $\cdot$  л $^{-1}$ ) эффективность колонки для бензальдегида и ацетофенона достигает максимума, и это может быть отнесено за счет модифицирования структуры поверхности неподвижной фазы. Однако при больших концентрациях спирта, которые обычно в МЖХ используют для достижения лучшей эффективности, эффективность колонки приблизительно постоянна. Это может свидетельствовать о том, что в присутствии *n*-пропанола поверхность неподвижной фазы не модифицируется. При изучении факторов, влияющих на массоперенос в подвижной фазе в интервале концентраций додецилсульфата натрия от ККМ до  $0.3$  моль  $\cdot$  л $^{-1}$ , показано, что зависимость проходит через максимум при концентрации  $0.005-0.012$  моль  $\cdot$  л $^{-1}$ , положение которого зависит от гидрофобности сорбата. При больших концентрациях эффективность падает, что согласуется с данными работы<sup>40</sup>. В присутствии *n*-пропанола максимум более широкий, менее ярко выражен, эффективность колонки увеличивается с  $200-2200$  до  $700-3700$  теоретических тарелок. Эти результаты позволили авторам сделать вывод, что массоперенос в неподвижной фазе не является основной причиной низкой эффективности, ее предлагают искать в процессах мицеллообразования. В мицеллярной системе постоянно протекают два противоположно направленных процесса: распад мицелл и их образование. В мицеллярной системе происходит быстрый обмен мономера ПАВ с мицеллой (время жизни молекулы ПАВ в мицелле порядка  $10^{-7}$  с (см.<sup>22</sup>)) и медленный процесс образования и распада мицелл (период полураспада мицеллы  $10^{-3}-1$  с (см.<sup>22</sup>)). В свою очередь, этот процесс можно разбить на два: 1) ряд ступенчатых реакций присоединения единичных молекул к агрегатам ПАВ с образованием мицелл; 2) ассоциация домицеллярных агрегатов с образованием мицелл. Каждый из этих процессов может влиять на массоперенос сорбата между элюентом и неподвижной фазой. Добавки спиртов могут влиять на эти процессы и улучшать кинетику массопереноса в подвижной фазе.

Потерю эффективности, вызванную добавлением спиртов в подвижную фазу, содержащую мицеллы додецилсульфата натрия, при элюировании *L*-допа, 2-метилдопа, норэпинефрина, эпинефрина, адреналона, допамина, изопроterenоло на Сферисорбе ODS-2  $\text{C}_{18}$  наблюдали авторы работы<sup>49</sup>. Аналогичные закономерности при элюировании аминов ранее были отмечены в работах<sup>50, 51</sup>. Предполагают, что массоперенос происходит по двум механизмам: прямой перенос из мицелл к неподвижной фазе, которому противодействует электростатическое отталкивание между ними, и перенос через непрерывную водную псевдофазу. В присутствии спирта полярность непрерывной водной псевдофазы уменьшается. С одной стороны, за счет этого увеличивается скорость переноса через нее гидрофобных сорбатов, а с другой стороны — растворимость и скорость переноса высокогидрофильных катехоламинов через непрерывную псевдофазу уменьшается, чем и объясняют уменьшение эффективности.

В работах<sup>33, 52</sup> проведен анализ размывания полосы в МЖХ с помощью уравнения Нокса

$$h = Av^{1/3} + B/v + Cv, \quad (21)$$

где  $h = H/d_p$  — приведенная высота, эквивалентная теоретической тарелке,  $H$  — высота, эквивалентная теоретической тарелке,  $d_p$  — размер частиц неподвижной фазы,  $v = ud_p/D_m$  — приведенная линейная скорость,  $u$  — линейная скорость подвижной фазы;  $D_m$  — коэффициент диффузии сорбата в подвижной фазе;  $A$  — коэффициент, характеризующий качество заполнения колонки и замедленный массообмен в подвижной фазе вне частиц;  $B$  — коэффициент, учитывающий вклад в размывание полосы продольной диффузии;  $C$  — коэффициент, описывающий замедленный массообмен в неподвижной фазе.

Зависимости  $h$  от  $v$  были определены<sup>33</sup> на одной и той же колонке сначала с водно-органической подвижной фазой, затем с мицеллярной подвижной фазой, затем снова с той же самой водно-органической подвижной фазой. Использовали два типа алкилированных силикагелей: мономерный  $\text{C}_{18}$ -сорбент и  $\text{C}_{14}$ -сорбент с высокой плотностью прививки алкильных групп ( $3.5$  мкмоль  $\cdot$  м $^{-2}$ ) и два типа ПАВ — додецилсульфат натрия (АПАВ) и Brij-35 (НПАВ). Показано, что увеличение  $h$  происходит главным образом за счет увеличения значения коэффициента  $A$ : так, для бензола с подвижной фазой метанол–вода при  $v$ , равном  $10$ ,  $h = 4.9$ , а в присутствии додецилсульфата натрия при  $v = 10.9$  вклад коэффициента  $A$  составляет  $2.36$  (48% метанола) и  $6.9$  (63% метанола) соответственно. В мицеллярных элюентах вклад коэффициентов  $B$  и  $C$  также увеличивается, вследствие чего увеличивается размывание полосы и уменьшается эффективность. Уменьшение коэффициента диффузии сорбатов при включении в мицеллы вызывает рост значения  $B$ . Коэффициент диффузии сорбата в неподвижной фазе зависит от природы сорбата и уменьшается с увеличением гидрофобности, причем очень гидрофобные сорбаты переносятся из мицеллы непосредственно в неподвижную фазу, минуя водную внемицеллярную фазу, в которой они плохо растворимы. Значение коэффициента  $C$  увеличивается в мицеллярной системе (например, для пропилбензола до 700%). Уменьшение коэффициентов массопереноса может быть также связано с плохим смачиванием.<sup>2, 39</sup> Наиболее важной причиной, однако, считают адсорбцию ПАВ на неподвижной фазе.<sup>16, 17, 43, 44, 50</sup>

Адсорбция ПАВ на поверхности неподвижной фазы (на  $\text{C}_{18}$ -сорбенте адсорбируется  $70$  мг  $\cdot$  г $^{-1}$  Brij-35, а на  $\text{C}_{14}$ -сорбенте —  $140$  мг  $\cdot$  г $^{-1}$  или  $2.3$  мкмоль  $\cdot$  м $^{-2}$  додецилсульфата натрия), во-первых, приводит к уменьшению объема пор, засоряет самые маленькие поры с диаметром менее  $7$  нм, значительно уменьшает площадь поверхности неподвижной фазы и ее проницаемость.<sup>35</sup> Следствием этого является рост значений коэффициента  $A$ . Во-вторых, адсорбция ПАВ увеличивает толщину органического слоя неподвижной фазы, уменьшает скорость массопереноса и коэффициенты диффузии в неподвижной фазе, коэффициенты диффузии сорбатов в подвижной фазе.<sup>16, 42, 43, 46</sup> Следствием этого является увеличение значений коэффициентов  $B$  и  $C$ . Поверхностно-активное вещество, адсорбированное на неподвижной фазе, можно вымыть чистым растворителем, однако адсорбция может быть частично необратимой.<sup>32-34</sup> После работы с мицеллярными фазами эффективность колонки резко падает, что следует из данных по величинам коэффициентов  $A$ ,  $B$ ,  $C$  в уравнении Нокса для бензола. Это также является следствием изменения пористости и проницаемости неподвижной фазы.

| Подвижная фаза                                                | <i>A</i> | <i>B</i> | <i>C</i> |
|---------------------------------------------------------------|----------|----------|----------|
| Метанол–вода (30 : 70)                                        | 1.1      | 3.1      | 0.22     |
| 1.4% додецилсульфата натрия в воде                            | 3.2      | 20       | 0.2      |
| Метанол–вода (30 : 70) после работы с додецилсульфатом натрия | 5.7      | 4        | –0.7     |

Изучено влияние температуры на зависимость  $h$  от  $v$  для ацетофенона, нитробензола, бензола, метилбензоата и толуола в МЖХ с водным раствором додецилсульфата натрия в интервале 25–45 °С.<sup>52</sup> Так, значения коэффициентов  $A$ ,  $B$  и  $C$  для  $n$ -нитрофенола в 0.02 М растворе додецилсульфата натрия при 25 °С —  $2.34 \pm 0.14$ ,  $7.43 \pm 0.69$  и  $0.074 \pm 0.013$ ; при 45 °С —  $1.06 \pm 0.13$ ,  $11.4 \pm 0.65$  и  $0.026 \pm 0.010$  соответственно. Аномальным и необъяснимым является уменьшение коэффициента  $B$  при 35 °С ( $5.16 \pm 0.66$ ).<sup>52</sup>

Заметное улучшение хроматографической эффективности с ростом температуры происходит за счет уменьшения значений как коэффициента  $A$  (анизотропия потока), так и  $C$  (массоперенос в неподвижной фазе). Уменьшение значения  $A$  с повышением температуры можно объяснить уменьшением константы распределения сорбата между мицеллой и объемом раствора ( $K_2$ , уравнение (2)), и, следовательно, уменьшением доли сорбата, связанного с мицеллами додецилсульфата натрия в подвижной фазе. В конечном итоге достигается уменьшение вихревой диффузии. Уменьшение значений коэффициента  $C$  с ростом температуры можно объяснить уменьшением адсорбции ПАВ на неподвижной фазе и возрастанием скорости массопереноса сорбата между подвижной и неподвижной фазами. Кроме того, текучесть привитых алкильных цепей и поглощенного ПАВ увеличиваются с повышением температуры, что также уменьшает сопротивление массопереносу в неподвижной фазе.

Значения коэффициента  $B$  существенно увеличиваются с повышением температуры как за счет уменьшения вязкости основной массы растворителя, так и за счет перехода части сорбата от мицеллы в объем раствора.

На примере разделения 12 полициклических ароматических углеводородов на Nova-Pak C<sub>18</sub> изучено влияние природы и содержания спирта и температуры колонки на эффективность разделения в МЖХ с использованием додецилсульфата натрия.<sup>53</sup> Число теоретических тарелок значительно увеличивается с увеличением концентрации ПАВ в подвижной фазе до значения 0.13 моль · л<sup>-1</sup>. При переходе от метанола к 2-пропанолу пик становится более симметричным и наблюдается увеличение эффективности для менее гидрофобных сорбатов (флуорена и хризена). Для более гидрофобного дибензо[*a*,*c*]антрацена более симметричные пики получены с  $n$ -бутанолом, хотя изменение эффективности при этом незначительно. Следует отметить, что в МЖХ в отличие от обычной ВЭЖХ число теоретических тарелок принято рассчитывать по формуле.<sup>54</sup>

$$N = \frac{[41.7(t_R/w_{0.1})^2]}{(B/A + 1.25)}, \quad (22)$$

где  $t_R$  — время удерживания;  $w_{0.1}$  — ширина пика на 10% высоты;  $B/A$  — фактор асимметрии пика.

Увеличение температуры приводит к незначительному улучшению эффективности и значительному улучшению формы пиков. При этом влияние скорости потока на  $N$  при различных температурах зависит от гидрофобности сорбата.

При изучении влияния спиртов — модификаторов подвижной фазы — на эффективность МЖХ показано, что добавление небольших количеств пропанола или пентанола к мицеллярной подвижной фазе ведет к улучшению эффективности из-за значительного уменьшения значений коэффициентов  $A$  и  $C$  в уравнении (21).<sup>52</sup> Рост коэффициента  $B$  при добавлении спирта происходит, вероятно, за счет уменьшения вязкости подвижной фазы и сдвига равновесия сорбата в системе мицелла — объем растворителя. Следовательно, механизм влияния на эффективность разделения в МЖХ и повышения температуры и добавки спиртов во многом сходен.

Таким образом, как в работе<sup>33</sup>, так и в работе<sup>52</sup> ухудшение эффективности МЖХ связывают со значительным уве-

личением коэффициентов  $A$  и  $C$  в уравнении Нокса. В размывание полосы вносят вклад анизотропия потока, сопротивление массопереносу в неподвижной и в подвижной фазе и молекулярная диффузия. Для улучшения эффективности в МЖХ рекомендуют использовать гибридные элюенты.

## IV. Селективность мицеллярной жидкостной хроматографии

На селективность разделения в МЖХ влияют тип и концентрация ПАВ, природа и концентрация органического модификатора, pH, ионная сила, температура, природа неподвижной фазы. Наиболее подробно изучено влияние концентрации ПАВ и органического модификатора. В МЖХ элюирующая сила чисто мицеллярных элюентов невелика, она увеличивается с ростом концентрации мицелл в подвижной фазе.<sup>47</sup>

### 1. Влияние концентрации поверхностно-активных веществ

В работе<sup>12</sup> выведено уравнение (23) для расчета оптимальной концентрации мицелл (а не мицеллизированного ПАВ, как в уравнениях (1) и (2)).

$$pM_{opt} \approx \lg K_{SM} - \frac{1}{2} \lg \frac{k'_s}{k'_1}, \quad (23)$$

$pM_{opt} = -\lg [M]$ ,  $K_{SM}$  — константа ассоциации сорбата с мицеллой, рассчитанная на мицеллу, а не на мономер;  $k'_s$  — коэффициент емкости сорбата (предельное значение),  $k'_1$  — коэффициент емкости сорбата при концентрации ПАВ 1 моль · л<sup>-1</sup>.

По уравнению (23) рассчитаны оптимальные значения  $pM$  для широкого круга сорбатов и трех ПАВ — додецилсульфата натрия, бромида цетилтриметиламмония и Brij-35. Значения концентраций ПАВ, рассчитанные по этому уравнению, лежат в широком интервале и оптимальны с точки зрения селективности, но не удерживания.

Для дигидропиридинов на C<sub>18</sub>-неподвижной фазе с увеличением концентрации ПАВ наблюдается тенденция к изменению механизма удерживания от трех равновесий распределения к прямому переносу сорбатов из мицелл в неподвижную фазу.<sup>55, 56</sup>

В работе<sup>57</sup> выведены уравнения для прогнозирования времен удерживания в градиентном режиме элюирования с градиентом концентрации мицелл из изократических данных

$$t_R = (t_0/b)\{ -1/k'_0 + [(1/k'_0)^2 + 2b(1-f)]^{1/2} \} + t_0 + t_D \quad (24)$$

где  $t_0$  — мертвое время колонки;  $b$  — параметр крутизны градиента;  $k'_0$  — коэффициент емкости в начальной подвижной фазе;  $t_D$  — время задержки, т.е. время до того, как градиент действительно достигнет верхней части колонки;  $f$  — доля колонки, которую прошла полоса сорбата, рассчитываемая по уравнению

$$f = t'_D/t_R = \frac{[t_D(1 + 1/k'_0)]}{t_R}. \quad (25)$$

### 2. Влияние концентрации органического модификатора

Введение органического растворителя в мицеллярные элюенты приводит к одновременному повышению элюирующей силы и селективности для некоторых ионных и неионных сорбатов.<sup>47, 58, 59</sup> Повышение селективности связывают с существованием конкурентного распределения в МЖХ и уникальной особенностью мицелл сольubilизировать отдельно молекулы сорбатов и органических растворителей.

Дальнейшее изучение роли органических модификаторов и мицелл при контроле элюирующей силы и селективности МЖХ на примере аминокислот, небольших пептидов, фенолов, замещенных бензолов и бензойных кислот в системе додецилсульфат натрия — вода — 2-пропанол подтвердило

одновременное повышение элюирующей силы и селективности;<sup>60</sup> при этом селективность изменяется систематически и монотонно с увеличением концентрации 2-пропанола в подвижной фазе. Концентрация мицелл оказывает на селективность противоположный эффект по сравнению с 2-пропанолом. Для тех пар ионов, для которых селективность уменьшается с увеличением концентрации 2-пропанола, наблюдается улучшение селективности с ростом концентрации мицелл, и наоборот. Таким образом, хотя элюирующая сила подвижной фазы увеличивается с ростом концентрации мицелл и органического растворителя, влияние этих двух параметров на селективность может быть совершенно различным и даже противоположным. Мицеллы и 2-пропанол конкурируют за взаимодействие с сорбатами, что влияет на удерживание и селективность.

Зависимость удерживания от объемной доли ( $\varphi$ ) органического модификатора описывается уравнением<sup>47</sup>

$$\ln k' = -S_{\text{hyb}}\varphi + \ln k'_0, \quad (26)$$

где  $S_{\text{hyb}}$  — параметр силы растворителя;  $\ln k'_0$  — кажущийся (экстраполированный) коэффициент емкости сорбата в чисто мицеллярной подвижной фазе.

Уравнение (26) аналогично уравнению (1), используемому для описания изменения удерживания с изменением объемной доли органического модификатора в ОФ ВЭЖХ. Объединяя уравнения (26), (1) и (2), получаем зависимости (27) и (28)

$$\ln(P_{\text{SW}}\Phi) = -S_s + \ln(P_{\text{SW}}^0\Phi), \quad (27)$$

$$\ln(K_{\text{MW}}[M] + 1) = -S_m + \ln(K_{\text{MW}}^0[M] + 1), \quad (28)$$

где  $S_s$  и  $S_m$  — параметры, характеризующие чувствительность к изменениям распределения сорбата из объема раствора в неподвижную фазу и в мицеллы с изменением  $\varphi$ ;  $P_{\text{SW}}^0$  — коэффициент распределения сорбата между подвижной и неподвижной фазами для водных мицеллярных элюентов, т.е. в отсутствие органического модификатора;  $K_{\text{MW}}^0$  — константа связывания сорбата с мицеллой.

Параметр  $S_{\text{hyb}}$  зависит от  $S_s$  и от  $S_m$

$$S_{\text{hyb}} = S_s - S_m. \quad (29)$$

Из уравнений (27)–(29) можно сделать несколько выводов. Во-первых, величина параметра силы растворителя в гибридных элюентах  $S_{\text{hyb}}$  меньше, чем в водно-органических элюентах. Во-вторых,  $S_m$  и, следовательно,  $S_{\text{hyb}}$  зависят от концентрации мицелл. Для двух сорбатов ( $a$  и  $b$ ) при двух концентрациях органического растворителя ( $\varphi_1$  и  $\varphi_2$ ) в подвижной фазе справедливо уравнение

$$\ln \alpha_2 - \ln \alpha_1 = -(S_{\text{hyb}}^b - S_{\text{hyb}}^a)(\varphi_2 - \varphi_1), \quad (30)$$

комбинирование уравнений (26), (29) и (30) дает уравнение (31)

$$\ln \alpha = (dS_m - dS_s)\varphi + \ln \alpha_0, \quad (31)$$

где  $\alpha = k'_b/k'_a$  — коэффициент селективности ( $k'_b > k'_a$ );  $dS_m$  и  $dS_s$  — различия в величинах  $S_m$  и  $S_s$  для двух соединений  $a$  и  $b$ ;  $\alpha_0$  — коэффициент селективности в чисто водном мицеллярном элюенте.

Из уравнения (31) следует, что селективность ( $\ln \alpha$ ) линейно зависит от объемной доли органического модификатора в подвижной фазе, монотонно уменьшаясь или увеличиваясь в зависимости от соотношения  $dS_m$  и  $dS_s$  для двух сорбатов. Так, для большинства замещенных бензолов, аминокислот и пептидов существует обратная зависимость между удерживанием и  $S_{\text{hyb}}$ : чем сильнее удерживаются соединения, тем меньше величина  $S_{\text{hyb}}$ ; при этом для большинства ароматических соединений, аминокислот и белков

наблюдается прямая зависимость между удерживанием и  $S_m$  и обратная между удерживанием и  $S_s$ . Влияние структуры сорбата на величину  $S_{\text{hyb}}$  сказывается в основном на изменении  $S_s$ .

Влияние концентрации органического растворителя и мицелл на различные равновесия, протекающие в системе, можно наглядно увидеть, если преобразовать уравнение (1) или (2) в уравнение (32)

$$\alpha = \left( \frac{P_{\text{SW}}^b}{P_{\text{SW}}^a} \right) / \left( \frac{K_{\text{MW}}^a[M] + 1}{K_{\text{MW}}^b[M] + 1} \right) = \frac{\alpha_{\text{SW}}}{\alpha_{\text{MW}}}, \quad (32)$$

где  $\alpha_{\text{SW}}$  — параметр, характеризующий селективность распределения в неподвижную фазу;  $\alpha_{\text{MW}}$  — параметр, характеризующий селективность связывания сорбатов с мицеллами.

Величины  $P_{\text{SW}}$  и  $K_{\text{MW}}$  уменьшаются с ростом концентрации 2-пропанола, однако степень уменьшения этих параметров различна для разных сорбатов, что и ведет к изменению селективности. Концентрация мицелл, со своей стороны, влияет на селективность при фиксированной концентрации органического модификатора (главным образом через параметр  $\alpha_{\text{MW}}$ ) с ростом концентрации мицелл параметр  $\alpha_{\text{MW}}$  уменьшается быстрее, чем параметр  $\alpha_{\text{SW}}$ , который не зависит от  $[M]$ . За счет этого селективность увеличивается.

### 3. Влияние природы органического модификатора

Природа органического модификатора подвижной фазы влияет на селективность разделения в МЖХ, однако не так, как в ОФ ВЭЖХ. Обычно в качестве модификаторов в МЖХ используют низшие спирты от метанола до пентанола,<sup>9, 35, 39, 41, 42, 47, 55, 57, 58, 60, 61–70</sup> а также смесь пентанол–гептанол (3:1).<sup>71</sup> Использовали также диолы,<sup>61</sup> диполлярные апротонные растворители,<sup>61</sup> ацетонитрил и тетрагидрофуран.<sup>67</sup> Если принципы выбора селективности растворителя в ОФ ВЭЖХ основаны на треугольнике селективности Снайдера, то к МЖХ этот подход оказался неприемлемым.<sup>67</sup> Селективность разделения, достигаемая при использовании 2-пропанола, ацетонитрила и тетрагидрофурана, принадлежащих к различным типам растворителей, близка,<sup>67</sup> в то время как селективность разделения с использованием 2-пропанола и *n*-бутанола, принадлежащих к одному типу, сильно различается.<sup>9, 65, 67</sup> Например, для модельной смеси 15 полиароматических углеводородов (ПАУ) в отсутствие модификатора в подвижной фазе 0.15 М раствор додецилсульфата натрия многие соединения создаются, особенно наиболее гидрофобные.<sup>65</sup> В присутствии 15 об.% метанола пики всех соединений хорошо разрешены. Замена метанола на 2-пропанол дает хроматограмму, равноценную по качеству разделения; при этом время анализа сокращается с 45 до 25 мин. Однако введение всего 7 об.% *n*-бутанола приводит к ухудшению разделения.

С одной стороны, добавки спиртов к мицеллярной подвижной фазе значительно изменяют распределение сорбатов между мицеллой и объемом водной фазы, которая становится менее полярной.<sup>64</sup> С другой стороны, спирты понижают количество сорбированного на неподвижной фазе ПАВ и сольватируют привитую углеводородную фазу. Учитывая, что *n*-бутанол имеет большую сольватирующую способность, чем метанол или 2-пропанол, он должен сильнее влиять на распределение сорбатов между тремя фазами. Особенно заметен этот эффект для более гидрофобных соединений.

Параметр  $S_{\text{hyb}}$  отражает степень сольватации сорбатов органическими растворителями, местоположение молекул сорбатов и органических растворителей в мицеллах,<sup>9</sup> и поэтому он должен зависеть как от природы органического модификатора, так и от природы сорбата, и природы ПАВ. В работе<sup>47</sup> установлено, что для 14 ароматических соединений разных классов в мицеллярной фазе бромид цетилтриметил-

аммония, модифицированной метанолом, 2-пропанолом и *n*-бутанолом, величины  $S_{\text{губ}}$  изменяются в ряду  $S_{n\text{-бутанол}} > S_{2\text{-пропанол}} > S_{\text{метанол}}$ , что совпадает с увеличением элюирующей силы этих модификаторов в ОФ ВЭЖХ. Аналогичная последовательность получена в работе<sup>65</sup> для 15 ПАУ в мицеллярной подвижной фазе додецилсульфата натрия, модифицированной теми же спиртами.<sup>65</sup> Большие значения параметра  $S_{\text{губ}}$  для 2-бутанола указывают на то, что он взаимодействует с мицеллами сильнее, более эффективно сольватирует сорбаты и может лучше, чем метанол, конкурировать с мицеллами за взаимодействия с сорбатами.

Изменение  $S_{\text{губ}}$  в зависимости от концентрации ПАВ также различно для разных модификаторов: при увеличении концентрации додецилсульфата натрия в подвижной фазе от 0.06 до 0.14 моль·л<sup>-1</sup> величина  $\Delta S_m$  для метанола изменяется на ~0.2, для 2-пропанола — на ~0.4 и для *n*-бутанола на — ~2.0.<sup>65</sup>

Менее гидрофобные сорбаты сильно взаимодействуют с мицеллами (например, антрацен с бромидом цетилтриметиламмония<sup>47</sup> или нафталин, аценафтилен, флуорен, антрацен с додецилсульфатом натрия<sup>65</sup>). Они менее доступны для полярного растворителя, такого как метанол. Следовательно, на их удерживание добавка модифицирующих спиртов будет оказывать меньшее влияние по сравнению с ОФ ВЭЖХ. Взаимодействие сорбатов с мицеллами уменьшается с увеличением гидрофобности спиртов. Особенно ярко этот эффект выражен для гидрофобных сорбатов (имеющих высокие коэффициенты распределения в системе вода–мицелла) из-за конкуренции между этим спиртом и мицеллой за взаимодействие с сорбатом.

Порядок изменения  $S_{\text{губ}}$  в зависимости от природы используемого спирта оказался одинаковым и в системе с бромидом цетилтриметиламмония,<sup>47</sup> и в системе с додецилсульфатом натрия.<sup>65</sup>

Следует отметить, что добавка органического модификатора к гибридным элюентам обычно не превышает 10 об.%. При большем содержании органического растворителя возможно изменение механизма удерживания вплоть до полного перехода к варианту ОФ ВЭЖХ, и система теряет все преимущества в селективности. Показано,<sup>58, 59</sup> что 1-пропанол можно добавлять к мицеллярному элюенту в количестве до 20 об.% без образования обычной водно-органической системы.

На основе уравнений, выведенных для ОФ ВЭЖХ, в работе<sup>71</sup> разработан подход к градиентному элюированию органическими модификаторами в МЖХ. При использовании этих градиентов равновесие устанавливается быстро благодаря ограниченному диапазону концентраций органического модификатора в градиенте. Результатом этого является сокращение продолжительности анализа. Описано<sup>71</sup> практическое применение градиентов пропанола и ацетонитрила. Например, разделение дансированных аминокислот и дидансированных аминокислот в изократическом режиме занимает 67 мин. Градиент изопропанола (от 3 до 15 об.%) за 5 мин с последующим изократическим элюированием еще в течение 20 мин позволяет разделить эти соединения за 32.5 мин (с учетом времени установления равновесия).

Согласно уравнению (26), удерживание сорбатов в МЖХ уменьшается с ростом концентрации органического модификатора. Это справедливо для большинства изученных систем в узком интервале концентраций модификатора (3–15 об.% 2-пропанола).<sup>67</sup> Однако зависимость  $\ln k'$  от  $\phi$  для некоторых аминокислот и алкилбензолов с подвижными фазами, содержащими додецилсульфат натрия или бромид цетилтриметиламмония,<sup>47</sup> и для некоторых производных бензола и нафталина в системе додецилсульфат натрия–*n*-бутанол–вода<sup>62</sup> нелинейна. Для некоторых соединений линейная зависимость  $\ln k'$  от  $\phi$  выполнялась лишь для подвижных фаз с добавкой метанола.<sup>72</sup> Поэтому была пред-

ложена<sup>72</sup> новая модель для описания изменения удерживания сорбата в МЖХ с изменением содержания органического растворителя. На примере разделения смеси катехоламинов на колонке, заполненной Сферисорб ODS-2, методом факторного планирования (факторами являлись концентрация ПАВ, концентрация мицелл  $[M]$  (до 0.15 моль·л<sup>-1</sup>) и концентрация пропанола  $\phi$  (до 10 об.%) проведена аппроксимация  $k'$ ,  $1/k'$  и  $\lg k'$  от  $[M]$  и  $\phi$  по различным полиномам до второй степени включительно. Показано, что функция  $k'$  от  $[M]$  и  $\phi$  представляет собой слабо выраженную асимметричную гиперболическую поверхность с экстремумом, расположенным вблизи максимальных значений  $[M]$  и  $\phi$ . Добавки 10 об.% пропанола и 0.035 моль·л<sup>-1</sup> додецилсульфата натрия приводят к уменьшению  $k'$  на 58–78%, увеличение же концентрации ПАВ в чисто мицеллярном элюенте с 0.035 до 0.15 моль·л<sup>-1</sup> привело к уменьшению  $k'$  на 81%. Наименьшая ошибка аппроксимации получена по уравнению

$$1/k' = A[M] + B\phi + C[M]\phi + D, \quad (33)$$

где  $[M]$  — концентрация мицелл,  $\phi$  — объемная доля органического модификатора;  $A, B, C, D$  — константы.

Уравнение (33) удовлетворительно описывает удерживание аминокислот, фенолов, пептидов и некоторых ароматических соединений (коэффициент корреляции между рассчитанными и экспериментальными значениями  $k'$  больше 0.996).

Для описания удерживания предложено также уравнение

$$1/k' = A[M] + B\phi + C[M]\phi + D\phi^2 + E, \quad (34)$$

где  $A, B, C, D, E$ , — коэффициенты.

Для катехоламинов, аминокислот и фенолов коэффициенты различных членов уравнений (33) и (34) одинаковы; вклад члена  $D\phi^2$  в уравнение (34) незначителен. Уравнение (33) дает слишком низкие значения  $k'$  для самых гидрофобных ПАУ. Уравнение (34) лучше описывает удерживание.<sup>70</sup> Предложено уравнение

$$k' = \left[ \frac{K_{\text{SW}}(1 + K_{\text{SD}}\phi)}{1 + K_{\text{AD}}\phi} \right] / \left[ \frac{1 + K_{\text{AM}}(1 + K_{\text{MD}}\phi)}{(1 + K_{\text{AD}}\phi)[M]} \right], \quad (35)$$

где  $K_{\text{AD}}, K_{\text{MD}}$  и  $K_{\text{SD}}$  — константы, отражающие относительное изменение концентраций сорбата в водной фазе, в мицелле и в неподвижной фазе соответственно в присутствии модификатора по сравнению с чистым мицеллярным раствором. В работе<sup>70</sup> на примере девяти сорбатов (колонка, заполненная Сферисорб ODS-2 ( $C_{18}$ ), подвижная фаза додецилсульфат натрия (рН 3) в присутствии пропанола) проведено сравнение возможностей уравнений (33), (34) и (35) для описания удерживания. Наилучшие результаты получены с использованием уравнения (35). Так, при описании удерживания пирена уравнение (35) дает значительное (> 50%) улучшение по сравнению с уравнением (33). Для других сорбатов получены аналогичные величины средних относительных отклонений рассчитанных значений  $k'$  от экспериментальных. В чисто мицеллярных элюентах уравнение (33) преобразуется в хорошо известное уравнение (2).

Таким образом, еще раз показано одновременное влияние на удерживание как концентрации ПАВ, так и концентрации органического модификатора. Именно эти два фактора являются основными при оптимизации условий разделения в МЖХ.

Так, в работе<sup>58</sup> предложена последовательная итеративно-регрессионная стратегия для выбора оптимальных условий разделения модельных смесей ионогенных соединений: 13 аминокислот и пептидов с подвижной фазой додецилсульфат натрия–2-пропанол–вода и 15 фенолов с подвижной фазой бромид миристилтриметиламмония–2-пропанол–вода. Удерживание сорбатов оказалось возможным предсказать на основании всего пяти экспериментов, даже в тех случаях, когда значения параметров

находились далеко друг от друга в параметрическом пространстве. Продолжительность анализа сократилась в 3–7 раз; при этом селективность увеличилась.

Для решения задачи трехпараметрической оптимизации в МЖХ, когда переменными являются концентрации ПАВ и органического модификатора и pH подвижной фазы, разработана программа на языке Турбо-Паскаль, версия 5.5.<sup>59</sup> Для построения функции отклик – критерий разделения (в качестве критерия разделения рассматривают разрешение для пары наиболее трудно разделяемых компонентов, а также общее время анализа) в предложенной модели необходимо получить 15 начальных хроматограмм. Модель применена для оптимизации разделения смеси из девяти аминокислот и пептидов с использованием гибридного элюента, содержащего фосфатный буферный раствор, додецилсульфат натрия и 2-пропанол. В работе<sup>73</sup> методом трехфакторного планирования выбраны условия разделения смеси пяти барбитуратов с использованием мицелл додецилсульфата натрия и смешанного органического модификатора (пентанол – гептанол (1 : 3)) при pH 2.5; продолжительность разделения 40 мин.

Показаны потенциальные преимущества использования искусственных нейронных вычислительных сетей вместо классических статистических методов для моделирования зависимости удерживания от концентрации ПАВ и концентрации органического модификатора для смеси 27 дигидропиридинов<sup>68</sup> или смеси 23 производных бензола и ПАУ.<sup>69</sup> Изучено влияние архитектуры сети (способа связывания индивидуальных нейронов), узловой активационной функции, числа слоев и способа трансформации данных. Показано, что оптимальной является линейная активационная функция. Необходимо использовать сети с рекуррентными связями; при этом лучшие результаты получены при использовании в качестве выходных данных логарифмов коэффициентов емкости.<sup>69</sup> В случае дигидропиридинов использовали от одного до трех нейронов и рекуррентные сети;<sup>68</sup> в узле скрытого слоя применяли различные передаточные функции (две сигмоидальные, логарифмическую и линейную). Оптимальной оказалась логарифмическая функция. Оптимальное число узлов в скрытом слое — три. Использование величины, обратной коэффициенту емкости, улучшает работоспособность нейронных сетей. Показано<sup>68</sup> существование значительных различий между возможностями моделирования удерживания дигидропиридинов с помощью нейронных сетей и с помощью эмпирических уравнений.

#### 4. Влияние природы поверхностно-активных веществ

На селективность разделения в МЖХ можно влиять не только изменением концентрации, но и изменением природы ПАВ (длины алкильной цепи, заряда). Так, разделение тестовой смеси из шести ванилинов достигнуто при подвижной фазе 0.02 М додецилсульфата натрия (pH 3).<sup>74</sup> Однако при использовании 0.02 М раствора бромидоцетилтриметиламмония времена удерживания четырех из шести ванилинов оказались больше, чем с додецилсульфатом натрия, хотя подвижная фаза в этом случае содержит значительно больше мицелл (ККМ бромидоцетилтриметиламмония в дистиллированной воде при 30 °C равна 0.9 ммоль · л<sup>-1</sup>, а додецилсульфата натрия при 25 °C — 8 ммоль · л<sup>-1</sup>). Таким образом, взаимодействие изученных ванилинов с неподвижной фазой, модифицированной бромидоцетилтриметиламмонием сильнее, чем с неподвижной фазой, модифицированной додецилсульфатом натрия. Анализ регрессионных зависимостей, выполненный с помощью уравнения (2), показал, что при использовании додецилсульфата натрия порядок элюирования сорбатов коррелирует с величиной  $\Phi[L_s]K_1$  и, следовательно, селективность определяют преимущественно взаимодействия неподвижная фаза – сорбат. Для ряда соединений, однако, наблюдается и корреляция удерживания с  $K_2$ . Потеря селективности с уве-

личением концентрации додецилсульфата натрия, а следовательно, и количества мицелл в подвижной фазе, также указывает на то, что взаимодействие сорбата с мицеллой начинает играть большую роль. Для бромидоцетилтриметиламмония порядок элюирования коррелирует с изменением как  $\Phi[L_s]K_1$ , так и  $K_2$ , т.е. на селективность разделения влияют взаимодействия сорбатов и с мицеллами, и с неподвижной фазой.

Наблюдаемые различия в селективности определяются, по мнению некоторых авторов,<sup>33, 44, 75</sup> природой взаимодействия ПАВ с неподвижной фазой и свойствами модифицированной поверхности. Из моделей адсорбции ПАВ следует, что при адсорбции додецилсульфата натрия гидрофобный алкильный радикал внедряется в неподвижную фазу  $C_{18}$ , а гидрофильные полярные головные группы направлены в сторону объема водной подвижной фазы и образуют гидрофильный слой, приводя к уменьшению полярности неподвижной фазы. В случае бромидоцетилтриметиламмония головные группы, вероятно, расположены ближе к поверхности привитого силикагеля благодаря дополнительным гидрофобным взаимодействиям *N*-метильных групп аммонийной соли и алкильных радикалов неподвижной фазы. Возможно, они частично включаются в привитую фазу. Часть бромидоцетилтриметиламмония может сорбироваться необратимо; положительно заряженные головные группы ПАВ способны образовывать прочную водородную связь с остаточными силанольными группами неподвижной фазы и в местах дефектов привитого слоя. Все это приводит к увеличению гидрофобности неподвижной фазы. Действительно, при использовании водно-органических элюентов до и после работы с мицеллярными фазами времена удерживания соединений на колонке с додецилсульфатом натрия уменьшаются, что свидетельствует об уменьшении гидрофобности неподвижной фазы, а на колонке с бромидом цетилтриметиламмония — увеличиваются, что предполагает увеличение ее гидрофобности. Авторы работы<sup>74</sup> считают, что необратимая адсорбция бромидоцетилтриметиламмония приводит к уменьшению активности остаточных силанольных групп. Это компенсирует увеличение полярности неподвижной фазы, связанное с наличием положительно заряженных головных алкиламмониевых групп на поверхности. В целом неподвижная фаза становится менее полярной и более гидрофобной. Поскольку разделяемые соединения — ванилины — слабые кислоты ( $pK_a = 7.4–8.9$ ), для них характерны специфические взаимодействия (водородные связи) с отрицательно заряженным слоем головных групп додецилсульфата натрия, что приводит к лучшей селективности по сравнению с селективностью в случае бромидоцетилтриметиламмония.

Показано,<sup>76</sup> что мицеллы бромидоцетилтриметиламмония обладают лучшей селективностью по отношению к соединениям, содержащим кислотные функциональные группы. Это авторы<sup>76</sup> объясняют существованием вторичного химического равновесия, включающего перенос протона от ионогенного соединения к молекулам воды в слое Штерна мицеллы ПАВ. Уменьшение  $pK_a$  от 0.5 до 3.0 может привести к включению молекулы гостя в катионную мицеллу.<sup>77</sup>

Поверхностно-активные вещества, содержащие два и более гидрофобных «хвоста» в мономере, например бромид дидодецилдиметиламмония или дигексадецилфосфат, образуют везикулы. Селективность разделения с использованием везикул в подвижной фазе отличается от селективности МЖХ, что связано с увеличением числа мест, доступных для сольubilизации, с пяти (в мицелле) до девяти (в везикуле).<sup>78</sup>

#### 5. Влияние pH

Влияние pH на селективность обусловлено существованием различных вторичных равновесий в подвижной фазе и сме-

чением констант ионизации сорбатов, индуцированным ПАВ.<sup>26</sup> Влияние pH на селективность разделения аминокислот (например, триптофана и фенилаланина) изучено в водном, ион-парном и мицеллярном элюентах. Максимальное значение селективности наблюдается для среднего значения  $pK_a$  пары сорбатов. Оптимальную селективность  $\alpha_{opt}$  можно рассчитать по уравнению

$$\alpha_{opt} = \frac{2SS_m + SS_m^{1/2}(SS_m K_i^* + K_j^*)/(K_i^* K_j^*)^{1/2}}{2SS_m + SS_m^{1/2}(SS_m K_j^* + K_i^*)/(K_i^* K_j^*)^{1/2}}, \quad (36)$$

где  $SS_m$  — средняя самоселективность (отношение коэффициентов емкости двух форм сорбата<sup>14</sup>),  $K_i^*$  и  $K_j^*$  — кажущиеся константы диссоциации сорбатов  $i$  и  $j$  в водной, неводной или мицеллярной средах.

Селективность разделения данной пары аминокислот в водной среде максимальна при pH 2–2.5, в ион-парной хроматографии — при pH ~ 4, а в МЖХ — при pH 5–5.5.

Следует заметить, что индуцированные ПАВ сдвиги в значениях  $pK_a$  необязательно приводят к увеличению селективности. Например, для соединений, имеющих различные значения  $pK_a$  и различную гидрофобность (изомерные хлорофенолы), мицеллы влияют на оба параметра.<sup>79</sup>

## 6. Влияние природы неподвижной фазы

Влияние природы неподвижной фазы обычно рассматривается в МЖХ как изменение эффективности колонки за счет различной адсорбции ПАВ. Изучены алкилированные силикагели  $C_1$ ,  $C_8$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{18}$  с различной плотностью прививки алкильных групп, а также цианопропильные фазы. Продемонстрированы преимущества (повышение селективности и снижение продолжительности анализа) фторированных химически связанных неподвижных фаз по сравнению с алкильными при разделении смесей аминокислот, пептидов, сульфонамидов, фенолов и алкилфенолов с использованием подвижных фаз, содержащих АПАВ и КПАВ.<sup>80</sup>

Разделение модельной смеси ванилинов с применением одних и тех же подвижных фаз (0.02 М раствор ПАВ) проведено на колонках, заполненных Арех I  $C_{18}$  и Арех I  $C_8$  (5 мкм).<sup>74</sup> Обе неподвижные фазы обеспечивают хорошее разделение при элюировании растворами додецилсульфата натрия; удерживание при этом определяется взаимодействием сорбатов с неподвижной фазой. Времена удерживания сорбатов на фазе  $C_8$  выше, чем на фазе  $C_{18}$ , хотя последняя более гидрофобна и содержит 13.3% углерода (фаза  $C_8$  содержит 9.0% углерода). Это может быть связано с меньшей сорбцией додецилсульфата натрия на фазе  $C_8$  из-за более высокой плотности привитых групп.<sup>81</sup>

С использованием подвижных фаз, содержащих мицеллы бромидов цетилтриметиламмония, сорбаты также удерживаются на фазе  $C_8$  сильнее, чем на фазе  $C_{18}$ , однако при этом изменяется еще и порядок элюирования некоторых соединений. Низкая сорбция бромидов цетилтриметиламмония на фазе  $C_8$  могла бы быть причиной более сильного удерживания по сравнению с силикагелем  $C_{18}$ , однако это не должно вызывать обращения порядка элюирования. Большая активность остаточных силанольных групп на сорбенте  $C_8$  по сравнению с сорбентом  $C_{18}$  также не может служить объяснением наблюдаемого явления, так как в системе метанол–вода порядок элюирования сорбатов одинаков на обеих неподвижных фазах. Поэтому авторы работы<sup>74</sup> предположили, что внутри неподвижной фазы  $C_8$  образуются небольшие домицеллярные агрегаты бромидов цетилтриметиламмония, которые и изменяют удерживание сорбатов.

Для объяснения различий в селективности МЖХ изучено взаимодействие додецилсульфата натрия, бромидов цетилтриметил- и додецилтриметиламмония с Арех I  $C_{18}$ ,<sup>82</sup> Арех I цианопропил и Арех I  $C_8$ <sup>83</sup> методами ВЭЖХ и ЯМР  $^{13}C$ . Показано, что на неподвижной фазе происходит адсорбция

ПАВ, за счет чего и обеспечивается селективное разделение изомерных ванилинов. С помощью додецилсульфата натрия достигается лучшее разделение гидрофильных соединений, так как он образует гидрофильный отрицательно заряженный слой на поверхности неподвижной фазы. При адсорбции на аммонийных ПАВ головные группы включены, по крайней мере частично, в привитую фазу за счет гидрофобных взаимодействий их метильных групп и радикалов  $C_{18}$  неподвижной фазы.<sup>82</sup> При разделении с этими КПАВ тестовой смеси гидрофильных соединений лучшие результаты получены при высоких концентрациях ПАВ в подвижной фазе, когда выгодны взаимодействия сорбат–мицелла. Длина углеводородной цепи неподвижной фазы является важным фактором при разделении с использованием мицелл бромидов цетилтриметил- и додецилтриметиламмония: поведение гидрофильных ароматических соединений на  $C_8$ - и  $C_{18}$ -фазах различно.<sup>83</sup> Отмечено,<sup>83</sup> что на цианопропильной фазе при использовании как додецилсульфата натрия, так и бромидов цетилтриметиламмония, времена удерживания некоторых ионогенных веществ увеличиваются. Это необычное явление можно объяснить сильными взаимодействиями между полярными головными группами ПАВ и нитрильными группами.

## 7. Влияние температуры

Влияние температуры наименее изучено в МЖХ. Очевидно, что она должна быть выше точки Крафта, которая соответствует нижней температуре существования мицелл (для бромидов цетилтриметиламмония это 23 °C<sup>71</sup>). Обычно работают при более высоких температурах (40–60 °C, чаще всего при 40 °C) потому, что с повышением температуры повышается эффективность хроматографической системы и уменьшается продолжительность анализа.

Влияние температуры на удерживание в МЖХ изучено с позиций термодинамики.<sup>63,84</sup> Удерживание антрацена и его производных в системе  $C_{18}$ –додецилсульфат натрия–1-пропанол–фосфатный буферный раствор (pH 2.1) изучено в интервале температур 303–353 К.<sup>84</sup> Для интерпретации результатов использовали две модели. Корреляция между энтальпиями, рассчитанными по обеим моделям, и физико-химическими свойствами молекул сорбатов отсутствует. В модели, основанной на уравнении Вант-Гоффа без учета отдельных равновесий, величины стандартных энтропий коррелируют с полярностью молекул сорбатов.

В работе<sup>49</sup> авторам не удалось улучшить эффективность разделения некоторых 6-тиопуриновых лекарственных соединений при использовании додецилсульфата натрия и варьировании температуры от 20 до 60 °C. Авторы отмечают влияние как добавки органического модификатора (спирты, ацетонитрил), так и температуры на разрешение за счет изменения селективности, однако на эффективность эти параметры влияют мало и их варьирование имеет минимальное практическое использование. Поскольку работ по систематическому изучению влияния температуры в МЖХ очень мало, сделать какие-либо обобщающие выводы нельзя. Можно только сказать, что МЖХ желательно проводить при повышенных температурах для уменьшения вязкости подвижных фаз. За счет этого повышается эффективность колонки и достигается более стабильная работа насосов, рабочие давления которых ограничены.

## 8. Влияние ионной силы

Отдельных работ по изучению влияния ионной силы на МЖХ нет. Поскольку добавки солей приводят к уменьшению ККМ, а следовательно, к увеличению концентрации мицелл, влияние ионной силы на селективность можно описывать как влияние увеличения концентрации мицелл.

Селективность разделения в мицеллярной хроматографии отличается от селективности обычной ионообменной<sup>85</sup> и ион-парной хроматографии. В МЖХ после кондиционирования колонки  $10^{-4}$  М раствором бромид цетилтриметиламмония при элюировании 0.025 М раствором NaCl анионы элюируются в последовательности  $\text{IO}_3^- < \text{NO}_2^- < \text{Br}^- < < \text{NO}_3^- < \text{I}^-$  (см.<sup>30</sup>). Использование элюентов, содержащих высокие концентрации органического модификатора (короткоцепочечных спиртов или ацетонитрила), приводит к тому, что за счет деградации мицелл (в присутствии более 43.5% метанола мицеллы вообще не образуются<sup>86</sup>) удержание контролируется только степенью адсорбции ПАВ на неподвижной фазе, и селективность становится такой же, как и в ионообменной или ион-парной хроматографии.

В целом следует отметить, что при изучении влияния различных факторов на селективность МЖХ необходимо рассматривать все три равновесия, устанавливающиеся в системе. В первую очередь — это взаимодействие сорбатов с мицеллами, характеризующееся константой ассоциации (связывания)  $K_2$ , и с неподвижной фазой, характеризующееся коэффициентом распределения  $P_{\text{sw}}$ ; они оказывают на удержание противоположное влияние.

## V. Удержание и строение молекул сорбатов

В обращенно-фазовой ВЭЖХ используют три типа моделирования параметров удерживания (или их функции от параметров, характеризующих особенности структуры сорбата и влияющих на его хроматографическое поведение): простые аддитивные модели, корреляции удержание–свойство и удержание–строение.<sup>1</sup> Однако в ион-парной хроматографии сложность протекающих процессов препятствует созданию моделей, описывающих влияние на удержание структурных особенностей сорбатов. Тем не менее, имеются указания,<sup>1</sup> что параметры моделей удерживания можно связать с вкладами определенных структурных фрагментов и  $\pi$ -константами гидрофобности Ганча. Казалось бы, что для МЖХ, в которой имеется еще больше взаимодействий, чем в ОФ ВЭЖХ и ион-парной хроматографии, построение таких моделей невозможно. Однако наличие четкой зависимости сольобилизации от гидрофобных и гидрофильных свойств сорбатов стимулировало попытки внедрения корреляций типа удержание–свойство, связывающих коэффициент емкости с коэффициентом распределения в системе 1-октанол–вода ( $P_{\text{ow}}$ ).

Так, в работе<sup>87</sup> установлена хорошая корреляция между величинами  $k'$  и  $\lg P_{\text{ow}}$  для 35 родственных соединений на фенильной фазе с КПАВ, однако зависимость  $\lg k'$  от  $\lg P_{\text{ow}}$  выходит на плато при высоких значениях коэффициентов распределения, т.е. для гидрофобных соединений. Для ароматических соединений на неподвижных фазах  $\text{C}_8$  и  $\text{C}_{18}$  лучшая корреляция получена для зависимости  $\lg k'$  от  $\lg P_{\text{ow}}$ , как и в ОФ ВЭЖХ. Линейная корреляция  $\lg k' = f(\lg P_{\text{ow}})$  найдена для монозамещенных бензолов с использованием в качестве подвижной фазы додецилсульфата натрия, бромид цетилтриметиламмония и Brij-35,<sup>88</sup> для ряда фенолов и других монозамещенных бензолов с использованием додецилсульфата натрия и бромид цетилтриметиламмония, модифицированных спиртами,<sup>76</sup> и для ряда ПАУ с подвижными фазами, содержащими додецилсульфат натрия, бромид цетилтриметиламмония и Brij-35.<sup>89</sup> В работах<sup>76, 87, 90</sup> найдена корреляция между  $\lg P_{\text{ow}}$  и логарифмами констант ассоциации сорбата с мицеллой. Показана линейная корреляция между  $\lg k'_0$  (коэффициентом емкости в отсутствие мицелл) и  $\lg P_{\text{ow}}$ .<sup>87</sup> Изучена зависимость  $k'$  и  $\lg k'$  от  $\lg P_{\text{ow}}$  для группы производных бензола и ПАУ в МЖХ на неподвижной фазе  $\text{C}_8$ .<sup>91</sup>

Для двадцати шести 1,4-дигидроксипиридинов оценены  $k'$ ,  $k'_m$  ( $k'$  при нулевой концентрации мицелл) и  $P_{\text{mw}}$  и показано, что они соответствуют шкале гидрофобности.<sup>92</sup>

Наилучшей шкалой гидрофобности является корреляция  $k' - \lg P_{\text{ow}}$  для подвижной фазы 0.031 моль  $\cdot$  л<sup>-1</sup> додецилсульфата натрия, содержащего 3% *n*-пропанола, которая описывается уравнением  $k' = 48/3 \lg P_{\text{ow}} - 98.49$ . Различия между экспериментальными и рассчитанными значениями  $\lg P_{\text{ow}}$  для 20 соединений из 26 меньше 3%.

Показана линейная зависимость между свободной энергией переноса вещества из водной в мицеллярную фазу и свободной энергией переноса в системе вода–октанол для производных бензола и нафталина в мицеллярных<sup>18</sup> и гибридных элюентах,<sup>20</sup> а также для замещенных фенолов.<sup>93</sup> Угол наклона прямых практически не зависит от природы ПАВ (додецилсульфат натрия, бромид цетилтриметиламмония и Brij-35<sup>18</sup>) или присутствия органического модификатора.<sup>20</sup> Это указывает на то, что во всех случаях в основе взаимодействий сорбатов с мицеллами лежат гидрофобные взаимодействия. Для алкилзамещенных фенолов значение свободной энергии переноса алифатических углеводородных групп менее отрицательно для мицеллы додецилсульфата натрия, чем в системе октанол–вода, а для фенолов, содержащих заместители OR, COR, COOR, вклад в гидрофобность выше в присутствии додецилсульфата натрия, чем в системе октанол–вода.<sup>93</sup> Эти различия могут быть связаны с тем, что сольобилизация разных сорбатов может происходить в мицелле в разных местах, отличающихся диэлектрической константой локальной микровязкости, стерическими факторами и существованием для заряженных сорбатов электростатических взаимодействий с ионными головными группами ПАВ.

Еще одна группа корреляций связывает удержание со строением сорбатов, описываемым с помощью различных структурных дескрипторов,<sup>1</sup> самым простым из которых является число атомов углерода в молекуле ( $n_c$ ). На примере *n*-алкилбензолов и алкилфенолов в системах додецилсульфат натрия и бромид цетилтриметиламмония, в том числе и в присутствии добавок пропанола,<sup>19</sup> было показано, что в отличие от ОФ ВЭЖХ, в которой зависимость  $\lg k'$  от  $n_c$  линейна, в МЖХ как мицеллярными, так и с гибридными элюентами зависимость  $k'$  от  $n_c$  линейна, а зависимость  $\lg k'$  от  $n_c$  лучше описывается квадратичной функцией. Аналогичные зависимости получены при изучении удерживания алкилбензолов в подвижных фазах, содержащих Brij-22 или Brij-35.<sup>16</sup> Исключение составляют алкилфенолы в мицеллярных подвижных фазах додецилсульфата натрия. Для них зависимость  $\lg k'$  от  $n_c$  — линейная, а  $k'$  от  $n_c$  — квадратичная, как и в случае ОФ ВЭЖХ.<sup>19</sup> Для фенолов с гибридными подвижными фазами додецилсульфата натрия различия в  $k'$  и  $\lg k'$  слишком малы для того, чтобы можно было с уверенностью сказать, какая из зависимостей лучше аппроксимируется прямой. Причина этого явления недостаточно ясна. В работе<sup>19</sup> предложены два возможных объяснения. Первое основано на различии расположения разных сорбатов в мицелле (или на), поскольку негомогенная природа мицелл создает уникальную ситуацию, когда различные сорбаты в одной и той же подвижной фазе имеют микроокружение, различающееся полярностью. Второе объяснение основано на модели индексов взаимодействия,<sup>94, 95</sup> согласно которой зависимость  $\lg k'$  от числа атомов углерода для водно-органических элюентов описывается уравнением

$$\lg k' = (\lg \gamma)n_c^2 + (\lg \alpha)n_c + \lg \beta, \quad (37)$$

где  $\lg \alpha$  и  $\lg \beta$  — константы,  $\lg \gamma$  выражается уравнением (38)

$$\lg k'\gamma = \frac{\Delta V_x \Delta I_x \Delta C_x C_M I_M}{2.3 RT}, \quad (38)$$

где  $\Delta V_x$  и  $\Delta I_x$  — изменение в объеме сорбата и индексе взаимодействия в гомологическом ряду;  $\Delta C_x$  и  $C_M$  — константы пропорциональности для сорбата и подвижной фазы;  $I_M$  — индекс взаимодействия в подвижной фазе.

Для водно-органических элюентов  $\lg \gamma$  обычно настолько мал, что первым членом уравнения (37) можно пренебречь. В МЖХ, вероятно, для некоторых из гомологов произведение  $\Delta V_x \Delta I_x$  несколько больше, что и вызывает отклонение от линейности  $\lg k'$  от  $n_C$ .

Однако этими же авторами<sup>19</sup> найдена линейная зависимость от  $n_C$  логарифмов констант ассоциации (связывания) сорбат–мицелла ( $K_2$ ) или логарифмов коэффициентов распределения сорбатов между внемицеллярной подвижной фазой и неподвижной фазой ( $P_{SW}$ ). Анализ этих зависимостей показал, что для гомологов в мицеллах бромида цетилтриметиламмония значения  $K_2$  больше, чем в мицеллах додецилсульфата натрия, что указывает на более сильные взаимодействия сорбатов с мицеллой бромида цетилтриметиламмония благодаря наличию более гидрофобного окружения. Тангенс угла наклона этих прямых является мерой свободной энергии, рассчитанной для переноса одной метиленовой группы из объема раствора в мицеллу (зависимость  $K_2$ ) или в неподвижную фазу (зависимость  $P_{SW}$ ). Он больше в случае бромида цетилтриметиламмония, чем додецилсульфата натрия, что указывает на большее сродство метиленовой группы бромида цетилтриметиламмония в связи с его большей гидрофобностью.

Более строгий подход для объяснения нелинейности зависимости  $\lg k'$  от числа атомов углерода в молекуле ПАВ в МЖХ предложен в работе<sup>96</sup>, которая так и называется «Почему взаимосвязь между  $\lg k'$  и гомологическим числом в МЖХ нелинейна?». В обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии подразумевается, что каждый инкремент  $\text{CH}_2$  в цепи гомолога вносит постоянный вклад в свободную энергию переноса сорбата между подвижной и неподвижной фазами. Удерживание полярных сорбатов небольшого размера, хорошо растворимых в воде и малорастворимых в мицеллах, в МЖХ определяется в основном распределением между модифицированной ПАВ неподвижной фазой и немиецеллярной частью подвижной фазы. Для гомологического ряда соединений с увеличением их размера растворимость в воде уменьшается, и в предельном случае полной нерастворимости в воде сорбаты распределяются между химически подобными мицеллярной и модифицированной ПАВ неподвижной фазами. Для этого процесса свободная энергия переноса одной метиленовой группы из подвижной фазы в неподвижную ( $\Delta G^m$ ) практически равна 0. Поскольку  $\Delta G^m$  в МЖХ зависит от размера гомолога, зависимость  $\ln k'$  от числа метиленовых групп сорбата ( $n^m$ ) не должна быть линейной

$$\frac{1}{k'} = \left( \frac{V_m}{V_s} \right) \exp \left[ \frac{\Delta G_{WS}^{fg} + n^m \Delta G_{WS}^m}{RT} \right] + \left( \frac{V_x}{V_s} \right) \exp \left[ \frac{\Delta G_{XS}^{fg} + n^m \Delta G_{XS}^m}{RT} \right]. \quad (39)$$

Символы X, W и S относятся к мицеллярной, водной и неподвижной фазам,  $V$  — соответствующие объемы фаз, символы fg и m означают функциональную и метиленовую группу соответственно. Зависимость  $\ln k'$  от  $n^m$  описывается уравнением

$$\ln k' = -\ln[(1 - \Phi_x) \exp(a + n^m b) + \Phi_x \exp(c + n^m d)], \quad (40)$$

где  $\Phi_x = V_x/V_m$  — отношение объемов мицелл и подвижной фазы;  $a, b, c, d$  — константы. Для алкилбензолов с использованием систем додецилсульфат натрия–1-пентанол–вода и Brij-35–вода, а также метиловых эфиров жирных кислот с использованием системы додецилсульфат натрия–1-пропанол–вода рассчитаны параметры нелинейной регрессии, оценены свободные энергии переноса метиленовой группы из немиецеллярной части подвижной фазы (вода или вода с добавкой 5 об.% спиртов) в модифицированную ПАВ неподвижную фазу (параметр  $b$ , уравнение (40)) и свободная

энергия переноса метиленовой группы в системе мицелла–неподвижная фаза (параметр  $d$ , уравнение (40)).

В последние годы появились и более сложные модели, связывающие удерживание со строением сорбата, основанные на статистическом анализе и методе анализа основных компонентов.<sup>97,98</sup> На примере семнадцати ПАУ с тремя различными мицеллярными подвижными фазами (додецилсульфат натрия, бромид цетилтриметиламмония, Brij-35) показано, что из девяти дескрипторов удерживание может быть адекватно описано с использованием всего двух:  $L/B$  (отношение максимальной длины молекулы к ее ширине) и одного из топологических дескрипторов.<sup>97</sup> Вклад топологических дескрипторов наиболее важен при использовании КПАВ и АПАВ, а электростатические взаимодействия особенно существенны в случае додецилсульфата натрия. Получены корреляционные уравнения типа  $\lg k' = f(F, L/B, c)$  и  $\lg k' = f(n, L/B, c)$ , где  $F$  — корреляционный фактор,  $c$  — концентрация ПАВ в мицеллярной подвижной фазе,  $n$  — число  $\pi$ -электронов в молекуле. Эти уравнения легче использовать, поскольку значения соответствующих дескрипторов можно вычислить прямо из структурных формул соединений. Аналогичные корреляции можно установить и для коэффициентов распределения  $P_{SM}$ ,  $P_{SW}$  или  $P_{MW}$ , так как их можно рассчитать из экспериментальных хроматографических данных по уравнениям (1) или (2).<sup>76</sup> Для додецилсульфата натрия получены корреляции типа  $P_{SM}$  ( $P_{SW}$  или  $P_{MW}$ ) =  $f(L/B, F)$ , однако регрессия ухудшается в ряду  $P_{SM} > P_{MW} > P_{SW}$  из-за увеличения неопределенности при вычислениях.<sup>97</sup>

В гибридных подвижных фазах, содержащих додецилсульфат натрия с добавкой метанола, 2-пропанола или *n*-бутанола, удерживание незамещенных ПАУ описывается уравнением, учитывающим размер и форму молекул

$$\lg k' = aF + bL/B + c, \quad (41)$$

где  $a, b, c$  — константы.<sup>98</sup>

Эта модель, однако, не дает адекватного описания метилзамещенных ПАУ. Поэтому предложены новые модели, в которые включены электронные параметры, позволяющие учесть распределение электронной плотности в молекуле: дипольные моменты (DPMON) и доля площади неполярной незамещенной поверхности (NUSA/TSA) (уравнение (42))

$$\lg k' = aF + bL/B + cDPMON + dNUSA/TSA + e, \quad (42)$$

где  $a, b, c, d, e$  — константы. Уравнение (42) удовлетворительно описывает удерживание как незамещенных, так и замещенных ПАУ при добавке < 20 об.% метанола, 2-пропанола или < 6 об.% *n*-бутанола.

Изучено влияние молекулярной структуры на константы связывания сорбат–мицелла и сорбат–неподвижная фаза.<sup>99,100</sup> Показана хорошая линейная зависимость между константами связывания сорбат–мицелла и сорбат–неподвижная фаза как с катионными (бромид цетилтриметиламмония), так и с анионными (додецилсульфат натрия) ПАВ.<sup>100</sup> Получены хорошие количественные зависимости между константами связывания сорбат–мицелла и сорбат–неподвижная фаза и сольватохромными свойствами.<sup>99,100</sup> В присутствии мицелл бромида тетрадецилтриметиламмония лучше корреляция  $k'$  от сольватохромных параметров, а в присутствии мицелл додецилсульфата натрия —  $\lg k'$  от сольватохромных параметров. Добавление 7% 2-пропанола или 5% бутанола не изменяет высоких корреляций для бромида тетрадецилтриметиламмония.<sup>99</sup> В удерживании нейтральных сорбатов<sup>100</sup> важную роль играет как процесс образования полости, так и образование водородных связей. Как видно из приведенных выше примеров, подобные модели не только позволяют предсказать удерживание различных сорбатов, но и оказывают помощь при выявлении взаимодействий сорбатов с неподвижной и подвижной фазами.

Изучены теоретические аспекты удерживания 15 ароматических соединений в МЖХ с использованием цвиттер-ионного ПАВ — *n*-додецил-*N,N*-диметиламино-3-пропан-1-сульфоната (ДДДМАПС); рассчитаны константы равновесия распределения сорбатов по уравнению (1).<sup>101</sup> По сравнению с катионными или анионными ПАВ в подвижных фазах, содержащих ДДДМАПС, получены самые низкие значения  $K_{sw}$  и самые низкие значения  $K_{mw}$ , что приводит к большим значениям коэффициентов емкости при постоянной концентрации ПАВ. Сорбаты удерживаются за счет гидрофобных взаимодействий с неподвижной фазой, электростатических взаимодействий с ПАВ как в мицеллах, так и в модифицированной неподвижной фазе. Для изучения молекулярных взаимодействий применен<sup>101</sup> метод линейных зависимостей энергии сольватации. Показано, что размер сорбатов и основность являются доминирующими факторами, влияющими на удерживание. Дипольное окружение в цвиттер-ионном ДДДМАПС выше, что влияет на распределение сорбатов: с ним легче связываются кислые сорбаты.

С помощью моделей типа удерживание–свойство обнаружена корреляция между удерживанием и биоактивностью. Так, для 26 *para*-замещенных фенолов получена хорошая корреляция между  $k'$  и биоактивностью, измеренной как  $\lg 1/c$ , где  $c$  — концентрация, необходимая для 50%-ного ингибирования роста.<sup>102</sup> Достоинством такого подхода является то, что в нем используется только один параметр — удерживание в МЖХ, тогда как обычно для оценки биоактивности используют три дескриптора:  $\lg P_{ow}$ , константу кислотной диссоциации и резонансный параметр. Благодаря уникальным свойствам мицелл ПАВ в МЖХ как гидрофобные, так и электронные взаимодействия объединяются в одном параметре —  $k'$ . Кислотность и природа неподвижной фазы влияют на корреляцию между  $k'$  и  $\lg 1/c$ , оптимальной является система бромид цетилтриметиламмония — 10 об.% 2-пропанола.

Изучены качественные и количественные зависимости между удерживанием и анестезирующей силой, эквивалентной концентрации, продолжительностью действия, токсичностью и временем полужизни анестетиков.<sup>103</sup> Корреляции между  $k'$  и анестезирующей силой веществ хорошие.

Получение корректных корреляций требует надежного определения мертвого времени, которое в МЖХ затруднено. Величину  $t_0$  измеряют в МЖХ по вводу воды,<sup>93,104</sup> солевых растворов ( $\text{NaNO}_3$ ,<sup>25,37</sup>  $\text{NaI}$  и  $\text{KI}$ <sup>11,19</sup>), ацетонитрила.<sup>66</sup>

В работе<sup>105</sup> предложены четыре различных критерия определения характеристического времени в начале хроматографирования (время выхода первого пика, первого возмущения), которое может быть названо временем сравнения.

1. Поиск первого основного максимума или минимума.
2. Образование групп, сводящих шумы к определенному масштабу.

3. Образование групп для масштабирования наклонов шумов базовой линии.

4. Метод первой производной — детектирование заметного изменения наклона базовой линии, когда происходит значительное возмущение. Лучшие результаты дает критерий масштабирования шумов; при этом времена сравнения измеряют при введении растворов контрольного опыта или мицеллярных растворов сорбатов. При определении времени сравнения с большим числом различных подвижных фаз показано, что оно почти не изменяется с изменением состава подвижной фазы.

## VI. Аналитическое применение мицеллярной жидкостной хроматографии

Если теория МЖХ разработана на примере различных органических соединений: неионогенных — замещенные бензолы, фенолы, нафталины, антрацены и другие, а также

ионогенных — аминокислоты и пептиды, то практическое применение этот метод нашел при анализе лекарственных соединений (табл. 1). В этом аналитическом приложении нашли отражение сразу несколько преимуществ МЖХ: селективность и способность одновременно разделять ионные и неионные компоненты пробы, прямой ввод биологических образцов без предварительного осаждения белков или экстракции лекарств, а также возможность усиления или стабилизации флуоресценции. Упрощение подготовки проб при анализе биологических образцов достигается за счет солубилизации белков на мицеллярных агрегатах, так как агрегаты белок–мицелла имеют большой размер и не удерживаются неподвижной фазой. Низкие пределы обнаружения позволяют детектировать препараты не только в фармацевтических формах, но и в моче.

Показана возможность повышения чувствительности определения некоторых веществ в присутствии ПАВ. Так, ток окисления ацетаминифена увеличивается в присутствии мицелл додецилсульфата натрия.<sup>108</sup> Разработан электрохимический детектор с ячейкой типа «отражающая стенка трехэлектродной конфигурации» с микроэлектродом из углеродного волокна для детектирования ацетаминифена. Совместимость разделения методом МЖХ с амперометрическим детектированием впервые показана в работе<sup>126</sup>; для определения допамина использовали электрод из стеклоглуглера.<sup>124</sup>

Стероиды определяли в моче методом МЖХ с детектированием с помощью сенсibilизированной тербием флуоресценции.<sup>106</sup> Мицеллярное окружение способствует эффективному энергетическому переходу Форстера от доноров (стероидов) к акцепторам (ионам тербия(III)). Метод очень чувствительный: можно определять до 100 пг стероидов в моче. Этот способ детектирования значительно чувствительнее спектrophотометрического,<sup>114</sup> который применим лишь для анализа исходных фармацевтических препаратов и не пригоден для анализа биологических образцов.

Сенсibilизированная комплексом тербия(III) с ПАВ люминесценция в обращенных мицеллах в неводных растворителях (этилацетат или его смесь с гексаном) использована для детектирования теофиллина;<sup>120</sup> при этом паракантин не мешает определению из-за низкой эффективности переноса энергии к лантанид-иону. Метод минимизирует тушение люминесценции за счет использования растворов обращенных мицелл в неводных растворителях.

Примеры использования мицеллярных подвижных фаз в неорганическом анализе немногочисленны: разделение неорганических анионов,<sup>30,32,85</sup> катионов переходных металлов,<sup>29,31</sup> хелатов,<sup>127–131</sup> гетерополиокислот,<sup>132,133</sup> форм мышьяка,<sup>77,134,135</sup> ртути,<sup>77,135</sup> селена,<sup>77</sup> олова,<sup>77,136</sup> органических и неорганических соединений, содержащих тяжелые металлы.<sup>137</sup>

Так, разделение пяти анионов на колонке размером 250 × 5 мм, заполненной сферисорбом ODS (5 мкм), в потоке водного раствора хлорида цетилтриметиламмония ( $1.36 \cdot 10^{-1}$  моль · л<sup>-1</sup>) при расходе 1.5 мл · мин<sup>-1</sup> занимает 10 мин.<sup>85</sup> Детектировали при 205 нм. Порядок элюирования —  $\text{IO}_3^- < \text{NO}_2^- < \text{Br}^- < \text{NO}_3^- < \text{I}^-$  — аналогичен ряду селективности на типичном сильноосновном анионообменнике.

Использование мицеллярной эксклюзионной хроматографии на колонке с сорбентом Asahipak GC-310H, представляющим собой гель поливинилового спирта, оказалось успешным для разделения как анионов,<sup>30</sup> так и катионов.<sup>32</sup> При разделении анионов порядок элюирования изменяется с изменением гидрофобности алкильной цепи ПАВ: с подвижной фазой 0.06 или 0.01 М хлорида цетилтриметиламмония анионы элюируются в последовательности  $\text{IO}_3^- < \text{I}^- < \text{Br}^- < \text{NO}_2^- < \text{NO}_3^-$ , а в мицеллярном растворе хлорида додецилтриметиламмония —  $\text{IO}_3^- < \text{Br}^- < \text{NO}_2^- < \text{I}^- < \text{NO}_3^-$  (см.<sup>30</sup>).

**Таблица 1.** Определение компонентов лекарственных препаратов методом МЖХ с использованием додецилсульфата натрия.

| Компоненты лекарственных препаратов                                                                                           | Органический модификатор        | Детектор | Предел обнаружения                                      | Объект анализа                                  | Ссылки |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|----------|---------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------|
| Стероиды                                                                                                                      | Ацетонитрил                     | ФЛ       | 100 пг                                                  | Моча                                            | 106    |
| Амифеназол, амилорид, амфетамин, клостебол, эфедрин, фенилпропаноламин, метандиенон, метоксифенамин, нандролон, спирополактон | —                               | СФ       | 0.07–10.95 мкг·мл <sup>-1</sup>                         | »                                               | 107    |
| Ацетаминофен                                                                                                                  | <i>n</i> -Пропанол              | ЭХ       | 0.02 мкг·мл <sup>-1</sup>                               | »                                               | 108    |
| Кленбутерол                                                                                                                   | <i>n</i> -Бутанол               | СФ       | —                                                       | »                                               | 109    |
| Мочегонные средства                                                                                                           | <i>n</i> -Пропанол              | СФ       | 1.7–2.9 мкг·мл <sup>-1</sup>                            | »                                               | 110    |
| Кофеин, теofilлин, теобромин                                                                                                  | »                               | СФ       | 0.36–1.23 мкг·мл <sup>-1</sup>                          | »                                               | 111    |
| <i>N</i> -(1-Бензо[ <i>b</i> ]тиен-2-ил)этил- <i>N</i> -гидроксимочевина, ее <i>N</i> -дегидроксилированный метаболит         | »                               | СФ       | 0.08–0.1 мкг·мл <sup>-1</sup>                           | »                                               | 112    |
| Сульфонамиды                                                                                                                  | »                               | —        | —                                                       | Моча, молоко                                    | 113    |
| Амилорид, бендрофлуметазид, хлорталидон, спиронолактон, триамерен                                                             | <i>n</i> -Пентанол              | —        | —                                                       | Фармацевтические препараты                      | 114    |
| Мочегонные средства                                                                                                           | <i>n</i> -Пропанол              | СФ       | 0.029–0.55 мкг·мл <sup>-1</sup>                         | »                                               | 115    |
| Катехоламины                                                                                                                  | »                               | СФ       | 2–16 мкг·мл <sup>-1</sup>                               | Капсулы, таблетки                               | 48     |
| Анаболические стероиды                                                                                                        | <i>n</i> -Пентанол <sup>a</sup> | СФ       | 6.4–860 нг·мл <sup>-1</sup>                             | Таблетки, суспензия, гель, раствор для инъекций | 116    |
| Белковые аминокислоты                                                                                                         | <i>n</i> -Пропанол              | СФ       | (1.3–6.5)·10 <sup>-7</sup> моль·л <sup>-1</sup>         | Фармацевтические препараты                      | 117    |
| Мочегонные препараты                                                                                                          | —                               | —        | —                                                       | То же                                           | 118    |
| $\beta$ -Блокеры (атенолол, метопролол, окспренолол), диуретики (амилорид), бендрофлуметиазид, гидралазин                     | <i>n</i> -Пропанол              | СФ       | —                                                       | Таблетки, капсулы                               | 119    |
| Теofilлин                                                                                                                     | »                               | СФ       | 6 мкг·мл <sup>-1</sup>                                  | Таблетки                                        | 120    |
| 6-Меркаптопурин, 6-тиогуанидин                                                                                                | —                               | —        | —                                                       | Сыворотка                                       | 121    |
| 4-Формиламиноантипирин, 4-аминоантипирин, 4-метиламиноантипирин                                                               | <i>n</i> -Пентанол              | СФ       | 10.54 мкг·мл <sup>-1</sup><br>–17.0 нг·мл <sup>-1</sup> | Плазма                                          | 122    |
| ( <i>R</i> )- и ( <i>S</i> )-Напроксены                                                                                       | —                               | —        | —                                                       | Микросомы печени человека                       | 123    |
| Допамин                                                                                                                       | —                               | ЭХ       | —                                                       | —                                               | 124    |
| Теofilлин <sup>b</sup>                                                                                                        | Этилацетат, гексан              | ФЛ       | 9 нг·мл <sup>-1</sup>                                   | —                                               | 125    |

**Примечание:** ФЛ — флуоресцентный, СФ — спектрофотометрический, ЭХ — электрохимический (амперометрический) детекторы; <sup>a</sup> микроэмульсия; <sup>b</sup> аббревиатура подвижной фазы не раскрыта.

В варианте мицеллярной эксклюзионной хроматографии разделены Pb(II), Co(II) и Cu(II) в потоке 0.05 М водного раствора додецилсульфата натрия, содержащего 0.08 моль·л<sup>-1</sup> NaCl (рН 4.0), а также смеси катионов редкоземельных элементов (Yb, Ho, Dy, Tb, Pr) и переходных металлов (Cu(II), Pb(II), Zn(II), Ni(II), Co(II) и Mn(II)) в режиме градиентного элюирования смесью 0.025 М додецилсульфата натрия и 0.08 М  $\alpha$ -гидроксиизомасляной кислоты (рН 4.0) или 0.025 М додецилсульфата натрия и 0.08 М винной кислоты (рН 4.30).<sup>31</sup> Разделение восьми катионов переходных металлов Fe(III) < Cu(II) < Zn(II) < Ni(II) < Pb(II) < Co(II) < Cd(II) < Mn(II) достигнуто за 20 мин на колонке Inertsil ODS-2 с водной подвижной фазой, содержащей 0.0945 моль·л<sup>-1</sup> додецилсульфата натрия и 0.0684 моль·л<sup>-1</sup> винной кислоты (рН 4.02).<sup>29</sup>

Определены константы распределения 2-(2-тиазолилазо)-4-метилфенола (ТАМФ) и 2-(2-тиазолилазо)-5-диметиламинофенола (ТААФ) в растворах неионных ПАВ (поли(оксипропилен)-4-нонилфенилового эфира (PONPE), поли(оксипропилен)олеилового эфира (POOE), тритона X-100, POL-10), которые уменьшаются с увеличением длины оксипропиленовой цепи ПАВ.<sup>128</sup> Быстрое элюирование ТАМФ и ТААФ достигается с использованием ПАВ, имеющих более короткую оксипропиленовую цепочку, так как реагенты имеют большее сродство к мицеллярной фазе. Время удерживания

уменьшается с уменьшением числа оксипропиленовых звеньев PONPE и POOE.

Для разделения хелатов металлов с ТААФ использовали PONPE-20.<sup>127,128</sup> Из девяти изученных хелатов селективно элюируется лишь хелат V(V), пик хелата Fe(III) перекрывается с пиком фронта растворителя, а сам реагент и остальные комплексы сильно удерживаются (а некоторые, возможно, и разрушаются) на колонке.<sup>127</sup> Вероятно, при использовании гибридных (с добавками органических модификаторов) элюентов можно было бы получить лучшие результаты. Разделение Cu(II), Zn(II), Ni(II) и Co(II) достигается с использованием подвижной фазы, содержащей 0.006 моль·л<sup>-1</sup> додецилсульфата натрия, 0.002 моль·л<sup>-1</sup> 8-гидроксихинолин-5-сульфокислоты, и градиента рН 3.5 и 3.9 за 45 мин.<sup>131</sup> Определение алюминия с пределом обнаружения 10<sup>-9</sup> в сыворотке человека в виде хелата с 8-гидроксихинолином выполнено на колонке, заполненной CAPCELL PAK MF pH-1, в потоке смеси, содержащей 20 масс%. ацетонитрила, 0.01 моль·л<sup>-1</sup> додецилсульфата натрия, 10<sup>-4</sup> моль·л<sup>-1</sup> ЭДТА, 0.01 моль·л<sup>-1</sup> буферного раствора на основе *N,N*-бис(2-гидроксиэтил)-2-аминоэтансульфоновой кислоты (рН 7.0) с флуоресцентным детектированием (370–504 нм).<sup>130</sup> Для определения Ni(II), Co(II) и Cu(II) в металлических сплавах использовали хелаты с диэтилдитиокарбаминатом натрия и подвижную фазу, содержа-

шую  $0.03 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$  бромид цетилтриметиламмония,  $10^{-4} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$  диэтилдитиокарбамината натрия и 45% 1-пропанола (спектрофотометрическое детектирование).<sup>129</sup> Пределы обнаружения Ni(II), Co(II) и Cu(II) 68.1, 67.2 и 35.4 пг соответственно; продолжительность разделения всего 6 мин.

На примере определения форм мышьяка с помощью МЖХ с мицеллами бромид цетилтриметиламмония показана совместимость МЖХ с масс-спектрометрическим детектированием с использованием индукционной плазмы.<sup>135</sup> При этом пределы обнаружения (90–300 пг) сравнимы с данными ион-парной хроматографии ( $0.4\text{--}1.2 \text{ нг} \cdot \text{см}^{-3}$  при объеме петли  $250 \text{ мм}^3$ , детектирование методом атомно-флуоресцентной спектроскопии с предварительным генерированием гидридов<sup>138</sup>), но уступают ионообменной хроматографии (20–91 пг<sup>139</sup>). Это может быть связано с большими объемами пиков и сложным составом подвижной фазы и, особенно, с влиянием ионов натрия из буферного раствора, которые могут подавлять ионизацию мышьяка.

Ряд работ<sup>77, 135, 136</sup> посвящен использованию везикул в МЖХ. Если мицелла — замкнутый монослой, то везикула — замкнутый бислой. Полость заполнена тем же веществом, что и окружающая среда.<sup>22</sup> Чтобы образовать везикулы, молекулы ПАВ должны содержать два (или более) гидрофобных углеводородных радикала с 16–18 атомами углерода. Этим требованиям отвечают, например, бромид дидодецилдиметиламмония,<sup>135, 136</sup> дигексадецилфосфат.<sup>75, 136</sup> Эти подвижные фазы совместимы с такими селективными способами детектирования, как атомно-эмиссионная спектроскопия с индукционной плазмой (в том числе и после образования гидридов), масс-спектрометрия с индукционной плазмой, атомно-абсорбционная спектроскопия холодного пара, атомно-абсорбционная спектроскопия с электротермической атомизацией.

Интересные результаты получены в МЖХ гетерополианионов:<sup>132, 133</sup> смесь  $\text{BW}_{12}\text{O}_{40}^{5-}$ ,  $\text{SiW}_{12}\text{O}_{40}^{4-}$  и  $\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}^{4-}$  разделена за 10 мин, а смесь  $\text{SiW}_{11}\text{FeO}_{39}^{5-}$ ,  $\text{BW}_{12}\text{O}_{40}^{5-}$  и  $\text{SiW}_{11}\text{O}_{39}^{8-}$  — за 7 мин.

Однако результаты применения МЖХ в неорганическом анализе, хотя и интересны сами по себе, в основном уступают достижениям ион-парной хроматографии или ионной хроматографии.<sup>140–142</sup>

## VII. Сравнение возможностей ион-парной и мицеллярной жидкостной хроматографии

Поскольку роль мицелл подобна роли органических модификаторов благодаря их способности повышать растворимость незаряженных сорбатов в воде, МЖХ обычно сравнивают с ОФ ВЭЖХ. И сравнение это оказывается не в пользу МЖХ. Разделение незаряженных и гидрофобных соединений, где широко используется ОФ ВЭЖХ, — это область, в которой МЖХ как метод разделения имеет явные недостатки как по эффективности, так и по элюирующей силе и селективности. Эффективность колонок в МЖХ значительно ниже, чем в ОФ ВЭЖХ, и уменьшается с увеличением гидрофобности соединений. Мицеллярные элюенты — слабые элюенты, поэтому времена удерживания гидрофобных сорбатов велики. Селективность также низкая из-за близости процессов, происходящих в подвижной и неподвижной фазах,<sup>19, 66</sup> хотя в ряде случаев отмечается обращение порядка элюирования.<sup>143–145</sup> Все эти характеристики хроматографической системы можно улучшить введением органических модификаторов в элюент, однако МЖХ все равно не сможет конкурировать с ОФ ВЭЖХ при разделении гидрофобных сорбатов.

Достоинством метода МЖХ является способность разделения смесей ионных и неионных сорбатов. Еще один метод, позволяющий решить эту проблему, — ион-парная хроматография. Эти методы имеют много общего: в обоих

используют ПАВ, электростатические взаимодействия в них играют большую роль (но если в ион-парной хроматографии главенствующую, определяющую удерживание, то в МЖХ — второстепенную), а органические модификаторы регулируют элюирующую силу и селективность разделения. Есть и принципиальные различия между этими двумя методами. Мицеллярные растворы в МЖХ рассматривают как макроскопически гомогенные, состоящие из двух фаз: мицелл и объема водного раствора. В ион-парной хроматографии подвижные фазы гомогенны и состоят только из мономеров ПАВ. Кроме того, количество адсорбированного ПАВ на неподвижной фазе увеличивается с увеличением концентрации ион-парного реагента в подвижной фазе. При описании МЖХ авторы противоречат друг другу: одни считают, что количество адсорбированного ПАВ почти постоянно после превышения ККМ, другие же доказывают, что адсорбция ПАВ существенна при концентрациях, превышающих ККМ в несколько десятков раз.

В работах<sup>60, 146</sup> на примере разделения аминокислот и пептидов проведено детальное сравнение возможностей обоих методов. Разделение проводили с использованием додецилсульфата натрия, подвижную фазу модифицировали 2-пропанолом. Изучение зависимости удерживания от концентрации спирта показало, что в случае ион-парной хроматографии существует хорошая корреляция между значениями параметра силы растворителя  $S$  и логарифмом коэффициента емкости в чисто водной фазе ( $\ln k'_0$ ). Селективность разделения падает с увеличением содержания органического растворителя в подвижной фазе. Такие зависимости характерны и для ОФ ВЭЖХ. Совсем другие закономерности наблюдали в МЖХ: изменение  $S$  оказалось противоположно изменению  $\ln k'_0$ , а селективность разделения большинства пар сорбатов увеличивалась с увеличением содержания органического растворителя в подвижной фазе.

В мицеллярной жидкостной и в ион-парной хроматографии концентрация ПАВ оказывает различное влияние на удерживание сорбатов. В ион-парной хроматографии время удерживания противоположно заряженных сорбатов (при pH 2.5 изученные аминокислоты и пептиды имеют частичный положительный заряд) увеличивается с увеличением концентрации ион-парного реагента за счет увеличения адсорбированного на поверхности неподвижной фазы ПАВ, выходя на плато при насыщении неподвижной фазы. В мицеллярной жидкостной хроматографии с увеличением общей концентрации ПАВ в системе уменьшается удерживание. В ион-парной хроматографии нет четкой зависимости между селективностью и концентрацией ион-парного реагента; но обычно она повышается с увеличением концентрации, особенно в тех случаях, когда сорбаты различаются по величине заряда. В мицеллярной жидкостной хроматографии, как правило, селективность увеличивается с увеличением концентрации мицелл. В ион-парной хроматографии с увеличением концентрации ион-парного реагента элюирующая сила подвижной фазы уменьшается, а в МЖХ с увеличением концентрации мицелл — увеличивается. Таким образом, увеличение селективности и элюирующей силы в МЖХ происходит симбатно, а в ион-парной хроматографии — антибатно.

Многие авторы отмечали лучшую воспроизводимость характеристик удерживания в МЖХ по сравнению с ион-парной хроматографией. В последнем случае часто приходится работать в области, где удерживание сильно зависит от концентрации ион-парного реагента, поэтому малейшие изменения состава подвижной фазы приводят к довольно значительному изменению удерживания.

Для обоих методов показано снижение эффективности колонки по сравнению с методом ОФ ВЭЖХ. Так, новая колонка длиной 25 см, заполненная сорбентом  $\text{C}_{18}$  при элюировании смесью ацетонитрил–вода (25:75) имела эффективность 14 000 теоретических тарелок. В присутствии

додецилсульфата натрия ее эффективность падала до 5500 теоретических тарелок как в МЖХ, так и в ион-парной хроматографии. Однако ион-парная хроматография имеет преимущество перед МЖХ с точки зрения эффективности за счет варьирования гидрофобной природы ион-парного реагента.

В заключение отметим, что МЖХ — интересный метод с уникальными возможностями изменения селективности; его теория достаточно хорошо разработана. Мицеллярная жидкостная хроматография является альтернативой методу ОФ ВЭЖХ. С точки зрения химика-аналитика этот метод наиболее полезен при анализе биологических объектов.

## Литература

- В.Д.Шатц, О.В.Сахартова. *Высокоэффективная жидкостная хроматография*. Зинатне, Рига, 1988
- J.G.Dorsey. *Adv. Chromatogr.*, **27**, 167 (1987)
- M.G.Khaledi. *Biochromatography*, **3**, 20 (1988)
- M.G.Khaledi. *Trends Anal. Chem.*, **7**, 293 (1988)
- D.W.Armstrong, S.J.Henry. *J. Liquid Chromatogr.*, **3**, 657 (1980)
- K.Saitoh. *Kagaku (Kioto)*, **45**, 884 (1990); *РЖХим.*, 1 Б 2713 (1992)
- J.G.Dorsey, W.T.Cooper, J.F.Wheeler, H.G.Barth, J.P.Foley. *Anal. Chem.*, **66**, 500R (1994)
- M.J.Medina Hernandez, M.C.Garcia Alvares-Coque. *Analyst*, **117**, 831 (1992)
- M.L.Marina, M.A.Garcia. *J. Liquid Chromatogr.*, **17**, 957 (1994)
- D.W.Armstrong, F.Nome. *Anal. Chem.*, **53**, 1662 (1981)
- M.Arnyanart, L.J.Cline Love. *Anal. Chem.*, **56**, 1557 (1984)
- J.P.Foley. *Anal. Chim. Acta*, **231**, 237 (1990)
- D.W.Armstrong. *Sep. Purif. Methods*, **14**, 213 (1985)
- J.P.Foley, W.E.May. *Anal. Chem.*, **59**, 102 (1987)
- J.P.Foley, W.E.May. *Anal. Chem.*, **59**, 110 (1987)
- M.F.Borgerding, F.H.Quina, W.L.Hinze, J.Bowermaster, H.M.McNair. *Anal. Chem.*, **60**, 2520 (1988)
- A.Berthod, I.Girard, C.Gonnet. *Anal. Chem.*, **58**, 1359 (1986)
- M.L.Marina, S.Vera, A.R.Rodriguez. *Chromatographia*, **28**, 379 (1989)
- M.G.Khaledi, E.Peuler, J.Ngeh-Ngwinbi. *Anal. Chem.*, **59**, 2738 (1987)
- M.A.Garcia, S.Vera, M.L.Marina. *Chromatographia*, **32**, 148 (1991)
- С.Б.Саввин, Р.К.Чернова, С.Н.Штыков. *Поверхностно-активные вещества*. Наука, Москва, 1991
- А.И.Русанов. *Мицеллообразование в растворах поверхностно-активных веществ*. Химия, С.-Петербург, 1992
- W.Hu, T.Takeuchi, H.Haraguchi. *Chromatographia*, **33**, 58 (1992)
- W.Hu, T.Takeuchi, H.Haraguchi. *Chromatographia*, **33**, 63 (1992)
- A.H.Rodgers, J.K.Strasters, M.G.Khaledi. *J. Chromatogr.*, **636**, 203 (1993)
- A.H.Rodgers, M.G.Khaledi. *Anal. Chem.*, **66**, 327 (1994)
- S.A.Zibas. *Anal. Chim. Acta*, **299**, 17 (1994)
- G.P.Carmelo. *Analyst*, **120**, 53 (1995)
- T.Okada. *Anal. Chem.*, **64**, 589 (1992)
- T.Okada. *Anal. Chem.*, **60**, 1551 (1988)
- T.Okada. *Anal. Chem.*, **60**, 2116 (1988)
- T.Okada. *J. Chromatogr.*, **538**, 341 (1991)
- T.Okada, H.Shimizu. *J. Chromatogr. A*, **706**, 37 (1995)
- J.H.Knox, R.A.Hartwick. *J. Chromatogr.*, **204**, 3 (1981)
- A.Berthod, M.F.Borgerding, W.L.Hinze. *J. Chromatogr.*, **556**, 263 (1991)
- B.Canas-Montalvo, R.C.Izquierdo-Hornillos. *J. Liquid Chromatogr.*, **17**, 1464 (1994)
- M.F.Borgerding, W.L.Hinze, L.D.Stafford, G.W.Fulp Jr., W.C.Hamlin Jr. *Anal. Chem.*, **61**, 1353 (1989)
- W.Hu, P.R.Haddad. *Anal. Commun.*, **35**, 191 (1998)
- J.G.Dorsey, M.T.DeEchegaray, J.S.Landy. *Anal. Chem.*, **55**, 924 (1983)
- P.Yarmchuk, R.Weinberger, R.F.Hirsch, L.J.Cline Love. *J. Chromatogr.*, **283**, 47 (1984)
- J.S.Landy, J.G.Dorsey. *Anal. Chim. Acta*, **178**, 179 (1985)
- M.F.Borgerding, R.L.Williams Jr., W.L.Hinze, F.H.Quina. *J. Liquid Chromatogr.*, **12**, 1367 (1989)
- M.F.Borgerding, W.L.Hinze. *Anal. Chem.*, **57**, 2183 (1985)
- D.W.Armstrong, T.J.Ward, A.Berthod. *Anal. Chem.*, **58**, 579 (1986)
- R.Bailey, P.M.Cassidy. *Anal. Chem.*, **64**, 2277 (1992)
- A.Berthod, A.Roussel. *J. Chromatogr.*, **449**, 349 (1988)
- M.G.Khaledi, J.K.Strasters, A.H.Rogers, E.D.Breyer. *Anal. Chem.*, **62**, 130 (1990)
- A.J.I.Ward, J.H.Han, O.Donghue, B.K.Lavine. In *Pittsburgh Conference and Expo on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy. (Abstracts of Reports)*. New York, 1990. P. 111
- R.M.Villanueva Camanas, J.M.Sanchis Mallols, J.R.Torres Lapasio, G.Ramis-Ramos. *Analyst*, **120**, 1767 (1995)
- P.Menendez Fraga, E.Blanco Gonzalez, A.Sanz-Medel. *Anal. Chim. Acta*, **212**, 181 (1988)
- F.Palmisano, A.Guerrieri, P.G.Zambonin, T.R.I.Cataldi. *Anal. Chem.*, **61**, 946 (1989)
- B.K.Lavine, S.Hendayana. *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.*, **19**, 101 (1996)
- M.A.Rodriguez Delgado, M.J.Sanchez, V.Gonzalez, F.Garcia Montelongo. *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.*, **19**, 187 (1996)
- J.P.Foley, J.G.Dorsey. *Anal. Chem.*, **55**, 730 (1983)
- J.M.Saz, M.L.Marina. *J. Chromatogr. A*, **687**, 1 (1994)
- M.A.Garcia, M.L.Marina. *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.*, **19**, 1757 (1996)
- L.S.Madamba-Tan, J.K.Strasters, M.G.Khaledi. *J. Chromatogr. A*, **683**, 321 (1994)
- J.K.Strasters, E.D.Breyer, A.H.Rodgers, M.G.Khaledi. *J. Chromatogr.*, **511**, 17 (1990)
- J.K.Strasters, S.T.Kim, M.G.Khaledi. *J. Chromatogr.*, **586**, 221 (1991)
- A.S.Kord, M.G.Khaledi. *Anal. Chem.*, **64**, 1894 (1992)
- W.L.Hinze, Z.Fu, F.S.Sadek. In *Pittsburgh Conference and Expo on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy. (Abstracts of Reports)*. Atlantic City, 1987. P. 578
- M.A.Garcia, S.Vera, M.Bombin, M.L.Marina. *J. Chromatogr.*, **646**, 297 (1993)
- F.P.Tomasella, J.Fett, L.J.Cline Love. *Anal. Chem.*, **63**, 474 (1991)
- M.A.Rodriguez Delgado, M.J.Sanchez, V.Gonzalez, F.Garcia Montelongo. *Chromatographia*, **38**, 342 (1994)
- M.A.Rodriguez Delgado, M.J.Sanchez, V.Gonzalez, F.Garcia Montelongo. *Anal. Chim. Acta*, **298**, 423 (1994)
- M.G.Khaledi. *Anal. Chem.*, **60**, 876 (1988)
- A.S.Kord, M.G.Khaledi. *J. Chromatogr.*, **631**, 125 (1993)
- O.Jimenez, I.Benito, M.L.Marina. *Anal. Chim. Acta*, **353**, 367 (1997)
- O.Jimenez, M.A.Garcia, M.L.Marina. *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.*, **20**, 731 (1997)
- M.C.Garcia Alvarez-Coque, J.P.Torres Lapasio, J.J.Baeza Baeza. *Anal. Chim. Acta*, **324**, 163 (1996)
- L.S.Madamba-Tan, J.K.Strasters, M.G.Khaledi. *J. Chromatogr. A*, **683**, 335 (1994)
- J.R.Torres Lapasio, R.M.Villanueva Camanas, J.M.Sanchis-Mallols, M.J.Medina Hernandez, M.C.Garcia-Alvarez-Coque. *J. Chromatogr.*, **639**, 87 (1993)
- M.D.Rukhadze, G.S.Bezarashvili, M.V.Sebiskeradze, V.R.Meyer. *Anal. Chim. Acta*, **356**, 19 (1997)
- B.K.Lavine, S.Hendayana, J.Tetreault. *Anal. Chem.*, **66**, 3458 (1994)
- B.K.Lavine, W.T.Cooper, Y.He, S.Hendayana, J.H.Han, J.Tetreault. *J. Colloid Interface Sci.*, **165**, 497 (1994)
- B.K.Lavine, A.J.White, J.H.Han. *J. Chromatogr.*, **542**, 29 (1991)
- A.L.Underwood. *Anal. Chim. Acta*, **140**, 89 (1982)
- A.Sanz-Medel, B.Aizpun, J.M.Marchante, E.Segovia, M.L.Fernandez, E.Blanco. *J. Chromatogr. A*, **683**, 233 (1994)
- M.G.Khaledi, J.K.Strasters, S.C.Smith. *Anal. Chem.*, **63**, 1820 (1991)
- Shenyuan Yang, M.G.Khaledi. In *Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy. (Abstracts of Reports)*. Chicago, 1994. P. 1224
- A.Berthod, I.Girard, C.Gonnet. *Anal. Chem.*, **58**, 1356 (1986)
- B.K.Lavine, S.Hendayana, W.T.Cooper, Y.He. *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.*, **20**, 351 (1997)
- B.K.Lavine, S.Hendayana, W.T.Cooper, Y.He. *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.*, **20**, 377 (1997)
- P.R.Bedard, M.L.Cotton. *J. Liquid Chromatogr.*, **14**, 1113 (1991)
- F.G.P.Mullins, G.F.Kirkbright. *Analyst*, **109**, 1217 (1984)
- A.Berthod, I.Girard, C.Gonnet. *Anal. Chem.*, **58**, 1362 (1986)
- M.G.Khaledi, E.D.Breyer. *Anal. Chem.*, **61**, 1040 (1989)

88. F.Gago, J.Alvarez-Builla, J.Elguero, J.C.Diez-Masa. *Anal. Chem.*, **59**, 921 (1987)
89. V.Gonzalez, M.A.Rodriguez-Delgado, M.J.Sanchez, F.Garcia-Montelongo. *Chromatographia*, **34**, 627 (1992)
90. K.T.Valsaraj, L.J.Thibodeaux. *Sep. Sci. Technol.*, **25**, 369 (1990)
91. M.A.Garcia, M.L.Marina. *J. Chromatogr. A*, **687**, 233 (1994)
92. I.Benito, J.M.Saz, M.L.Marina. *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.*, **21**, 331 (1998)
93. R.Graglia, E.Pelizzetti. *Anal. Chim. Acta*, **212**, 171 (1988)
94. P.Jandera. *J. Chromatogr.*, **314**, 13 (1984)
95. P.Jandera. *Chromatographia*, **19**, 101 (1984)
96. W.L.Hinze, S.G.Weber. *Anal. Chem.*, **63**, 1808 (1991)
97. M.A.Rodriguez Delgado, M.J.Sanchez, V.Gonzalez, F.Garcia-Montelongo. *Fr. J. Anal. Chem.*, **345**, 748 (1993)
98. M.A.Rodriguez Delgado, M.J.Sanchez, V.Gonzalez, F.Garcia-Montelongo. *J. Chromatogr. A*, **697**, 71 (1995)
99. S.Yang, M.G.Khaledi. *J. Chromatogr. A*, **692**, 301 (1995)
100. H.Zou, Y.Zhang, P.Lu. *Anal. Chim. Acta*, **310**, 461 (1995)
101. M.H.Guermouche, D.Habel, S.Guermouche. *Fluid Phase Equil.*, **147**, 301 (1998)
102. E.D.Breyer, J.K.Strasters, M.G.Khaledi. *Anal. Chem.*, **63**, 828 (1991)
103. L.Escuder-Gilabert, S.Sagrado, R.M.Villanueva Camanas, M.J.Medina Hernandez. *Anal. Chem.*, **70**, 28 (1998)
104. F.P.Tomasella, L.J.C.Love. *Anal. Chem.*, **62**, 1315 (1990)
105. J.P.Torres Lapasio, J.J.Baeza Baeza, M.C.Garcia Alvares-Coque. *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.*, **19**, 1205 (1996)
106. M.Amin, K.Harrington, R.von Wandruszka. *Anal. Chem.*, **65**, 2346 (1993)
107. I.Carretero, A.Maldonado, J.J.Laserna, E.Bonet Domingo, G.Ramis Ramos. *Anal. Chim. Acta*, **259**, 203 (1992)
108. W.Peng, T.Li, E.Wang. *Anal. Chim. Acta*, **298**, 415 (1994)
109. Y.Martin Bioska, J.J.Baeza Baeza, G.Ramis Ramos. *J. Pharm. Belg.*, **50**, 362 (1995)
110. S.Carda Broch, M.C.Garcia Alvares-Coque, E.F.Simo Alfonso, J.S.Esteve Romero. *Anal. Chim. Acta*, **353**, 215 (1997)
111. I.Perez-Martinez, S.Sagrado, M.J.Medina Hernandez. *Anal. Chim. Acta*, **304**, 195 (1995)
112. S.B.Thomas, S.J.Albazi. *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.*, **19**, 977 (1996)
113. S.Yang, M.G.Khaledi. *J. Chromatogr. A*, **692**, 311 (1995)
114. E.Bonet Domingo, M.J.Medina Hernandez, M.C.Garcia Alvares-Coque. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **11**, 711 (1993)
115. E.Bonet Domingo, M.J.Medina Hernandez, G.Ramis Ramos, M.C.Garcia Alvares-Coque. *Analyst*, **117**, 843 (1992)
116. S.Torres Cartas, M.C.Garcia Alvares-Coque, R.M.Villanueva Camanas. *Anal. Chim. Acta*, **302**, 163 (1995)
117. M.Catala-Icardo, M.J.Medina Hernandez, M.C.Garcia Alvarez-Coque. *J. Liquid Chromatogr.*, **18**, 2827 (1995)
118. S.Carda Broch, J.S.Esteve-Romero, M.C.Garcia Alvares-Coque. *Analyst*, **123**, 301 (1998)
119. I.Rapado-Martinez, M.C.Garcia Alvares-Coque, R.M.Villanueva Camanas. *Analyst*, **121**, 1677 (1996)
120. I.Perez-Martinez, S.Sagrado, M.J.Medina Hernandez. *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.*, **19**, 1957 (1996)
121. J.H.Aiken, C.W.Huie, J.A.Terzian. *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, **584**, 181 (1992)
122. I.Carretero, J.M.Vadillo, J.J.Laserna. *Analyst*, **120**, 1729 (1995)
123. D.Haupt, G.Pettersson, D.Westerlund. *J. Biochem. Biophys. Methods*, **25**, 273 (1992)
124. Y.Qu, P.Hu, P.Zhu. *J. Liquid Chromatogr.*, **14**, 2755 (1991)
125. A.G.Mwalupindi, I.M.Warner. *Anal. Chim. Acta*, **306**, 49 (1995)
126. M.G.Khaledi, J.G.Dorsey. *Anal. Chem.*, **57**, 2190 (1985)
127. J.Miura. *Fr. J. Anal. Chem.*, **344**, 294 (1992)
128. J.Miura, M.Yoshitome, I.Goto, Y.Nakamura, H.Watanabe. *Anal. Sci.*, **9**, 255 (1993)
129. M.P.San Andres, S.Vera, M.L.Marina. *J. Chromatogr. A*, **685**, 271 (1994)
130. M.Sato, H.Yoshimura, H.Obi, S.-i.Hatakeyama, E.Kaneko, H.Hoshino, T.Yotsuyanagi. *Chem. Lett.*, 203 (1996)
131. S.Muralidharan, H.Ma, H.Freiser. In *Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy. (Abstracts of Reports)*. New Orleans, 1998. P. 1004
132. N.-Q.Li, M.-H.Zhu. *Acta Chim. Sinica*, **52**, 186 (1994); *РЖХим.*, 21 Б 2416 (1994)
133. N.-Q.Li, M.-H.Zhu. *Acta Chim. Sinica*, **52**, 12 (1994); *РЖХим.*, 10 Б 2336 (1995)
134. H.Ding, J.Wang, J.G.Dorsey, J.A.Caruso. *J. Chromatogr. A*, **694**, 425 (1995)
135. A.Sanz-Medel, M.R.Fernandez de la Campa, M.L.Fernandez, R.Pereiro, B.Fairman. *ICP Inf. Newslett.*, **21**, 419 (1995)
136. E.Segova, J.M.Marchante, J.M.Gonzalez, M.L.Fernandez, J.E.Sanchez-Uria, A.Sanz-Medel. *ICP Inf. Newslett.*, **21**, 724 (1996)
137. M.P.Dziewatkoski. In *Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy (Abstracts of Reports)*. New Orleans, 1998. P. 1089
138. Z.Mester, P.Fodor. *J. Chromatogr. A*, **756**, 292 (1996)
139. D.T.Heitkemper, J.Creed, J.A.Caruso, F.L.Fricke. *Annu. Rep. Anal. At. Spectrosc.*, **4**, 279 (1989)
140. И.П.Алимарин, Е.М.Басова, Т.А.Большова, В.М.Иванов. *Журн. аналит. химии*, **45**, 1478 (1990)
141. Е.М.Басова, Т.А.Большова, О.А.Шпигун, В.М.Иванов. *Журн. аналит. химии*, **48**, 1094 (1993)
142. О.А.Шпигун, Ю.А.Золотов. *Ионная хроматография и ее применение в анализе вод*. Изд-во МГУ, Москва, 1990
143. D.W.Armstrong, G.Y.Stine. *Anal. Chem.*, **55**, 2317 (1983)
144. M.Arnyanart, L.J.Cline Love. *J. Chromatogr.*, **342**, 293 (1985)
145. J.P.Berry, W.G.Weber. *J. Chromatogr. Sci.*, **25**, 307 (1985)
146. M.G.Khaledi. In *Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy. (Abstracts of Reports)*. Atlanta, 1993. P. 1000

## MICELLAR LIQUID CHROMATOGRAPHY

**E.M.Basova, V.M.Ivanov, O.A.Shpigun**

*Department of Chemistry, M.V.Lomonosov Moscow State University  
Leninskie Gory, 119899 Moscow, Russian Federation, Fax +7(095)932-8846*

Theoretical grounds and applications of micellar liquid chromatography (MLC) are presented. Various retention models in MLC and factors affecting the efficiency and the selectivity of separation (the nature and the concentration of a surfactant and an organic modifying agent, pH, temperature and ionic strength) are discussed. The advantages and limitations of MLC are demonstrated. The performance of MLC is critically evaluated in relation to reversed-phase HPLC and ion-pair chromatography. The potential of application of MLC for pharmaceutical analyses including analyses of biological liquids and inorganic analyses for separation of anions, transition metal cations, metal chelates and heteropoly species is shown.

Bibliography — 146 references.

*Received 17th May 1999*