

## Методы разделения и концентрирования в аналитической химии

УДК 543.2

### Разделение и концентрирование в химическом анализе

Ю. А. Золотов

*ЮРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ ЗОЛОТОВ — академик РАН, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой аналитической химии Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, заведующий лабораторией Института общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН (ИОНХ РАН). Область научных интересов: общие вопросы аналитической химии, методы разделения и концентрирования, проточный анализ, гибридные методы химического анализа.*

119071 Москва, Ленинский просп., 31, ИОНХ РАН, тел. (095)236-53-27, E-mail zolotov@igic.ras.ru

#### Введение

Если не считать попыток алхимиков превратить разные металлы в золото и создать «эликсир жизни», то предыстория химии — это в значительной степени история разложения природных веществ и выделения отдельных компонентов. Целенаправленный синтез начал развиваться со значительным отставанием и вышел на приоритетные позиции лишь в XIX веке, на подъеме органической химии. В классическом качественном химическом анализе, особенно систематическом, разделение веществ последовательным осаждением занимало ключевые позиции. Количественный анализ химическими методами не всегда включал обязательное разделение смесей (титриметрия), но тем не менее и в этом случае рассматриваемые операции играли и играют важную роль. С развитием инструментальных методов анализа операции разделения смесей и концентрирования малых количеств в какой-то мере стали приобретать характер вспомогательных, хотя и очень существенных, а часто и просто необходимых. В ходе становления гибридных методов анализа разделение и концентрирование вошли в состав таких методов как имманентная, неотъемлемая часть. Мы видим это в современной хроматографии (разделение плюс детектирование в одном приборе), капиллярном электрофорезе, в вариантах проточно-инжекционного анализа. Да и в таких методах как масс-спектрометрия или спектрометрия ионных подвижностей разделение смесей (точнее, ионов соответствующих компонентов смесей) присутствует «внутри» метода. Одним словом, для химического анализа рассматриваемые операции, несомненно, очень важны.

Целям аналитического разделения и концентрирования служат многочисленные методы; в научно-методическом плане они сильно отличаются друг от друга, отличаются и масштабами использования. Их арсенал не исчерпан, постоянно появляются все новые и новые методы или по крайней мере их варианты. Объекты приложения этих методов, точнее, объекты, при анализе которых используют методы разделе-

ния и концентрирования, чрезвычайно разнообразны; проще сказать — это практически любые объекты.

Методы разделения, используемые в аналитической химии, применяют и в лабораторной радиохимии, технические приемы — в основном похожие\*. Очевидный пример — экстракция; в сообществе специалистов по этому методу много и аналитиков, и радиохимиков. Почти то же можно сказать о соосаждении или ионном обмене. Подтверждением сходства является и то, что многие химики занимаются одновременно «аналитическим» и «радиохимическим» разделением, в частности разработкой методов разделения элементов. Из отечественных химиков — это, например, Б.Ф. Мясоедов, Л.Н. Москвин, Б.Я. Спиваков, В.В. Якшин, Ю.А. Золотов. Академик В.Г. Хлопин, классик-радиохимик, многое сделал и как химик-аналитик.

Однако есть и отличия. Если, как уже говорилось, для аналитической химии разделение и концентрирование нередко выступает в роли важной, но по существу вспомогательной операции, то для радиохимии разделение гораздо чаще является самоцелью, например в варианте очистки радионуклида от других радиоэлементов.

Другое отличие касается состава объекта исследования. Хотя в радиохимии есть области, охватывающие разделение органических веществ (получение меченых соединений, экстракция радионуклидов в виде комплексов с органическими лигандами и др.), в основном радиохимики работают с химическими элементами и неорганическими соединениями. В аналитической же химии разделение органических веществ играет огромную роль.

Есть, пожалуй, еще одно отличие. В былые времена на основе чисто аналитических разделительных операций подчас создавались технологические процес-

\* Сопоставление с радиохимическими методами делается в связи с тем, что статья публикуется в выпуске журнала, посвященном методам разделения и концентрирования в аналитической химии и радиохимии.

сы (выделение и аффинаж платиновых металлов, исторически первые процессы радиохимического производства и др.), но теперь это бывает редко. Исследование же разделений в лабораторной радиохимии в гораздо большей степени нацелено на промышленное производство, теснее с ним связано.

Для концентрирования микроколичеств обычно используют те же методы, что и для разделения смесей, но не все и не всегда. Так, хроматографию редко применяют для концентрирования, а направленную кристаллизацию и зонную плавку — для разделения смесей. Интерес к тем или иным методам аналитического разделения и концентрирования со временем меняется. В первом приближении пик внимания к самым распространенным методам концентрирования смещался от осаждения (отчасти соосаждения) к ионному обмену и особенно к экстракции, затем к сорбции; при разделении смесей — от осаждения, отчасти

экстракции к хроматографии, причем последняя в настоящее время безраздельно торжествует.

### Хроматографические методы

В последние годы наибольший интерес в области хроматографии представляют работы по жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), в том числе высокоскоростной, с использованием монолитных колонок, по мицеллярной электрокинетической хроматографии. Достигнут большой прогресс в создании разнообразных сорбентов, в том числе с размерами частиц до 1—3 мкм и сферической формы. Есть примеры разделения многокомпонентных смесей за время порядка нескольких секунд. Жидкостная хроматография в высокоэффективном варианте позволяет разделять оптические изомеры органических соединений.

Так, на кафедре аналитической химии Московского университета им. М.В. Ломоносова разработаны

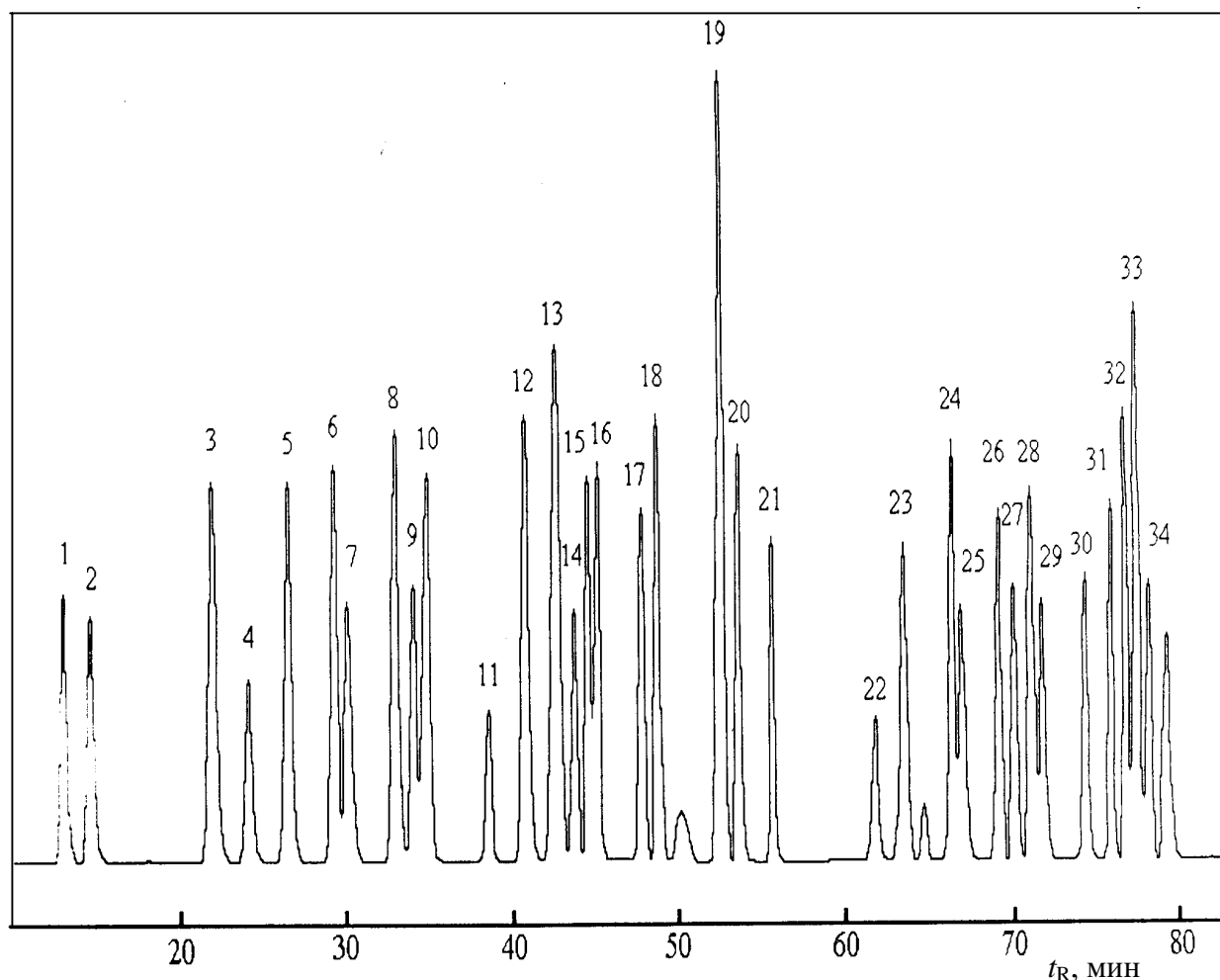


Рис. 1. Хроматограмма оптических изомеров аминокислот в виде производных с ортофтальевым альдегидом и тиолами, полученная методом ВЭЖХ.

Колонка — Mightysil RP-18 (150×4,6 мм), подвижная фаза — метанол + 0,01 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 6,0; градиентное элюирование, скорость потока 0,5 мл/мин; спектрофотометрическое детектирование при 340 нм.

Пики: 1 — L-Asp; 2 — D-Asp; 3 — L-Glu; 4 — D-Glu; 5 — L-Asn; 6 — D-Asn; 7 — L-Ser; 8 — L-Gln; 9 — D-Ser; 10 — D-Gln; 11 — D-His; 12 — L-Thr; 13 — Gly+L-His; 14 — D-Thr; 15 — D-Arg; 16 — Arg; 17 — β-Ala; 18 — L-Ala; 19 — L-Tyr+GABA; 20 — D-Ala; 21 — D-Tyr; 22 — L-Met+L-Trp; 23 — L-Val; 24 — L-Phe; 25 — D-Met; 26 — D-Trp; 27 — D-Val; 28 — D-Phe; 29 — L-Ile; 30 — L-Ley; 31 — L-Lys; 32 — D-Ile; 33 — D-Lys; 34 — D-Leu

приемы разделения энантиомеров аминокислот. Обычно это делается методом обращенно-фазовой ВЭЖХ после предколонной дериватизации. В работах кафедры для дериватизации аминокислот использован новый хиральный реагент N-®-манделил-(S)-цистеин, который обеспечивает более высокое разрешение, чем ранее изученные реагенты; высокая энантиоселективность (рис. 1) определяется наличием в структуре реагента дополнительного хирального атома. Предложенный метод разделения и определения аминокислот обладает высокой воспроизводимостью и широким интервалом линейности градуировочного графика, предел детектирования аминокислот флуориметрическим детектором составляет  $3 \cdot 10^{-4}$ — $4 \cdot 10^{-3}$  мкг/мл.

В последние годы получило большое распространение сочетание ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием. Химическая ионизация при атмосферном давлении или с электрораспылением и другие варианты ионизации позволили анализировать хромато-масс-спектрометрическим методом сложные смеси лабильных соединений с высокой молекулярной массой. Это в значительной степени продвинуло исследования в области молекулярной биологии и биохимии.

Газовая хроматография давно стала массовым методом. Отечественные газовые хроматографы, например серии «Кристалл», отвечают высоким требованиям и производятся большими тиражами. Теперь почти рутинным методом становится даже газовая хромато-масс-спектрометрия. К сожалению, в России почти нет собственного производства хромато-масс-спектрометров. Один прибор разработан в Конструкторско-технологическом институте геофизического и экологического приборостроения (Новосибирск) в основном для решения специальных задач, второй недавно сделан на базе масс-спектрометрического детектора фирмы Finnigan и газового хроматографа «Кристалл-5000». На кафедре аналитической химии Химического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова разработаны эффективные хромато-масс-спектрометрические методы анализа нефтепродуктов, фармацевтических препаратов, биомедицинских объектов, объектов окружающей среды.

Тонкослойная хроматография теперь существует и в высокоэффективном варианте, она автоматизирована и «объективизирована». В России сложились центры, развивающие метод, разрабатывающие аппаратуру и выпускающие все необходимое для реализации метода (Петербург, Краснодар и др.). Тонкослойная хроматография получила распространение в анализе пищевых, фармацевтических и других объектов, в том числе при исследовании белков.

Из близких к хроматографии методов (но не являющихся хроматографическими) наибольшее значение имеет капиллярный электрофорез в меньшей степени — разделение в поперечном силовом поле (Field Flow Fractionation, FFF). Капиллярный электрофорез сыграл свою роль при расшифровке генома человека, как и ВЭЖХ. В последнее время его пытаются осуществить в микроварианте — на микрочипах (фирмы Шимадзу, Эджелент). В целом, однако, метод не оправдал возлагавшихся на него надежд, впрочем, явно завышенных.

Разделение в поперечном силовом поле используют относительно редко, хотя как технологический этот метод давно известен. Старатели «моют» золото, применяя именно этот прием: в потоке воды тяжелые золотинки задерживаются на лотке в большей степени, чем песчинки, силовым полем является в этом случае гравитационное поле Земли.

Все большую роль играют мембранные методы, но чаще всего за пределами аналитической химии. Из аналитических приложений следует отметить хромато-мембранный метод, развиваемый в Петербургском университете, или разделение разных форм элементов и частиц в Институте геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН.

### Экстракция

Экстракция в системе жидкость—жидкость долгие годы, в 40-х и особенно в 50—60-х годах XX века, была предметом интенсивных исследований. Разработаны многочисленные способы экстракционного выделения и концентрирования химических элементов и органических веществ для последующего определения их самыми разными методами. Большое число созданных методов, например экстракционно-фотометрических, вошло в практику химического анализа. В настоящее время экстракция постепенно уступает место сорбции.

Однако в экстракции есть относительно новые области, которым уделяется немало внимания. Это, например, извлечение сверхкритическими флюидами и ионными жидкостями (ИЖ), экстракция очень малыми объемами органического растворителя, экстракция в проточно-инжекционном анализе, с использованием планетарной центрифуги и др. Кроме того, постоянно появляются новые экстракционные реагенты, например макроциклические. Перечисленные и другие, новые, направления представляют существенный интерес.

В качестве примера можно привести данные об экстракции ионными жидкостями и сверхкритической экстракции, полученные на кафедре аналитической химии МГУ. Ионные жидкости — высокоэффективные экстракционные растворители, вполне способные заменить традиционные не смешивающиеся с водой разбавители. Уникальная особенность ИЖ — способность к ионообменной экстракции, особенно катионов. Такой метод обычно характеризуется весьма высокой эффективностью. Хотя многие ионизирующиеся органические соединения извлекаются в нейтральной форме, катехоламины и аминокислоты хорошо извлекаются в виде катионов. Этим обусловлена значительная селективность. Катехоламины можно извлекать из кислых сред в катионной форме на фоне ароматических аминов, для экстракции которых нужны более щелочные среды. Аминокислоты, даже весьма гидрофильный глицин, количественно экстрагируются ионной жидкостью гексафторфосфатом 1-бутил-3-метилимидазолия (в присутствии дициклогексил-18-краун-6) (рис. 2). Возможна количественная реэкстракция щелочными водными растворами. Эта экстракционная система с успехом применена для извлечения аминокислот из нативного раствора микробиологического производства.

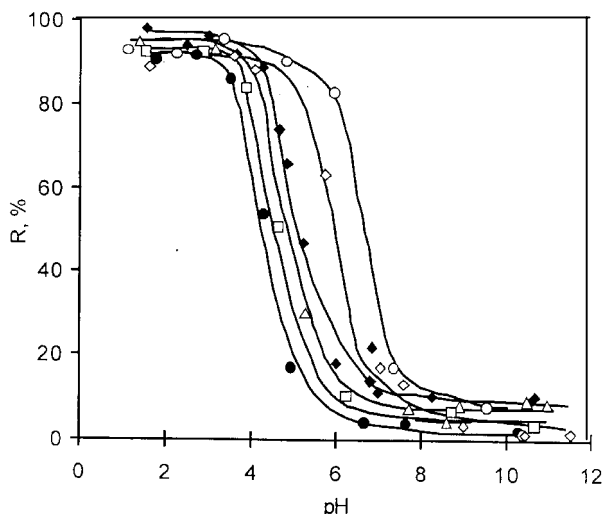


Рис. 2. Кривые экстракции аминокислот ионной жидкостью гексафторфосфатом 1-бутил-3-метилимидазолия в присутствии краун-эфира:

◆ — Trp; Δ — Gly; □ — Leu; ● — Ala; ○ — Lys; ◇ — Arg

Разработаны методы прямой сверхкритической флюидной экстракции из воды (и из других матриц), позволяющие в сочетании с газовой хроматографией либо газовой хромато-масс-спектрометрией анализировать весь концентрат, а не малую часть (0,001–0,01) его, как в общепринятых методах.

#### Сорбционное концентрирование

Методы сорбционного концентрирования органических веществ из водных и органических растворов, разработанные на кафедре аналитической химии МГУ, позволяют анализировать весь концентрат из больших объемов проб. Новые возможности по определению примесей в химической и фармацевтической продукции открываются при использовании метода концентрирования, основанного на хромадистилляции в сочетании с сорбционным концентрированием, обеспечивающим концентрирование примесей из растворов с высококипящим растворителем (основным компонентом) и последующий анализ всего концентрата.

Вообще большинство задач концентрирования органических и неорганических веществ и отделения их от сопутствующих компонентов решают сейчас с помощью сорбционных методов. Сорбционное концентрирование технологично, легко сочетается с методами последующего определения компонентов, не требуется сложной аппаратуры. Относительная простота автоматизации самой стадии концентрирования и комбинации концентрирования с последующим определением обеспечила разработку и широкое распространение большого числа проточных автоматизированных методов анализа, включающих сорбционное концентрирование. Созданы новые высокоселективные сорбенты, такие как сорбенты с молекулярными отпечатками, иммуносорбенты, сорбенты с ограниченным доступом.

Наблюдается тенденция миниатюризации сорбционных систем концентрирования. Например микроколичества As(III), Bi, Cd, Co, Cr(III) и еще 9 элементов при анализе вод и биологических объектов концен-

трировали в виде гидрофобных комплексов на стенках фторопластовых капилляров, после чего комплексы десорбировали минимальными объемами органических растворителей (20–50 мкл). Элементы определяли методами ААС [1], ЭТААС [2], ИСП-АЭС [3] и ИСП-МС [4].

В качестве миниатюрных систем концентрирования в проточной сорбционно-хроматографической системе применяли короткие (50–60 см) отрезки капиллярных колонок для газовой хроматографии («in-tube SPME») [5–11], что позволило десорбировать соединения малым количеством (30–40 мкл) растворителя. Разнообразие коммерчески доступных неподвижных фаз, используемых в газовой хроматографии, позволяет выбрать наиболее подходящую фазу для концентрирования тех или иных веществ. Предложенные проточные системы применяли для определения органических загрязнителей и лекарственных веществ в водах различных типов и биологических жидкостях [12].

Использование капиллярных сорбционных систем обеспечило снижение продолжительности анализа, расхода реагентов и растворителей, а также достижение низких пределов обнаружения при анализе минимальных количеств пробы.

#### Гибридные методы и интенсификация процессов

Следует отметить два направления в распространенных ныне методах «аналитического» разделения — их тесное сочетание с методами определения (гибридные методы) и интенсификация процессов.

Понятие о гибридных методах было сформулировано в середине 70-х [13, 14] годов XX века, когда многие методы такого рода уже существовали. Это категория методов, которые включают разделение (концентрирование) и определение. Число таких методов все время увеличивается, они даже вытесняют «обычные» методы разделения. Это видно и из предыдущего изложения, ведь современные хроматографические методы или капиллярный электрофорез (или электроинжекционный анализ, о котором не упоминалось) — это гибридные методы.

Что касается интенсификации, то она достигается главным образом путем использования физических полей — тепловых, электрических, микроволновых (МВ), ультразвуковых. В книгах под редакцией Х. Кингстона собраны сведения о воздействии микроволнового излучения [15, 16]. МВ-излучение применяли для интенсификации процессов экстракции органических примесей [17, 18] и тяжелых металлов [19], при концентрировании ионов металлов на различных твердых сорбентах [20–22], в процессе десорбции, в частности при проточно-инжекционном концентрировании на силикагеле [23].

Материалы о воздействии ультразвука (УЗ) собраны, например, в книге Ф. Чмиленко [24]. В нашей лаборатории изучено воздействие ультразвукового облучения на скорость хемосорбции никеля на ксерогелях (высушенных гелях кремниевой кислоты), содержащих 1-(2-пиридил)-азонафтол и хлорид N-цетилпиридиния, и железа(II) на ксерогелях, модифицированных хромазулолом и тем же цетилпиридинием. Показано, что УЗ существенно ускоряет взаимодействие; так, УЗ с плотностью 0,32 Вт/мл ускоряет достижение сорбционного равновесия в 3–4 раза.

### Заключение

В ближайшие годы среди основных методов разделения смесей для целей химического анализа, несомненно, останутся хроматография, в меньшей степени капиллярный электрофорез и экстракция; возможно, большее применение найдут мембранные методы. Разумеется, дальнейшее развитие получат методы анализа, «внутри» которых присутствует разделение веществ, т.е. масс-спектрометрия, спектрометрия ионных подвижностей и другие аналогичные методы.

Среди методов концентрирования приоритет на обозримый период сохранится, по-видимому, за сорбционными методами. Важную роль играют и будут играть методы анализа, в которых стадия концентрирования присутствует имманентно (инверсионная вольтамперометрия).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Gaspar A., Sogor C., Posta J. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1999, v. 363, p. 480.
2. Benkhedda K., Infante H.G., Ivanova E., Adams F. *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 2000, v. 15, p. 429.
3. Wuilloud R.G., Salonia J.A., Olsina R.A., Martinez L.D. *Spectrochim. Acta B*, 2000, v. 55, p. 671.
4. Yan X.-P., Hendry M.J., Kerrish R. *Anal. Chem.*, 2000, v. 72, p. 1879.
5. Eisert R., Pawliszyn J. *Ibid.*, 1997, v. 69, p. 3140.
6. Eisert R., Pawliszyn J. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 1997, v. 27, p. 103.
7. Lord H.L., Pawliszyn J. *LC·GC*, 1998, v. 16, p. S41.
8. Kataoka H., Narimatsu S., Lord H.L., Pawliszyn J. *Anal. Chem.*, 1999, v. 71, p. 4237.
9. Kataoka H., Lord H., Pawliszyn J. *J. Anal. Toxicol.*, 2000, v. 24, p. 257.
10. Kataoka H., Lord H.L., Yamamoto S. *e. a. J. Microcol. Sep.*, 2000, v. 12, p. 493.
11. Kataoka H., Pawliszyn J. *Chromatographia*, 1999, v. 50, p. 532.
12. Kataoka H. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, v. 373, p. 31.
13. Золотов Ю.А. *Ж. аналит. химии*, 1977, т. 32, с. 2085—2086.
14. Zolotov Yu.A. *The Analyst*, 1978, v. 103, p. 56—67.
15. *Microwave-enhanced chemistry. Fundamentals, sample preparation and applications.* Eds H. M. Kingston, S. J. Haswell. Washington: ACS, 1997, 748 p.
16. Пробоподготовка в микроволновых печах. Теория и практика. Под ред. Г.М. Кингстона, Л.Б. Джесси. М.: Мир, 1991, 334 с.
17. Sparr Eskilsson C., Bjorckklund E. *J. of Chromatography A*, 2000, v. 902, p. 227—250.
18. Ahmed F.E. *Trends in Analyt. Chem.*, 2001, v. 20, p. 649—661.
19. Zhang S., Lu A., Shan X.G., Wang Z., Wang S. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, v. 374, p. 942—947.
20. Ставниченко Е.Б., Кубракова И.В., Шербинина Н.И. и др. *Ж. аналит. химии*, 1995, т. 50, с. 1243—1246.
21. Kubrakova I., Kudinova T., Formanovsky A., Kuz'min N., Tsysin G., Zolotov Yu. *The Analyst*, 1994, v. 119, p. 2477—2480.
22. Dmitrienko S.G., Goncharova L.V., Zhigulev A.V., Nosov R.E., Kuz'min N., Zolotov Yu. *Analyt. Chim. Acta*, 1998, v. 373, p. 131—138.
23. Liu P., Pu Q., Hu Z., Su Z. *The Analyst*, 2000, v. 125, p. 1205—1209.
24. Чмиленко Ф.А., Бакланов А.Н. *Ультразвук в аналитической химии. Теория и практика.* Днепропетровск: Изд. Днепропетр. ун-та, 2001, 264 с.