



УДК 541.183

Групповая система режимов неравновесной хроматографии

Лебедев Ю.Я.

Гос. НИИ ОЧБ Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург

Поступила в редакцию 18.12.2008 г.

Аннотация

Завершена систематизация закономерностей неравновесной проявительной жидкостной хроматографии. Она применима в случае, когда кинетика межфазного массообмена в колонке (по каждому из компонентов) лимитируется внутренней диффузией и линейной изотермой. В основе систематизации лежат представления о различных режимах движения зон компонентов, подлежащих разделению. Зона каждого из компонентов движется в одном из трех режимов (квазиравновесном, неравновесном, переходном), характеризующихся разной степенью межфазной неравновесности в колонке и, как следствие, разными свойствами. Разделение двух компонентов возможно в одном из четырнадцати режимов хроматографии. Конкретный режим хроматографии реализуется в строгих границах значений параметров динамической системы: физико-химических (коэффициентов равновесия и диффузии компонентов) и гидроструктурных (скорости элюции, размеров пористых гранул и колонки). Теоретический анализ всего множества границ позволил выявить существование отдельных групп из режимов хроматографии, последовательности чередования режимов хроматографии в каждой при варьировании параметров системы ("хроматографический код") и систематизировать элементы из режимов, кодов и групп в виде единой "групповой системы режимов хроматографии" (ГСРХ). Обсуждаются следствия, вытекающие из ГСРХ, ее значимость для теории, практики и прогнозирования новых возможностей хроматографии.

Ключевые слова: жидкостная хроматография, квазиравновесный, неравновесный и переходный режимы хроматографии, кинетика массообмена.

The Systematization of laws of inequilibrium elution liquid chromatography is completed. It can be used when the kinetic of the interphase mass changing in the column (for each of the components) is limited by inner diffusion and linear isotherm. This systematization is based on the knowledge about different regimes of the separated component's zones. Each component's zone moves in the three regimes (quasi-equilibrium, inequilibrium and intermediate) having different rate of interphase inequilibrium in the column and consequently different qualities. Separation of the two components is possible in one of the fourteen regimes of chromatography. The certain chromatography regime is realized within the strict limits of the following parameters of the dynamic system physical and chemical (diffusion and equilibrium coefficients) and hydro-structural (the velocity of elution, the sizes of porous granules and the column). Theoretical analysis of all the multitude of the limits revealed the existence of separate groups of chromatography regimes, successions of alternation of chromatography regimes in each of them during continuous variation of the system's parameters ("chromatography code") and made it possible to systematize elements consisting of regimes, codes and groups as a united "group system of chromatography regimes" (GSCR). The consequences following this group system and its significance for theory and practical use of chromatography are discussed as well as the prediction of its new possibilities of chromatography.

Key words: liquid chromatography, quassiequilibrium, inequilibrium and intermediate regimes of chromatography, kinetiks of the mass changing

Введение

Несмотря на более чем 100-летнюю историю метода хроматографии, научные представления о механизме и закономерностях разделения веществ еще полностью

не выяснены. В частности, не завершено решение проблемы межфазной неравновесности в колонке, т.е. проблемы влияния на разделение веществ скорости массообмена между подвижной и неподвижной фазами (скорость может быть высокой и медленной). Казалось бы, что эти вопросы уже решены: межфазная неравновесность в колонке обуславливает снижение эффективности хроматографии (в любом ее варианте) из-за необратимого расширения зон и, следовательно, наличие неравновесности неблагоприятно для хроматографии, что подтверждается всей практикой на примере разделения минеральных и низкомолекулярных органических веществ. Однако, такое традиционное суждение справедливо только для предельно квазиравновесного (установившегося) режима хроматографии, в котором скорость межфазного массообмена компонентов еще достаточно высока. Эксперименты показали (прежде всего, с биологически активными веществами (БАВ)): при невысоких скоростях межфазного массообмена законы движения зон и самой хроматографии существенно отличаются от традиционных. Так, движение зоны в проявительной хроматографии характеризуется необычными особенностями: смещением удерживаемого объема при варьировании скорости элюции [1-3]; асимметричностью [1-3]; парадоксальным увеличением высоты с увеличением скорости элюции [2,4]; неравноценностью альтернативных методов введения пробы на характеристики зоны [5] и др.. Перечисленные особенности ярко проявляются в хроматографических системах с сильным “сорбент–сорбат” взаимодействием (например, в ионообменной колонке [2,4,5]), так и в системах, где взаимодействия нет (эксклюзионный вариант хроматографии [1,3-5]), в этом смысле они универсальны. Экспериментальные данные по неравновесным фронтальным процессам хроматографии, систематизированные в работах [6,7], также отличаются от традиционных: форма выходных кривых оказывается резко асимметричной; насыщение колонки целевым компонентом в процессе сорбции меньше “равновесного насыщения”; выход целевого компонента при десорбции далек от полного. Экспериментально установлено, что “неблагоприятные” (с позиций традиционной теории хроматографии) неравновесные факторы межфазного массообмена могут иногда оказаться конструктивными: например, при хроматографии веществ с близкими молекулярно-равновесными свойствами [8]; в высокоскоростной хроматографии [3,5]. “Неблагоприятными” особенностями неравновесной фронтальной динамики сорбции можно воспользоваться для сохранения биологической активности фракционируемых БАВ. Например, в [9] предложен принципиально новый подход к фракционированию смеси из РНК и ДНК на макропористых ионитах: в его основе - оптимизация скорости движения подвижной фазы, при которой РНК сорбируется в квазиравновесном режиме и удерживается сорбентом, а ДНК – в существенно неравновесном режиме, и, потому, практически “проскакивает” из колонки с сохранением тонкой нативной структуры молекул. Неожиданными оказались и факты о более высоком фронтальном насыщении ионообменной колонки некоторыми компонентами смеси в условиях неравновесного режима, по сравнению с насыщением, достигаемым в условиях равновесия [10]. Новый подход к неравновесной препаративной ионообменной хроматографии низкого давления, основанный на регулировании механизма селективности - равновесного или кинетического, предложен в [11-13].

Обоснование нетрадиционных экспериментальных данных с позиций теории квазиравновесной хроматографии не представляется возможным. В [2-5,8] они (проявительные процессы) обоснованы с позиций теории неравновесной хроматографии для случая, когда кинетика межфазного массообмена лимитируется внутренней диффузией и линейной изотермой. В этом случае физико-химическая

модель хроматографии базируется на известных дифференциальных уравнениях материального баланса и диффузии (в сферических координатах) для каждого компонента [14-16]

$$\alpha \frac{\partial c}{\partial t} + (1-\alpha) \frac{\partial a_R}{\partial t} = -\alpha u \frac{\partial c}{\partial x}, \quad a_R(t) = 3R^{-3} \int_0^R a_r(r,t) r^2 dr; \quad (1)$$

$$\frac{\partial a_r}{\partial t} = \frac{D_a}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} (r^2 \frac{\partial a_r}{\partial r}), \quad \frac{\partial a_r}{\partial r} |_{r=0} = 0, \quad a |_{r=R} = K_d c \quad (2)$$

и на моделировании процесса ввода пробы вещества (в количестве Q) в колонку с помощью дельта-функции Дирака $\delta(t)$ от времени [2] –

$$a_{r|t=0} = 0, \quad c_{|t=0} = 0, \quad c_{|x=0} = \frac{Q}{\alpha u s} \delta(t). \quad (3)$$

Смысл буквенных обозначений в (1)-(3) таков: $c(x,t)$ и $a_r(r,x,t)$, $a_R(x,t)$ – концентрации компонента в подвижной и неподвижной (локальная и средняя по грануле) фазах колонки соответственно; t – время; x – координата длины вдоль колонки ($0 \leq x \leq h$); r – радиальная координата длины, отсчитываемая от центра гранулы ($0 \leq r \leq R$);

$$u(v), R, h, s, \alpha(\beta), K_{d,i}, D_{a,i}, \quad (4)$$

- первичные параметры хроматографической системы, соответственно гидроструктурные ($u, v, R, h, s, \alpha, \beta$) и физико-химические ($K_{d,i}, D_{a,i}$); R – средний радиус сферических гранул; α – порозность; $\beta \equiv \alpha(1 - \alpha)^{-1}$ – фазовое отношение; h, s – высота, площадь сечения колонки (при этом $V_{cb} = \alpha hs$, $V_{cr} = (1 - \alpha)hs$ и $V_k = hs$ – объемы свободной, стационарной и полной частей колонки соответственно); $u(v)$ – линейная (объемная, $v = \alpha u s$) скорость движения подвижной фазы в колонке, иначе, – скорость элюции; $K_{d,i}$ – эффективный коэффициент равновесного распределения компонента i между фазами; $D_{a,i}$ – эффективный коэффициент диффузии компонента i в порах гранулы (характеризует “внутреннюю диффузию” в стационарной фазе).

После извлечения из модели (1)-(3) полной информации о характеристиках зоны и сопоставления этой информации с экспериментальными данными, рассмотренными выше, было выявлено: весь спектр традиционных и нетрадиционных свойств у зоны закономерно группируется по трем режимам ее движения – квазиравновесному (К), неравновесному (Н) и переходному (П), отвечающим разной степени межфазной неравновесности в пределах зоны [17-19]. Каждый из режимов реализуется при строго конкретных значениях гидроструктурных и физико-химических параметров хроматографической системы. Если объединить всю совокупность параметров в одном – обобщенном параметре хроматографической системы (по конкретному компоненту)-

$$\lambda \equiv 3\beta^{-1} K_d D_a x / u R^2 = 3K_d D_a V_{cr} / v R^2; \quad (5)$$

то критерии реализации каждого из режимов движения зоны приобретают вид [18,19]:

$$\lambda \leq 0.22 \text{ (Н-режим)}, \quad \lambda \geq 8 \text{ (К-режим)}, \quad 0.22 < \lambda < 8 \text{ (П-режим)}. \quad (6)$$

Заметим, что в системах с гауссовыми зонами ($\lambda \geq 30$) параметр λ , с точностью до множителя 2.5 ед., приобретает смысл числа эффективных теоретических тарелок N ($N \equiv (\bar{V} - V_{cb})^2 / \bar{w}_v^2$, где \bar{V} и \bar{w}_v – средние характеристики удерживания и ширины зоны в объемных единицах). Подробное исследование закономерностей неравновесного движения зоны позволяет сформулировать следующие выводы [2,4,5,17-19]:

- Становление движущейся в колонке хроматографической зоны до устойчивого гауссового состояния происходит самопроизвольно через неравновесное (Н), переходное (П) и квазиравновесное (К) состояния.

- Закономерности движения хроматографической зоны зависят от режима, в котором она пребывает: они существенно отличаются от традиционных в **Н-режиме** ($\lambda \leq 0.22$) из-за высокой асимметрии зоны, отсутствия равновесной точки в пределах ширины зоны, уменьшения удерживаемого объема при увеличении скорости элюции или размера гранул, парадоксального увеличения высоты зоны с ростом скорости элюции или размера гранул, запаздывания времени удерживания вещества в неподвижной фазе колонки по сравнению со временем удерживания в подвижной фазе, изменчивости свойств движения зоны при альтернативных методах ввода пробы в колонку и др.; незначительно отличаются от традиционных закономерностей в **К-режиме** ($\lambda \geq 8$) из-за еще оставшейся асимметрии зоны и неисчезнувшего влияния скорости элюции (или дисперсности гранул) на удерживаемый объем и др.; очень противоречивы в **П-режиме** ($0.22 < \lambda < 8$), так как при $\lambda < 0.95$ близки к свойствам Н-режима, а при $0.95 < \lambda < 8$ – к свойствам К-режима, при этом качественный скачок свойств зоны имеет место в критической точке $\lambda = 0.95$, проявляющийся в наличии экстремальных особенностей у всех характеристик зоны (максимума, минимума, точки перегиба) при варьировании первичных параметров системы.

- Объем удерживания компонента (V^*) определяется всеми параметрами динамической системы, как физико-химическими (K_d, D_a), так и гидроструктурными (u, R, h). В теории это положение реализовано в виде зависимости относительного приведенного объема удерживания компонента $\frac{V^* - V_{CB}}{K_d V_{CT}}$ от координаты λ [2,4], рис.

1. Сформулированный вывод существенно дополняет основное утверждение классической хроматографии “о зависимости объема удерживания компонента лишь от параметров K_d, h ”. В традиционной хроматографии величина $\frac{V^* - V_{CB}}{K_d V_{CT}} = 1$ (или

$\mathcal{L}^* = \mathcal{L}_R^* = 1$, рис. 1).

Цель работы – систематизация закономерностей неравновесной проявительной жидкостной хроматографии на основе представлений о различных режимах движения зон компонентов, а также обсуждение значимости этой систематизации для теории, практики хроматографии и для прогнозирования новых возможностей хроматографии.

Систематизация закономерностей неравновесной хроматографии

Кроме “индивидуальных” (4),(5) параметров $K_i, D_{a,i}, \lambda_i$, характеризующих свойства конкретного компонента в заданной системе, введем в обращение “парные” параметры $v_k, v_D, \lambda_{1,2}, R_{1,2}, m_{K,D}$, характеризующие свойства пары компонентов “1” и “2” в хроматографической системе. Новые параметры наделим следующим смыслом [20-21]:

$v_k \equiv K_{d,2}/K_{d,1}, \quad v_D \equiv D_{a,2}/D_{a,1}; \quad \lambda_{1,2} \equiv (\lambda_1 \lambda_2)^{1/2} = 3\kappa^{-1} (K_{d,1} K_{d,2} D_{a,1} D_{a,2})^{1/2},$ (7)
где $\kappa \equiv \beta u R^2 / h = v R^2 / V_{CT}$ – гидроструктурный параметр с размерностью “см²/сек”;

$$m_{K,D} \equiv \left| \frac{v_D - 1}{v_k - 1} \right|, \quad R_{1,2} \equiv \frac{t_{2}^* - t_{1}^*}{w_{t_2}^- + w_{t_1}^+} \equiv \frac{V_2^* - V_1^*}{w_{v,2}^- + w_{v,1}^+},$$
 (8)

где t^* (V^*) – время (объем) удерживания компонента; w_t^- , w_t^+ и w_v^- , w_v^+ – соответственно неодинаковые части ширины зоны (на высоте c_{\max}/e) в единицах времени (или объема) слева и справа от координаты t^* (или V^*) на хроматограмме [3,8];

Параметры v_K и v_D – равновесный и кинетический коэффициенты различимости компонентов – имеют смысл термодинамического различия пары компонентов по молекулярно-равновесным и молекулярно-кинетическим свойствам. При $v_K = 1$ и $v_D = 1$ компоненты неразличимы по молекулярным свойствам и, следовательно, хроматография их невозможна. Коэффициенты могут быть определены экспериментально, например, в статических условиях эксперимента, либо рассчитаны теоретически [21].

Параметр $\lambda_{1,2}$ – безразмерная обобщенная координата длины динамической системы из двух компонентов – представляет собой, согласно (7), среднее геометрическое из индивидуальных координат λ_1 и λ_2 . В традиционных системах ($\lambda_1 \geq 30$) аналогом $\lambda_{1,2}$ можно считать среднее геометрическое число эффективных теоретических тарелок:

$$N_{1,2} = (N_1 N_2)^{1/2} = (\bar{V}_1 - V_{CB})(\bar{V}_2 - V_{CB}) / \bar{w}_{V,1} \bar{w}_{V,2} = 2.5 \lambda_{1,2} = 7.5 \kappa^{-1} (K_{d,1} K_{d,2} D_{a,1} D_{a,2})^{1/2}.$$

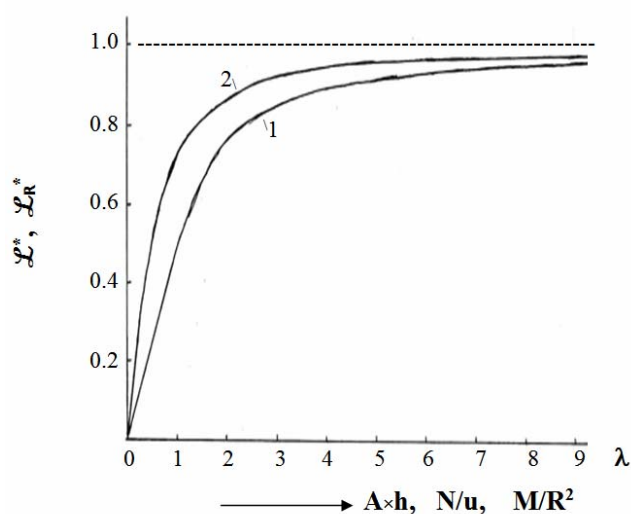


Рис.1. Влияние скорости элюции (u), размера гранул (R) и длины колонки (h) на удерживание компонента.

1. $\mathcal{L}^* = \frac{V^* - V_{CB}}{K_d V_{CT}}$ – относительный приведенный объем удерживания компонента, соответствующий концентрации c_{\max} зоны в подвижной фазе. 2. $\mathcal{L}_R^* = \frac{V_R - V_{CB}}{K_d V_{CT}}$ – относительный приведенный объем удерживания компонента, соответствующий концентрации $a_{R,\max}$ зоны в неподвижной фазе.

$A \equiv 3K_d D_a / \beta u R^2 = \text{const}$ (при варьировании h и сохранении неизменными параметров β , K_d , D_a , u , R). $N \equiv 3K_d D_a h / \beta R^2 = \text{const}$ (при варьировании u и сохранении неизменными параметров β , K_d , D_a , h , R). $M \equiv 3K_d D_a h / \beta u = \text{const}$ (при варьировании R и сохранении неизменными параметров β , K_d , D_a , u , h .)

Параметр $m_{K,D}$ – фактор механизма селективности. По его величине можно распознать механизм селективности хроматографической системы – “равновесный” или “кинетический”. В случае $m_{K,D} = 1$ вклады равновесного и кинетического

механизмов разделения равноценны, так как $v_D = v_K$; в случае $m_{K,D} < 1$ превалирует равновесный механизм ($v_K > v_D$) и только при $m_{K,D} \rightarrow 0$ механизм полностью равновесный (так как $v_D \rightarrow 1$, $v_K \neq 1$); в случае же $m_{K,D} > 1$ кинетический механизм превалирует над равновесным ($v_D > v_K$) и только при $m_{K,D} \rightarrow \infty$ механизм полностью кинетический ($v_K \rightarrow 1$, $v_D \neq 1$). Параметр $R_{1,2}$ – разрешение пиков на хроматограмме – характеризует с количественной стороны разрешающую способность хроматографической системы (PCXC); в случае симметричных зон ($w_i^- = w_i^+$) выражение для $R_{1,2}$ трансформируется в традиционное. К парным можно отнести и номенклатурный параметр $\alpha_{1,2}$ – фактор разделения [22]: $\alpha_{1,2} \equiv (V_2^* - V_{CB}) / (V_1^* - V_{CB})$; по его величине можно судить о селективности хроматографической системы (CXC): $1 \leq \alpha_{1,2} \leq \infty$, т.е. система неселективна при $\alpha_{1,2} = 1$ ($V_2^* = V_1^*$) и наиболее селективна при $\alpha \rightarrow \infty$ ($V_2^* \gg V_1^*$ или $V_1^* \rightarrow V_{CB}$). В традиционной теории хроматографии решение проблемы эффективности при учете только внутридиффузионного механизма массообмена вполне конкретно:

$$\alpha_{1,2}^{\text{трад}} = \frac{K_{d,2}}{K_{d,1}} = v_K, \quad R_{1,2}^{\text{трад}} = \frac{1.9(K_{d,2} - K_{d,1})}{k[\sqrt{K_{d,1}/D_{a,1}} + \sqrt{K_{d,2}/D_{a,2}}]} = \frac{1.118(v_K - 1)}{(1 + \sqrt{v_K/v_D})} \sqrt{\lambda_1}, \quad (9)$$

т.е. хроматографическая система селективна ($\alpha_{1,2} > 1$) с разрешающей способностью “ $R_{1,2} > 0$ ” при различии $K_{d,i}$ разделяемых компонентов и неселективна при близости их по величине; вариация же параметров u , R , h сказывается только на $R_{1,2}$: PCXC улучшается при переходе к длинным колонкам, малым скоростям элюции и малым гранулам. Каких либо других решений проблемы эффективности теория не предсказывает.

Неравновесная же теория хроматографии предсказывает множество неожиданных решений проблемы эффективности. Действительно, универсальные кривые эффективности (рис. 2), рассчитанные на основе уравнений (1)-(3), дают многообразие кривых нетрадиционного вида [23-27]. Из кривых 1, 2, 4, 5, 5', 6 (рис.2а) следует: CXC определяется как физико-химическими ($K_{d,i}$, $D_{a,i}$), так и гидроструктурными (u , R , h) параметрами, при этом отклонение кривых от традиционной зависимости (традиционной зависимостью (9) характеризуется кривая 3) тем значительнее, чем больше скорость элюции, размер гранул и меньше длина колонки; существенно, что в зависимости от величин физико-химических параметров CXC может ухудшаться (кривые 1,2) с увеличением u , R , h^{-1} , улучшаться (кривые 4,5,5'), либо характеризоваться обеими тенденциями в некотором интервале u , R , h (кривая 6). Из кривых 4,5,5',6 (рис. 2б) следует: в системах с кинетическим механизмом селективности PCXC характеризуется с увеличением u , R , h^{-1} не монотонным спадом (как в традиционных системах с гауссовыми зонами), а экстремальными свойствами: резким увеличением $R_{1,2}$ в некотором интервале u , R , h . Подчеркнем также, что неравновесная модель (1)-(3) прогнозирует возможность разделения веществ с близкими коэффициентами $K_{d,i}$ (кривые 5').

Чтобы определить границы физико-химических и гидроструктурных параметров, в которых реализуется конкретная закономерность хроматографии (из всего многообразия, приведенного на рис. 2), и для того, чтобы упорядочить все многообразие закономерностей, была предпринята систематизация закономерностей хроматографии [20,21,23-27]. Систематизация осуществлена на основе оправдавших себя представлений о режимах движения зоны (К-, Н-, П-режимы) и перенесении этих представлений на движение в колонке нескольких зон одновременно (двух, трех и т.д. – по числу разделяемых компонентов), т.е. – на режимы самой хроматографии. В данном сообщении обсуждается окончательный вариант систематизации.

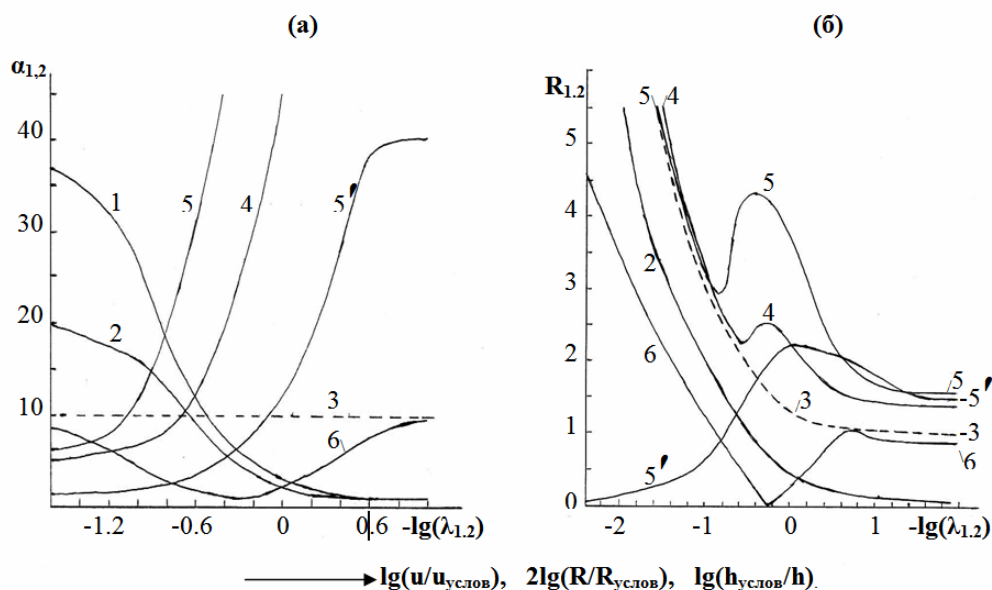


Рис. 2. Влияние скорости элюции (u), размера гранул (R) и длины колонки (h) на селективность ($\alpha_{1,2}$) и разрешающую способность ($R_{1,2}$) хроматографической системы при различных физико-химических ($K_{d,i}$, $D_{a,i}$) параметрах компонентов.

Физико-химические параметры v_K , v_D , $m_{K,D}$:

(а) 1- 40, 6.25×10^{-4} , 0.026; 2- 20, 25×10^{-4} , 0.053; 3- 10, 0.1, 0.1; 4- 5, 5, 1; 5- 5, 30, 7.25; 5'- 1, 40, ∞ ; 6- 10, 0.001, 0.11 (до точки инверсии) или 0.1, 100, 1110 (после точки инверсии). (б) 2- 3.74, 0.138, 0.314; 3- 10, 0.1, 0.1; 4- 5, 5, 1; 5- 5, 30, 7.25; 5'- 1, 100, ∞ ; 6- 10, 0.001, 0.11 (до точки инверсии) или 0.1, 100, 1110 (после точки инверсии).

$-\lg(\lambda_{1,2}) = \lg(u/u_{\text{услов}})$, где $u_{\text{услов}} = (3h/\beta R^2) \sqrt{K_{d,1}K_{d,2}D_{a,1}D_{a,2}} = \text{const}$ (при фиксированных параметрах β , h , R , $K_{d,i}$, $D_{a,i}$); $-\lg(\lambda_{1,2}) = 2\lg(R/R_{\text{услов}})$, где $R_{\text{услов}}^2 = (3h/\beta u) \sqrt{K_{d,1}K_{d,2}D_{a,1}D_{a,2}} = \text{const}$ (при фиксированных параметрах β , h , u , $K_{d,i}$, $D_{a,i}$); $-\lg(\lambda_{1,2}) = \lg(h_{\text{услов}}/h)$, где $h_{\text{услов}} = (\beta u R^2)/3 \sqrt{K_{d,1}K_{d,2}D_{a,1}D_{a,2}} = \text{const}$; (при фиксированных параметрах β , u , R , $K_{d,i}$, $D_{a,i}$).

Ранее показано [22], что между числом “ n ” теоретически возможных типов режимов хроматографии и числом “ k ” разделяемых компонентов имеет место простое соотношение: $n = 3^k$. Например, для одного компонента ($k = 1$) возможны три типа режимов – К, П, Н; для двух компонентов ($k = 2$) возможны девять типов режимов –

$$\text{К-К, К-П, К-Н, П-К, П-П, П-Н, Н-К, Н-П, Н-Н}; \quad (10)$$

для трех компонентов ($k = 3$) возможны двадцать семь типов режимов – К-К-К, К-П-К, К-К-П, П-К-К (полностью приведены в [22]) и т.д.. Заметим, что в традиционной хроматографии с гауссовыми зонами изучались только режимы вида К, К-К, К-К-К. На примере режима, классифицированного как П-К, поясним: под П-К режимом хроматографии (или под П-К хроматограммой) подразумеваем такой режим, в котором компонент ‘1’ (раньше выходящий из колонки) движется в П-режиме, а компонент ‘2’ (позже выходящий из колонки) движется в К-режиме. Единообразие в присвоении индексов (‘1’ или ‘2’ или ‘3’) достигнуто с помощью “правила индексации компонентов” [21]. Математической формулировкой “правила

индексации компонентов” является любая из следующих последовательностей неравенств:

$$V_1^* < V_2^* < V_3^* < \dots < V_k^* \quad \text{или} \quad t_1^* < t_2^* < t_3^* < \dots < t_k^*, \quad (11)$$

где, как и раньше, V_i^* (t_i^*) – удерживаемый объем (время) компонента “i”, соответствующий концентрации $c_{i,\text{макс}}$ на хроматограмме.

Рассматриваемая ситуация (10) с количеством режимов двухкомпонентной хроматографии усложняется в связи с существованием “инверсионных хроматографических систем”. Поясним, о чем идет речь. Поскольку, как подчеркивалось выше, удерживаемые объемы каждого из компонентов “1” и “2” зависят от гидроструктурных условий эксперимента (т.е. от u , R , h) неодинаково, то при варьировании последних возможно обращение порядка элюирования компонентов (инверсия пиков компонентов на хроматограмме). Такое обращение порядка элюирования компонентов обнаружено и экспериментально [11-13,28]. Динамические системы, физико-химические параметры которых допускают такое обращение, будем называть “инверсионными хроматографическими системами” (ИХС), в отличие от “простых хроматографических систем” (ПХС), в которых обращение невозможно. В ИХС, в отличие от ПХС, кроме перечисленных режимов (10) реализуются дополнительные режимы (пять режимов) в точках инверсии [23-27]; в последних удерживаемые объемы двух компонентов одинаковы. Режимы хроматографии в точках инверсии будем символически обозначать как $\begin{matrix} \text{к} & \text{к} & \text{п} & \text{к} \\ |, & |, & |, & |, \\ \text{к} & \text{п} & \text{п} & \text{н} \end{matrix}$, поскольку в точках инверсии нумерация компонентов на 1-ый и 2-ой по правилу индексации (11) бессмысленна. Таким образом, двухкомпонентная хроматография допускает реализацию любого из четырнадцати теоретически возможных режимов.

Таблица 1. Групповая система критериев реализации подгрупп по физико-химическим параметрам

Группы	Критерии реализации групп по физико-химическим параметрам	Критерии реализации подгрупп в символах физико-химических параметров до точки инверсии ($\kappa < \kappa_{\text{инв}}$)	
I	$v_k > 36.36$ $v_k v_D \leq 0.0275$ $v_k^2 v_D > 1$	(подгрупп нет)	К-К $\kappa \leq 0.375 K_{d,2} D_2$ $\lambda_{1,2} \geq \frac{8}{\sqrt{v_k v_D}}$
II	$v_k > 1$ $0.0275 < v_k v_D < 1$ $v_k^2 v_D > 1$	(подгрупп нет)	К-К $\kappa \leq 0.375 K_{d,2} D_2$ $\lambda_{1,2} \geq \frac{8}{\sqrt{v_k v_D}}$
III	$v_k > 1$ $v_k v_D = 1$	(подгрупп нет)	К-К $\kappa \leq 0.375 K_{d,1} D_1$ $\lambda_{1,2} \geq 8$
IV	$v_k \geq 1$ $1 < v_k v_D < 36.36$	(подгрупп нет)	К-К $\kappa \leq 0.375 K_{d,1} D_1$ $\lambda_{1,2} \geq 8 \sqrt{v_k v_D}$

V	$v_K \geq 1$ $v_K v_D \geq 36.36$	(подгрупп нет)	K-K $\kappa \leq 0.375K_{d,1}D_1$ $\lambda_{1,2} \geq 8\sqrt{v_K v_D}$
IУ	$(\kappa < \kappa_{инв})$ $v_K > 1$ $v_K v_D \leq 0.0275$ $v_K^2 v_D < 1$	$1 < v_K \leq 1.06$	K*-K $\kappa < \kappa_{инв}$ $\lambda_{1,2} > \lambda_{1,2}^{инв}$
		$1.06 < v_K < 9.09(1 - 2.1v_K v_D)$	K-K $\kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $\lambda_{1,2} \geq (8/\sqrt{v_K v_D})$
		$9.09(1 - 2.1v_K v_D) \leq v_K \leq \frac{0.942}{4v_K v_D}$	K-K $\kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $\lambda_{1,2} \geq (8/\sqrt{v_K v_D})$
		$\frac{0.942}{4v_K v_D} < v_K \leq \frac{1}{v_K v_D}$	K-K $\kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $\lambda_{1,2} \geq (8/\sqrt{v_K v_D})$
IIУ	$(\kappa < \kappa_{инв})$ $v_K > 1$ $0.0275 < v_K v_D < 1$ $v_K^2 v_D < 1$	$1 < v_K \leq 1.06(1 - 0.058v_K v_D)$	K*-K $\kappa < \kappa_{инв}$ $\lambda_{1,2} > \lambda_{1,2}^{инв}$
		$1.06(1 - 0.058v_K v_D) < v_K \leq [0.942/\mathcal{L}^*(8v_K v_D)]$	K-K $\kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $\lambda_{1,2} \geq (8/\sqrt{v_K v_D})$
		$[0.942/\mathcal{L}^*(8v_K v_D)] < v_K < [9.09\mathcal{L}^*(0.22/v_K v_D)]$	K-K $\kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $\lambda_{1,2} \geq (8/\sqrt{v_K v_D})$
		$[9.09\mathcal{L}^*(0.22/v_K v_D)] < v_K \leq (1/v_K v_D)$	K-K $\kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $\lambda_{1,2} \geq (8/\sqrt{v_K v_D})$

Конкретный тип режима хроматографии реализуется в строгих границах значений физико-химических (v_K , v_D) и гидроструктурных (u , R , h или в общей форме - κ) параметров. Для каждого режима эти границы найдены из решения системы неравенств (6) по координатам λ_1 , λ_2 и условия существования инверсионной точки в виде $v_K^{инв} = \mathcal{L}^*(\lambda_1)/\mathcal{L}^*(\lambda_2)$. При этом подразумевается, что в каждом конкретном режиме хроматографии гидроструктурные параметры u , R , h (или κ), входящие в координаты λ_1 , λ_2 , имеют одно и тоже значение. Теоретический анализ всего множества границ позволил выявить: существование отдельных групп для режимов хроматографирования; последовательность чередования режимов хроматографии в каждой группе при непрерывном варьировании κ , $\lambda_{1,2}$

(“хроматографический код”). Это позволило представить единую “групповую систему режимов хроматографии” (ГСРХ) (табл. 1-3.).

Таблица 2. Групповая система режимов хроматографии

Режимы хроматографии			
Критерии реализации режимов хроматографии			
К-П $0.375K_{d,2}D_2 < \kappa < 13.6K_{d,2}D_2$ $\frac{0.22}{\sqrt{v_k v_D}} < \lambda_{1,2} < \frac{8}{\sqrt{v_k v_D}}$	К-Н $13.6K_{d,2}D_2 \leq \kappa \leq 0.375K_{d,1}D_1$ $8\sqrt{v_k v_D} \leq \lambda_{1,2} \leq \frac{0.22}{\sqrt{v_k v_D}}$	П-Н $0.375K_{d,1}D_1 < \kappa < 13.6K_{d,1}D_1$ $0.22\sqrt{v_k v_D} < \lambda_{1,2} < 8\sqrt{v_k v_D}$	
К-П $0.375K_{d,2}D_2 < \kappa \leq 0.375K_{d,1}D_1$ $8\sqrt{v_k v_D} \leq \lambda_{1,2} < \frac{8}{\sqrt{v_k v_D}}$	П-П $0.375K_{d,1}D_1 < \kappa < 13.6K_{d,2}D_2$ $\frac{0.22}{\sqrt{v_k v_D}} < \lambda_{1,2} < 8\sqrt{v_k v_D}$	П-Н $13.6K_{d,2}D_2 \leq \kappa < 13.6K_{d,1}D_1$ $0.22\sqrt{v_k v_D} < \lambda_{1,2} \leq \frac{0.22}{\sqrt{v_k v_D}}$	
		П-П $0.375K_{d,i}D_i < \kappa < 13.6K_{d,i}D_i$ $0.22 < \lambda_{1,2} < 8$	
		П-К $0.375K_{d,1}D_1 < \kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $\frac{8}{\sqrt{v_k v_D}} \leq \lambda_{1,2} < 8\sqrt{v_k v_D}$	П-П $0.375K_{d,2}D_2 < \kappa < 13.6K_{d,1}D_1$ $0.22\sqrt{v_k v_D} < \lambda_{1,2} < \frac{8}{\sqrt{v_k v_D}}$
		П-К $0.375K_{d,1}D_1 < \kappa < 13.6K_{d,1}D_1$ $0.22\sqrt{v_k v_D} < \lambda_{1,2} < 8\sqrt{v_k v_D}$	Н-К $13.6K_{d,1}D_1 \leq \kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $\frac{8}{\sqrt{v_k v_D}} \leq \lambda_{1,2} \leq 0.22\sqrt{v_k v_D}$
κ $\kappa = \kappa_{\text{ИНВ}}, \lambda_{1,2} = \lambda_{1,2}^{\text{ИНВ}}$	К-К* $\kappa_{\text{ИНВ}} < \kappa \leq 0.375K_{d,1}D_1$ $8\sqrt{v_k v_D} \leq \lambda_{1,2} < \lambda_{1,2}^{\text{ИНВ}}$	П-К $0.375K_{d,1}D_1 < \kappa < 13.6K_{d,1}D_1$ $0.22\sqrt{v_k v_D} < \lambda_{1,2} < 8\sqrt{v_k v_D}$	Н-К $13.6K_{d,1}D_1 \leq \kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $(8/\sqrt{v_k v_D}) \leq \lambda_{1,2} \leq (0.22\sqrt{v_k v_D})$
К-П $0.375K_{d,2}D_2 < \kappa < \kappa_{\text{ИНВ}}$ $\lambda_{1,2}^{\text{ИНВ}} < \lambda_{1,2} < (8/\sqrt{v_k v_D})$	κ $\kappa = \kappa_{\text{ИНВ}}, \lambda_{1,2} = \lambda_{1,2}^{\text{ИНВ}}$	П-К $\kappa_{\text{ИНВ}} < \kappa < 13.6K_{d,1}D_1$ $(0.22\sqrt{v_k v_D}) < \lambda_{1,2} < \lambda_{1,2}^{\text{ИНВ}}$	Н-К $13.6K_{d,1}D_1 \leq \kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $(8/\sqrt{v_k v_D}) \leq \lambda_{1,2} \leq (0.22\sqrt{v_k v_D})$
К-П $0.375K_{d,2}D_2 < \kappa < 13.6K_{d,2}D_2$ $(0.22/\sqrt{v_k v_D}) < \lambda_{1,2} < (8/\sqrt{v_k v_D})$	К-Н $13.6K_{d,2}D_2 \leq \kappa < \kappa_{\text{ИНВ}}$ $\lambda_{1,2}^{\text{ИНВ}} < \lambda_{1,2} \leq (0.22/\sqrt{v_k v_D})$	κ $\kappa = \kappa_{\text{ИНВ}}, \lambda_{1,2} = \lambda_{1,2}^{\text{ИНВ}}$	Н-К $\kappa_{\text{ИНВ}} < \kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $(8/\sqrt{v_k v_D}) \leq \lambda_{1,2} < \lambda_{1,2}^{\text{ИНВ}}$
К-П $0.375K_{d,2}D_2 < \kappa < 13.6K_{d,2}D_2$ $(0.22/\sqrt{v_k v_D}) < \lambda_{1,2} < (8/\sqrt{v_k v_D})$	К-Н $13.6K_{d,2}D_2 \leq \kappa \leq 0.375K_{d,1}D_1$ $(8\sqrt{v_k v_D}) \leq \lambda_{1,2} \leq (0.22/\sqrt{v_k v_D})$	П-Н $0.375K_{d,1}D_1 < \kappa < \kappa_{\text{ИНВ}}$ $\lambda_{1,2}^{\text{ИНВ}} < \lambda_{1,2} < (8\sqrt{v_k v_D})$	κ $\kappa = \kappa_{\text{ИНВ}}, \lambda_{1,2} = \lambda_{1,2}^{\text{ИНВ}}$

κ $\kappa = \kappa_{\text{инв}}, \lambda_{1,2} = \lambda_{1,2}^{\text{инв}}$	κ - κ^* $\kappa_{\text{инв}} < \kappa \leq 0.375K_{d,1}D_1$ $8\sqrt{v_K v_D} \leq \lambda_{1,2} < \lambda_{1,2}^{\text{инв}}$	Π - κ $0.375K_{d,1}D_1 < \kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $(8/\sqrt{v_K v_D}) \leq \lambda_{1,2} < 8\sqrt{v_K v_D}$	Π - Π $0.375K_{d,2}D_2 < \kappa < 13.6K_{d,1}D_1$ $(0.22\sqrt{v_K v_D}) < \lambda_{1,2} < (8/\sqrt{v_K v_D})$
κ - Π $0.375K_{d,2}D_2 < \kappa < \kappa_{\text{инв}}$ $\lambda_{1,2}^{\text{инв}} < \lambda_{1,2} < (8/\sqrt{v_K v_D})$	κ Π $\kappa = \kappa_{\text{инв}}, \lambda_{1,2} = \lambda_{1,2}^{\text{инв}}$	Π - κ $\kappa_{\text{инв}} < \kappa \leq 0.375K_{d,2}D_2$ $(8/\sqrt{v_K v_D}) \leq \lambda_{1,2} < \lambda_{1,2}^{\text{инв}}$	Π - Π $0.375K_{d,2}D_2 < \kappa < 13.6K_{d,1}D_1$ $(0.22\sqrt{v_K v_D}) < \lambda_{1,2} < (8/\sqrt{v_K v_D})$
κ - Π $0.375K_{d,2}D_2 < \kappa \leq 0.375K_{d,1}D_1$ $(8\sqrt{v_K v_D}) \leq \lambda_{1,2} < (8/\sqrt{v_K v_D})$	Π^* - Π $0.375K_{d,1}D_1 < \kappa < \kappa_{\text{инв}}$ $\lambda_{1,2}^{\text{инв}} < \lambda_{1,2} < (8\sqrt{v_K v_D})$	Π Π $\kappa = \kappa_{\text{инв}}, \lambda_{1,2} = \lambda_{1,2}^{\text{инв}}$	Π - Π^* $\kappa_{\text{инв}} < \kappa < 13.6K_{d,1}D_1$ $(0.22\sqrt{v_K v_D}) < \lambda_{1,2} < \lambda_{1,2}^{\text{инв}}$
κ - Π $0.375K_{d,2}D_2 < \kappa \leq 0.375K_{d,1}D_1$ $(8\sqrt{v_K v_D}) \leq \lambda_{1,2} < (8/\sqrt{v_K v_D})$	Π - Π $0.375K_{d,1}D_1 < \kappa < 13.6K_{d,2}D_2$ $(0.22/\sqrt{v_K v_D}) < \lambda_{1,2} < (8\sqrt{v_K v_D})$	Π - Π $13.6K_{d,2}D_2 \leq \kappa < \kappa_{\text{инв}}$ $\lambda_{1,2}^{\text{инв}} < \lambda_{1,2} \leq (0.22/\sqrt{v_K v_D})$	Π Π $\kappa = \kappa_{\text{инв}}, \lambda_{1,2} = \lambda_{1,2}^{\text{инв}}$

Таблица 3. Критерии реализации подгрупп в символах физико-химических параметров

	Критерии реализации подгрупп в символах физико-химических параметров после точки инверсии ($\kappa > \kappa_{\text{инв}}$)	Критерии реализации групп по физико-химическим параметрам
	Π - Π $\kappa \geq 13.6K_{d,1}D_1$ $\lambda_{1,2} \leq 0.22\sqrt{v_K v_D}$	$v_K > 36.36$ $v_K v_D \leq 0.0275$ $v_K^2 v_D > 1$
	Π - Π $\kappa \geq 13.6K_{d,1}D_1$ $\lambda_{1,2} \leq 0.22\sqrt{v_K v_D}$	$v_K > 1$ $0.0275 < v_K v_D < 1$ $v_K^2 v_D > 1$
	Π - Π $\kappa \geq 13.6K_{d,i}D_i$ $\lambda_{1,2} \leq 0.22$	$v_K > 1$ $v_K v_D = 1$
Π - Π $13.6K_{d,1}D_1 \leq \kappa < 13.6K_{d,2}D_2$ $\frac{0.22}{\sqrt{v_K v_D}} < \lambda_{1,2} \leq 0.22\sqrt{v_K v_D}$	Π - Π $\kappa \geq 13.6K_{d,2}D_2$ $\lambda_{1,2} \leq \frac{0.22}{\sqrt{v_K v_D}}$	$v_K \geq 1$ $1 < v_K v_D < 36.36$
Π - Π $0.375K_{d,2}D_2 < \kappa < 13.6K_{d,2}D_2$ $\frac{0.22}{\sqrt{v_K v_D}} < \lambda_{1,2} < \frac{8}{\sqrt{v_K v_D}}$	Π - Π $\kappa \geq 13.6K_{d,2}D_2$ $\lambda_{1,2} \leq \frac{0.22}{\sqrt{v_K v_D}}$	$v_K \geq 1$ $v_K v_D \geq 36.36$

$\begin{aligned} & \text{H-П} \\ & 0.375K_{d,2}D_2 < \kappa < \\ & 13.6K_{d,2}D_2 \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) < \lambda_{1,2} < \\ & (8/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$\begin{aligned} & \text{H-H} \\ & \kappa \geq 13.6K_{d,2}D_2 \\ & \lambda_{1,2} \leq \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$0.94 \leq v_K < 1$	$\begin{aligned} & (\kappa > \kappa_{\text{инв}}) \\ & v_K < 1 \\ & v_K v_D \geq 36.36 \\ & v_K^2 v_D > 1 \end{aligned}$
$\begin{aligned} & \text{H-П} \\ & 0.375K_{d,2}D_2 < \kappa < \\ & 13.6K_{d,2}D_2 \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) < \lambda_{1,2} < \\ & (8/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$\begin{aligned} & \text{H-H} \\ & \kappa \geq 13.6K_{d,2}D_2 \\ & \lambda_{1,2} \leq \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$0.11(1 + \frac{2.1}{v_K v_D}) < v_K < 0.94$	
$\begin{aligned} & \text{H-П} \\ & 0.375K_{d,2}D_2 < \kappa < \\ & 13.6K_{d,2}D_2 \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) < \lambda_{1,2} < \\ & (8/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$\begin{aligned} & \text{H-H} \\ & \kappa \geq 13.6K_{d,2}D_2 \\ & \lambda_{1,2} \leq \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$\begin{aligned} & (\frac{4}{0.942v_K v_D}) \leq v_K \leq 0.11(1 + \\ & \frac{2.1}{v_K v_D}) \end{aligned}$	
$\begin{aligned} & \text{H-П}^* \\ & \kappa_{\text{инв}} < \kappa < 13.6K_{d,2}D_2 \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) < \lambda_{1,2} < \\ & \lambda_{1,2}^{\text{инв}} \end{aligned}$	$\begin{aligned} & \text{H-H} \\ & \kappa \geq 13.6K_{d,2}D_2 \\ & \lambda_{1,2} \leq \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$(\frac{1}{v_K v_D}) \leq v_K < (\frac{4}{0.942v_K v_D})$	
$\begin{aligned} & \text{H-П} \\ & 13.6K_{d,1}D_1 \leq \kappa < \\ & 13.6K_{d,2}D_2 \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) < \lambda_{1,2} \leq \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$\begin{aligned} & \text{H-H} \\ & \kappa \geq 13.6K_{d,2}D_2 \\ & \lambda_{1,2} \leq \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$0.942(1 + \frac{0.058}{v_K v_D}) \leq v_K < 1$	$\begin{aligned} & (\kappa > \kappa_{\text{инв}}) \\ & v_K < 1 \\ & 1 < v_K v_D < 36.36 \\ & v_K^2 v_D > 1 \end{aligned}$
$\begin{aligned} & \text{H-П} \\ & 13.6K_{d,1}D_1 \leq \kappa < \\ & 13.6K_{d,2}D_2 \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) < \lambda_{1,2} \leq \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$\begin{aligned} & \text{H-H} \\ & \kappa \geq 13.6K_{d,2}D_2 \\ & \lambda_{1,2} \leq \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$1.06\mathcal{L}^*(\frac{8}{v_K v_D}) \leq v_K < 0.942[1 + \frac{0.058}{v_K v_D}]$	
$\begin{aligned} & \text{H-П} \\ & 13.6K_{d,1}D_1 \leq \kappa < \\ & 13.6K_{d,2}D_2 \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) < \lambda_{1,2} \leq \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$\begin{aligned} & \text{H-H} \\ & \kappa \geq 13.6K_{d,2}D_2 \\ & \lambda_{1,2} \leq \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$\begin{aligned} & [0.11/\mathcal{L}^*(0.22v_K v_D)] < v_K < \\ & 1.06\mathcal{L}^*(\frac{8}{v_K v_D}) \end{aligned}$	
$\begin{aligned} & \text{H-П} \\ & \kappa_{\text{инв}} < \kappa < 13.6K_{d,2}D_2 \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) < \lambda_{1,2} < \\ & \lambda_{1,2}^{\text{инв}} \end{aligned}$	$\begin{aligned} & \text{H-H} \\ & \kappa \geq 13.6K_{d,2}D_2 \\ & \lambda_{1,2} \leq \\ & (0.22/\sqrt{v_K v_D}) \end{aligned}$	$\begin{aligned} & (\frac{1}{v_K v_D}) \leq v_K < \\ & [0.11/\mathcal{L}^*(0.22v_K v_D)] \end{aligned}$	

Обсуждение результатов

Перечислим наиболее значимые следствия, вытекающие из ГСРХ (таблица).

1) ГСРХ прогнозирует существование четырнадцати нетрадиционных режимов хроматографии – К-К, К-П, К-Н, П-К, П-П, П-Н, Н-К, Н-П, Н-Н, $\begin{matrix} \text{К} & \text{К} \\ |, & |, \\ \text{К} & \text{П} \end{matrix}$,

$\begin{matrix} \text{П} & \text{К} & \text{П} \\ |, & |, & | \\ \text{П} & \text{Н} & \text{Н} \end{matrix}$.

2) ГСРХ прогнозирует существование пяти групп (I ÷ V) из “простых хроматографических систем” и двух больших групп (зашифрованных символами I∪V и II∪V) из “инверсионных хроматографических систем”. Каждая группа I∪V и II∪V разбивается на четыре подгруппы; хроматографические системы каждой подгруппы¹ различаются точкой инверсии и хроматографическим кодом.

3) ГСРХ прогнозирует существование строго предопределенной последовательности чередования режимов хроматографии (иначе, “хроматографического кода”) при непрерывном варьировании гидроструктурных параметров. Код состоит из трех ре-жимов в системах группы III; из пяти режимов в системах групп I, II, IV, V; из семи режимов в системах групп I∪V, II∪V; при этом в инверсионных системах до точки инверсии ($\kappa < \kappa_{\text{инв}}$) режимы и критерии реализации по гидроструктурным параметрам повторяют режимы и критерии реализации в простых системах групп I и II, а после точки инверсии ($\kappa > \kappa_{\text{инв}}$) – в простых системах групп IV и V.

4) Согласно ГСРХ, двухкомпонентная хроматографии возможна в восьмидесяти девяти различных вариантах, с принципиально отличающимися условиями реализации по физико-химическим и гидроструктурным параметрам.

5) ГСРХ позволяет определить границы физико-химических и гидроструктурных параметров, в которых возможна реализация любого варианта хроматографии и конкретного хроматографического кода. Например, пусть хроматографическая система с именованными компонентами А и В характеризуется следующими параметрами: $K_{d,A} = 1.5$, $D_{a,A} = 10^{-7} \text{см}^2/\text{с}$, $K_{d,B} = 15$, $D_{a,B} = 10^{-10} \text{см}^2/\text{с}$. Тогда $K_{d,1} = 1.5$, $D_{a,1} = 10^{-7} \text{см}^2/\text{с}$, $K_{d,2} = 15$, $D_{a,2} = 10^{-10} \text{см}^2/\text{с}$, $v_k = 10$, $v_D = 10^{-3}$, $v_k v_D = 0.01$, $v_k^2 v_D = 0.1$ – при $\kappa < \kappa_{\text{инв}}$ или $k_{d,1} = 15$, $D_{a,1} = 10^{-10} \text{см}^2/\text{с}$, $k_{d,2} = 1.5$, $D_{a,2} = 10^{-7} \text{см}^2/\text{с}$, $v_k = 0.1$, $v_D = 10^3$,

Подчеркнем, что критерии реализации подгрупп II∪V в символах физико-химических параметров (таблица) состоят не из самих аргументов “ $v_k v_D$ ”, а из функции \mathcal{L}^* от этих аргументов. Для расчета численных значений \mathcal{L}^* в таблице следует воспользоваться графиком на рис. 1 (кривая 1), либо готовыми асимптотическими формулами этой функции [2,4]:

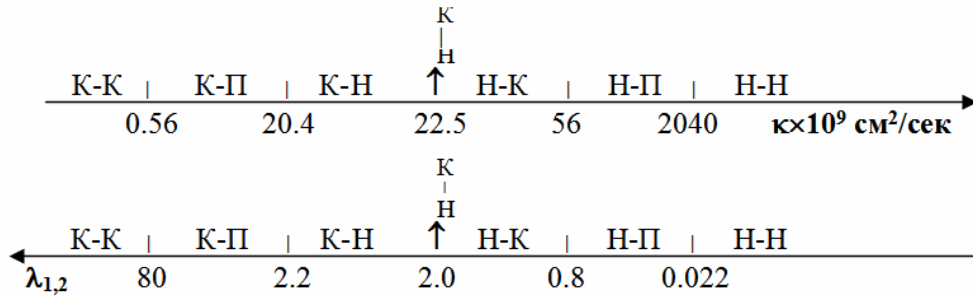
$$\mathcal{L}^*(8v_k v_D) = \begin{cases} 4v_k v_D, & (0.0275 < v_k v_D < 0.1187) \\ 0.7 + 0.3\sqrt{1 - 0.1875/v_k v_D} - 0.0285/v_k v_D, & (0.375 < v_k v_D < 1) \end{cases};$$

$$\mathcal{L}^*\left(\frac{0.22}{v_k v_D}\right) = \begin{cases} 0.7 + 0.3\sqrt{1 - 6.818v_k v_D} - 1.036v_k v_D, & (0.0275 < v_k v_D < 0.0733) \\ 0.11/v_k v_D, & (0.2315 < v_k v_D < 1) \end{cases};$$

$$\mathcal{L}^*\left(\frac{8}{v_k v_D}\right) = \begin{cases} 0.7 + 0.3\sqrt{1 - 0.1875v_k v_D} - 0.0285v_k v_D, & (1 < v_k v_D < 2.67) \\ 4/v_k v_D, & (8.42 < v_k v_D < 36.36) \end{cases};$$

$$\mathcal{L}^*(0.22v_k v_D) = \begin{cases} 0.11v_k v_D, & (1 < v_k v_D < 4.318) \\ 0.7 + 0.3\sqrt{1 - 6.818/v_k v_D} - 1.036/v_k v_D, & (13.64 < v_k v_D < 36.36) \end{cases}.$$

$v_k v_D = 100$, $v_k^2 v_D = 10$ – при $\kappa \geq \kappa_{\text{инв}}$; следовательно, согласно ГСРХ, система относится к I∪V группе с точкой инверсии $\frac{\kappa}{H}$; расчеты на основе неравенств таблицы и формул для точек инверсии [23-25,27] приводят к следующей схеме (масштаб условный) –



6) ГСРХ указывает способы воспроизведения в эксперименте хроматографического кода любой группы (в том числе подгруппы) – в серии экспериментов путем варьирования скорости u , радиуса гранул R , длины колонки h , или же в одном эксперименте на длинной колонке при последовательном прохождении зонами (из разделяемых компонентов) различных отрезков колонки. Так, в случае системы, представленной в пункте 5 и на схеме, при $R = 50$ мкм, $u = 10$ мл/мин, $V_{CT} = uR^2/\kappa = (4.16 \times 10^{-6}/\kappa)$ см³ конкретные режимы хроматографии будут реализоваться в различных участках колонки: Н-Н режим - на отрезке колонки $0 < V_{CT} < 2.04$ см³; Н-Π – на отрезке 2.04 см³ $< V_{CT} < 74.3$ см³; Н-К – на отрезке 74.3 см³ $< V_{CT} < 185$ см³; точка инверсии, т.е. состояние $\begin{matrix} K \\ | \\ H \end{matrix}$ - в точке колонки с координатой “ $V_{CT} = 185$ см³”; К-Н – на отрезке 185 см³ $< V_{CT} < 2040$ см³; К-Π – на отрезке 2040 см³ $< V_{CT} < 7440$ см³; наконец, К-К – на отрезке, превышающем 7440 см³.

7) ГСРХ предсказывает группы из хроматографических систем, в которых возможно разделение веществ с близкими коэффициентами $K_{d,i}$ ($v_k = 1$): - в системах, относящихся к IV и V группам, т.е. в нетрадиционных режимах хроматографии Π-К, Π-Π, Н-К, Н-Π, Н-Н. В этом случае компонент, раньше выходящий из колонки, всегда движется в более неравновесном режиме. Механизм такого разделения – чисто кинетический, $m_{K,D} \rightarrow \infty$ (в силу различия молекулярно диффузионных свойств веществ). На хроматограммах с близкими $K_{d,i}$ последовательность пиков из индивидуальных компонентов характеризуется возрастанием коэффициентов диффузии –

$$D_{a,1} < D_{a,2} < D_{a,3} < \dots \text{ (или } v_D > 1 \text{ для любой пары компонентов)}$$

8) ГСРХ определяет область распространения главного принципа хроматографии – “зоны разделяемых веществ выходят из колонки в порядке увеличения их сорбируемости” (М.С. Цвет, 1910г) [29-31]. Действительно, возрастание коэффициентов $K_{d,i}$ в последовательности пиков из индивидуальных компонентов на хроматограмме (“возрастающие хроматограммы”) –

$$K_{d,1} < K_{d,2} < K_{d,3} \text{ (или } v_K > 1 \text{ для любой пары компонентов)}$$

может распространяться не на все хроматограммы, а только на те, которые реализуются в системах групп I ÷ V и частично (до точки инверсии, $\kappa < \kappa_{инв}$) – в хроматографических системах групп I∪V и II∪IV. При этом уже в системах групп IV и V принцип М.С. Цвета не распространяется на вещества с близкими коэффициентами $K_{d,i}$ ($v_K=1$).

9) ГСРХ предсказывает возможность реализации в эксперименте хроматограмм нового типа – “убывающих хроматограмм”, на которых пики из индивидуальных компонентов располагаются в порядке убывания коэффициентов $K_{d,i}$ –

$$K_{d,1} > K_{d,2} > K_{d,3} \dots \text{ (или } v_K < 1 \text{ для любой пары компонентов)}$$

Убывающие хроматограммы, как следует из ГСРХ, характерны только для систем с инверсионными свойствами (группы I \cup V и II \cup IV) за точкой инверсии ($\kappa > \kappa_{\text{инв}}$). Общее свойство таких хроматограмм - превалирование неравновесных свойств движения у компонента, выходящего из колонки первым, что наглядно отражается в записи П-К, Н-К, Н-П и подразумевается в записи К-К, П-П, Н-Н. Учитывая, что коэффициенты различимости v_k и v_D компонентов в инверсионных системах при $\kappa > \kappa_{\text{инв}}$ разнотипны относительно единицы ($v_k < 1$, $v_D > 1$ - следует из ГСРХ), можно легко отбирать системы, в которых возможна реализация убывающих хроматограмм. Противоположная тенденция разнотипности коэффициентов ($v_k > 1$, $v_D < 1$) характерна для возрастающих хроматограмм в инверсионных системах I \cup V и II \cup IV до точки инверсии ($\kappa < \kappa_{\text{инв}}$). Из неравенств $v_D > 1$ следует: чередование компонентов на убывающих хроматограммах контролируется правилом –

$$D_{a,1} < D_{a,2} < D_{a,3} < \dots \text{ (или } v_D > 1 \text{ для любой пары компонентов),}$$

которое справедливо и для компонентов с близкими $K_{d,i}$; т.е. коэффициенты диффузии компонентов на хроматограмме образуют последовательность чисел возрастающего типа. В хроматографических системах групп I \cup V и II \cup IV с гидроструктурными параметрами $\kappa > \kappa_{\text{инв}}$ ($\lambda_{1,2} < \lambda_{1,2}^{\text{инв}}$) кинетический механизм селективности всегда превалирует над равновесным ($m_{K,D} > 1$).

10) Из ГСРХ следует, что в хроматографических системах с инверсионными свойствами, классифицированных как I \cup V и II \cup IV группы, возможно разделение компонентов с традиционным порядком чередования зон на хроматограмме (возрастающие хроматограммы) и с нетрадиционным – обращенным порядком чередования зон (убывающие хроматограммы), но невозможно разделение в точках инверсии систем.

Таким образом, при заданных физико-химических параметрах $K_{d,i}$, $D_{a,i}$ системы, ГСРХ позволяет предсказать группу, к которой принадлежит хроматографическая система; подгруппу с конкретной точкой инверсии; последовательность режимов хроматографии, которую проходит система при непрерывном варьировании гидроструктурных параметров; критерии реализации гидроструктурных параметров для любого режима хроматографии, относящегося к конкретной группе; некоторые общие свойства хроматограмм и механизма их реализации (кинетического или равновесного).

Если фракционированию подлежит система из трех и более компонентов, то прогноз режимов, вариантов и свойств хроматографии на основе ГСРХ возможен для каждой пары компонентов; перебирая все пары, можно восстановить и всю картину хроматографии исследуемой смеси. Например, в работе [21] воспроизведены режимы хроматографии каждой пары компонентов из трех, задействованных в эксперименте. Тем самым, воспроизведены хроматографические коды для каждой пары компонентов и для всех трех компонентов в целом.

Для полного суждения о возможностях разделения в динамических системах, относящихся к той или иной группе, необходимо привлечь количественные данные по эффективности неравновесной хроматографии. Сам факт - множественности неожиданных решений проблемы эффективности неравновесной проявительной хроматографии (рис. 2) – становится вполне понятным: множественность решений обусловлена многообразием хроматографических систем, классифицирующихся по группам с различными физико-химическими параметрами. Наиболее полная информация об особенностях разделения веществ в системах каждой группы прослеживается по универсальным кривым эффективности (рис. 2): кривым селективности в координатах “ $(\alpha_{1,2}) \div (-\lg \lambda_{1,2})$ ” и кривым разрешения пиков - “ $(R_{1,2})$ ”

÷ $(-\lg\lambda_{1,2})$ ". Универсальность кривых обеспечивается широким интервалом варьирования координаты $\lambda_{1,2}$ (в пределах $10^{-1.5} \div 10^{2.2}$), охватывающим все режимы хроматографии от К-К до Н-Н включительно, и общностью самой координаты, так как согласно (5),(7) -

$$\begin{aligned} -\lg\lambda_{1,2} &= -0.5(\lg\lambda_1 + \lg\lambda_2) = -\lg[3(K_{d,1}K_{d,2}D_{a,1}D_{a,2})^{1/2}] + \lg k = \text{const} + \lg k, \text{ при } K_{d,i}, \\ &D_{a,i} = \text{const}; \\ -\lg\lambda_{1,2} &= -\lg[3(K_{d,1}K_{d,2}D_{a,1}D_{a,2})^{1/2}h/\beta R^2] + \lg u = \text{const} + \lg u, \text{ при } K_{d,i}, D_{a,i}, R, h = \\ &\text{const}; \\ -\lg\lambda_{1,2} &= -\lg[3(K_{d,1}K_{d,2}D_{a,1}D_{a,2})^{1/2}h/\beta u] + 2\lg R = \text{const} + 2\lg R, \text{ при } K_{d,i}, D_{a,i}, h, u \\ &= \text{const}; \\ -\lg\lambda_{1,2} &= -\lg[3(K_{d,1}K_{d,2}D_{a,1}D_{a,2})^{1/2}/\beta u R^2] - \lg h = \text{const} - \lg h, \text{ при } K_{d,i}, D_{a,i}, u, R \\ &= \text{const}. \end{aligned}$$

Приведенные на рисунке кривые, представляют собой типичные универсальные кривые эффективности неравновесной проявительной хроматографии, характерные для систем из разных групп: группы I (кривая 1), группы II (кривые 2), группы III (кривые 3), группы IV (кривые 4), группы V (кривые 5 и 5'), группы IУ (кривые 6). Особенности кривых ранее обсуждались [23-27]. Здесь подчеркнем только некоторые.

Эффективность неравновесной хроматография в системах группы III (рис. 2) характеризуется наиболее простыми свойствами, похожими на традиционные (9): СХС не зависит от гидроструктурных параметров u, R, h в любом из К-К, П-П, Н-Н режимов, и определяется в любом режиме только равновесным коэффициентом различимости v_k , (т.е. $\alpha_{1,2} = v_k$). РСХС монотонно падает с увеличением u, R, h^{-1} в К-К, П-П ре-жимам (по закону, близкому к (9)) и сохраняется постоянной в Н-Н режиме (в отсутствие перегрузки колонки по объему пробы). В системах III равновесный механизм селективности превалирует над кинетическим - в любом из К-К, П-П, Н-Н режимов. Перечисленные теоретические особенности систем III согласуются с экспериментальными данными [21]: на примере ионообменной хроматографии антибиотиков ТЦ и ХТЦ, поскольку система "ТЦ, ХТЦ – катионит – элюент" по физико-химическим параметрам близка к группе III, так как $v_k v_D = 1.98 \times 0.49 = 0.97 \approx 1$, $m_{k,D} = 0.52$.

Селективность и разрешающая способность хроматографических систем I и II (рис. 2) монотонно снижаются при переводе процесса из К-К режима в любой промежуточный и далее в Н-Н режим путем увеличения параметров u, R, h^{-1} (или k); т.е. селективные и разрешающие особенности ярче выражены на длинных колонках при малых скоростях элюции и мелких гранулах; поэтому выход за пределы К-К режима не желателен. В системах I и в большинстве (точнее при $v_k \geq 1.63$) систем II равновесный механизм селективности всегда превалирует над кинетическим и только в системах группы II с близкими $K_{d,i}$ (точнее при $1 < v_k < 1.63$) возможны различные механизмы селективности. Прогноз теории о монотонном спаде $\alpha_{1,2}$ и $R_{1,2}$ с ростом k в хроматографических системах группы II находится в согласии с экспериментом [21,27].

Хроматографические системы групп IV, V характеризуются различными механизмами селективности: - полностью кинетическим ($v_k=1$, $m_{k,D} \rightarrow \infty$, кривые 5' на рис. 2); - с превалированием кинетического над равновесным ($m_{k,D} > 1$, кривые 5); - с равноценным вкладом кинетического и равновесного механизмов ($m_{k,D} = 1$, кривые 4); - с превалированием равновесного механизма над кинетическим ($m_{k,D} < 1$). Селективность хроматографических систем IV и V (рис. 2) монотонно повышается при переводе хроматографии из К-К режима в любой промежуточный и

далее в Н-Н режим путем увеличения параметров u , R , h^{-1} (или κ). Селективность ярче выражена на коротких колонках при высокой скорости элюции и крупных гранулах. Примеры экспериментальных хроматограмм [3,8,27], адекватных системам IV группы, непосредственно иллюстрируют эти особенности. Поскольку системы IV и V характеризуются различными механизмами селективности, то и особенности РСХС многообразны при переводе процесса из К-К режима в промежуточные и далее в Н-Н режим путем увеличения u , R , h (или κ): монотонным ухудшением свойств [26] – в системах с ослабленным кинетическим механизмом селективности ($m_{k,D} < 1$); улучшением свойств разрешения пиков – в системах с близкими $K_{d,1}$ (кривая 5'), т.е. в системах с полностью кинетическим механизмом селективности ($m_{k,D} \rightarrow \infty$); экстремальным поведением в промежуточных “смешанных” режимах (кривые 4,5) – в системах с ослабленным равновесным механизмом селективности ($m_{k,D} > 1$). Прогнозируемые теорией, возможности по улучшению характеристик разделения с увеличением скорости элюции в системах группы IV подтверждены на примерах эксклюзионной хроматографии [3,8].

Необычность систем групп I∪V и II∪IV проявляется в том, что при варьировании параметров u , R , h (в общем случае κ) наблюдается инверсия свойств и, как правило, механизма селективности $m_{k,D}$ (кривые 6 на рис. 2). На кривых эффективности это проявляется в наличии минимума в точке инверсии, что означает невозможность какого-либо разделения в системах с параметрами “ $\kappa = \kappa_{инв}$ ” ($\lambda_{1,2} = \lambda_{1,2}^{инв}$). Сами точки инверсии могут находиться в границах К-К, К-П, П-П, К-Н (кривые 6) и П-Н режимов.

В системах с параметрами $\kappa < \kappa_{инв}$, ($\lambda_{1,2} > \lambda_{1,2}^{инв}$) равновесный механизм селективности, как правило, превалирует над кинетическим ($m_{k,D} < 1$, кривые 6 на рис.) и только в случае близких $K_{d,1}$ (точнее при $1 < v_k < 2$) возможны другие механизмы селективности; в этих системах реализуются возрастающие хроматограммы ($v_k > 1$), причем неравновесное движение ярче выражено у компонента 2, позже выходящего из колонки. Ход кривых эффективности “ $\alpha_{1,2}$, $R_{1,2}$,” монотонно снижается с увеличением κ .

В системах с параметрами $\kappa > \kappa_{инв}$, ($\lambda_{1,2} < \lambda_{1,2}^{инв}$) кинетический механизм селективности всегда превалирует над равновесным ($m_{k,D} > 1$, кривые 6 на рис.); хроматограммы относятся к “убывающему” типу ($v_k < 1$). Ход кривых $\alpha_{1,2}$ с увеличением параметра κ является монотонно возрастающим, а ход кривых $R_{1,2}$, - экстремальным (в виде “выбросов”). Величина максимума на кривых “ $R_{1,2}$ ”, при $\kappa = \kappa_{эктр}$ увеличивается по мере усиления кинетического механизма селективности. В Н-К и Н-П режимах максимальная величина $R_{1,2}^{макс.}$ в “выбросе” реализуется при условии -

$$\kappa_{эктр.} \approx 7K_{d,1}D_{a,1}(v_D/v_K)^{1/3} \quad \lambda_{1,2}^{эктр.} \approx 0.429v_k^{5/6}v_D^{1/6} \quad (12)$$

и может быть рассчитана по формуле

$$R_{1,2}^{макс.} = 0.49v_k^{2/3}v_D^{1/3} - 0.1 \approx 0.49(v_k^2v_D)^{1/3}. \quad (13)$$

Соотношения (12)-(13) имеют принципиальное значение при оптимизации условий фракционирования веществ. Существенно, что при реализации оптимальных условий можно воспользоваться простыми соотношениями, вытекающими из (12):

$$v_{эктр} \approx 7K_{d,1}D_{a,1}V_{CT}R^{-2}(v_D/v_K)^{1/3}; \\ R_{эктр} \approx 2.65(K_{d,1}D_{a,1}V_{CT}/v)^{1/2}(v_D/v_K)^{1/6}; \quad V_{CT}^{эктр} \approx 0.14vR^2(K_{d,1}D_{a,1})^{-1}(v_K/v_D)^{1/3}.$$

Эффект обращения порядка элюирования компонентов впервые экспериментально воспроизведен на примере фронтального процесса сорбции БАВ [28]. Более детально эффект исследовался на примере другой системы [13] из карбоксильного катионита и компонентов пчелиного яда – полипептида меллитина (МТ) и фосфолипазы А₂ (ФЛП): $K_{d,MT} = 112$, $K_{d,ФЛА} = 142$, $D_{a,MT} = 3.6 \times 10^{-7}$ см²/с, $D_{a,ФЛА} = 3.9 \times 10^{-9}$ см²/с. Согласно развитой здесь теории, рассматриваемая система характеризуется следующими параметрами: $v_k = 1.27$, $v_D = 0.011$, $r_{K,D} = 0.014$, $v_k^2 v_D = 0.018$, $m_{K,D} = 37$ или $v_k = 0.78$, $v_D = 90.9$, $r_{K,D} = 71$, $v_k^2 v_D = 55$, $m_{K,D} = 409$, т.е. система инверсионная, адекватная группе $I \cup V$ с точкой инверсии в $\frac{\kappa}{\pi}$ состоянии (следует из ГСРХ), а потому с увеличением скорости элюции эффективность хроматографии сначала падает (при $v < v_{инв}$), а потом растет (при $v > v_{инв}$), что и подтверждается экспериментом [13] на примере характеристики “ $\Delta V_{1,2} \equiv V_2^* - V_1^*$ ”, при этом расчетные [25] и экспериментальные [13] значения точек инверсии близки; механизм селективности до- и после точки инверсии преимущественно кинетический. Эти же авторы экспериментально подтвердили экстремальное поведение функции $\Delta V_{1,2}$ за точкой инверсии системы ($\kappa > \kappa_{инв}$) на примере разделения антибиотиков эритромицина и адриамицина в колонке с катионитом КБ-4П2 [11,13].

Поскольку инверсионные системы характеризуются разнотипностью коэффициентов различимости относительно единицы ($v_k > 1$, $v_D < 1$ при $\kappa < \kappa_{инв}$; $v_k < 1$, $v_D > 1$ при $\kappa > \kappa_{инв}$), то их реализация возможна, прежде всего, в системах с сильным взаимодействием “сорбент – сорбат”, т.е. в адсорбционной, ионообменной, лигандной и других видах хроматографии и невозможна в эксклюзионной хроматографии, вследствие однотипности коэффициентов v_k и v_D (в последней $v_k \geq 1$, $v_D \geq 1$). Эти выводы подтверждаются всеми экспериментами, в которых воспроизведены эффекты инверсии.

Таким образом, закономерности, механизм и эффективность хроматографии определяются группой, к которой относятся параметры разделяемых компонентов в рассматриваемой динамической системе, и режимом, в котором реализуется процесс.

Заключение

Из работы следует, что классические представления о влиянии межфазной неравновесности в колонке на хроматографию веществ отвечают реальности только в предельном случае – высокой скорости массообмена. В этом случае все зоны движутся в установившемся режиме. Характерные признаки предельного (установившегося) режима хроматографии таковы: форма любой зоны описывается кривой Гаусса; они располагаются на хроматограмме в порядке увеличения коэффициентов равновесного межфазного массораспределения K_d (“возрастающие хроматограммы”, открытые М.С. Цветом), а расстояние между центрами инерции зон определяется лишь длиной колонки и разницей коэффициентов $K_{d,i}$ (на хроматограмме в координатах “ $c_i - V_i$ ”). Такой предельный режим реализуется наиболее полно в высокоэффективной хроматографии.

Полное представление о влиянии межфазной неравновесности на хроматографию, пригодное как для высокой, так и невысокой скоростей межфазного массообмена, дается общей теорией неравновесной хроматографии. Главный ее

вывод: кроме предельного (установившегося) режима движения зоны возможны и другие – К-, П-, Н-режимы с разной степенью отклонения вещества зоны от состояния межфазного равновесия в колонке. В отличие от традиционного (установившегося) режима движение зоны в К-, П-, Н-режимах характеризуется асимметричной кривой; все концентрационные точки зоны смещены на хроматограмме относительно “гауссовых” точек; удерживаемый объем и расстояние между зонами определяется всеми параметрами динамической системы – физико-химическими ($K_{d,i}$, $D_{a,i}$) и гидроструктурными (u , R , h).

Новый спектр закономерностей хроматографии расширяет и углубляет наши научные представления о колоночных элюционных процессах разделения веществ. На их основе по-новому решается проблема оптимизации процесса фракционирования медленно диффундирующих веществ, в том числе веществ с близкими молекулярно-равновесными свойствами (путем реализации эффективных режимов хроматографии), и проблема адекватного прогнозирования конечных результатов разделения (с помощью групповой системы режимов хроматографии) и, тем самым, сокращается отставание науки о хроматографии веществ от бурного прогресса метода хроматографии в решении практических задач химии, биологии, фармации, медицины и др..

Список литературы

1. Yau M.M., Suehan H.L., Malone C.P. Flow-rate dependence of gel permeation chromatography. // J. Polymer Sci. 1968. A-2. № 7. P. 1349-1355.
2. Лебедев Ю.Я., Самсонов Г.В. Элютивная неравновесная хроматография органических веществ с учетом их диффузии в зернах сорбента // Коллоидн. журн. 1975. Т. 37. № 6. С 1109-1115.
3. Лебедев Ю.Я. Влияние скорости элюции в ситовой хроматографии на разделение веществ с близкими по величине коэффициентами межфазного распределения. // Журн. физич. химии. 1988. Т. 62. № 9. С. 2387-2391.
4. Лебедев Ю.Я. Экстремальная зависимость характеристик движения зоны от параметров хроматографической системы. // Там же. 1991. Т. 65. № 10. С. 2607-2613.
5. Лебедев Ю.Я. Хроматография медленно диффундирующих веществ в неравновесном режиме. // Автореф. канд. дис. М. 1997. 20 с.
6. Шатаева Л.К., Кузнецова Н.Н., Елькин Г.Э. Карбоксильные катиониты в биологии. Л.: Наука. 1979. 286 с.
7. Самсонов Г.В., Меленевский А.Т. Сорбционные и хроматографические методы физико-химической биотехнологии. Л.: Наука. 1986. 229 с.
8. Коликов В.М., Мчедlishvili Б.В., Лебедев Ю.Я., Красильников И.В. Разделение биополимеров методом жидкостной ситовой хроматографии в условиях неравновесного режима. // Коллоид. журн.. 1977. Т. 39. Вып. 3. С. 562-567.
9. Клюквин А.Н. Сорбционное взаимодействие нуклеиновых кислот с анионитами и фракционирование дрожжевого автолизата в гидролизном производстве. // Автореф. канд. дис. Л. 1982. 19 с.
10. Суханов М.Л. Сорбция аденина и многокомпонентных смесей ионитами в процессе комплексной переработки дрожжей. // Автореф. кан. дис. Л. 1990. 16с.
11. Писарев О.А., Кручина-Богданов И.В., Глазова Н.В., Быченкова О.В. Кинетическое регулирование селективности сорбции в жидкостной хроматографии низкого давления. // ДАН. 1998. Т. 362. № 3. С. 365-367.

12. Писарев О.А., Кручина-Богданов И.В., Глазова Н.В. Эффект кинетической селективности сорбции и инверсии выхода хроматографических зон. // Журн. физич. химии. 1999. Т. 73. № 3. С. 526-529.
13. Писарев О.А., Кручина-Богданов И.В., Глазова Н.В., Быченкова О.В. Хроматографические разделения БАВ в кинетически селективных режимах динамики сорбции. // Там же. 1999. Т. 73. № 9. С. 1634-1637.
14. Rosen J.V. Kinetics of a fixed bed system for solid diffusion into spherical particles. // J. Chem. Physics. 1952. V. 20. P. 387-394.
15. Мясников И.А., Гольберт К.А. Внутридиффузионная динамика сорбции в линейной области // Журн. физич. химии. 1953. Т. 27. № 9. С. 1311-1324.
16. Бреслер С.Е., Уфлянд Я.С. К теории неравновесной хроматографии // Журн. техн. физики. 1953. Т. 23. № 8. С. 1443-1451.
17. Лебедев Ю. Анализ отклонения межфазного массораспределения от равновесия для хроматографической зоны. // Журн. физич. химии. 1993. Т. 67. № 4. С. 765-768.
18. Лебедев Ю.Я. Критерии реализации режимов движения хроматографической зоны для случая внутридиффузионной кинетики межфазного массообмена. // Там же. 1993. Т. 67. № 9. С. 1915-1917.
19. Лебедев Ю.Я. Режимы движения хроматографической зоны для случая внутридиффузионной кинетики межфазного массообмена. // Там же. 1994. Т. 68. № 10. С. 1733.
20. Лебедев Ю.Я. Теория хроматографии медленно диффундирующих веществ. Система режимов и критериев двухкомпонентной хроматографии. // Там же. 1995. Т. 69. № 4. С. 757-780.
21. Лебедев Ю.Я. Теория хроматографии медленно диффундирующих веществ. Типы режимов. // Там же. 1995. Т. 69. № 6. С. 1080-1084.
22. Хроматография. Основные понятия. Терминология. / Под ред. В.А. Даванкова. М.: Сборники научно-нормативной терминологии. 1997. Вып. 114. 48 с.
23. Лебедев Ю.Я. Теория хроматографии медленно диффундирующих веществ. Обращение порядка элюирования компонентов. // Журн. физич. химии. 1997. Т. 71. № 6. С. 1124-1128.
24. Лебедев Ю.Я. Теория хроматографии медленно диффундирующих веществ. Хроматограммы убывающего типа. // Там же. 1997. Т. 71. № 10. С. 1877-1881.
25. Лебедев Ю.Я. Хроматограммы убывающего типа. // Сб. статей Всероссийского симпозиума по теории и практике хроматографии и электрофореза, посвященного 95-летию открытия хроматографии М.С. Цветом. Самара: Самарский ун-т. 1999. С. 94-108.
26. Лебедев Ю.Я. Эффективность неравновесной хроматографии. // Сб. трудов IX Межд. конф. по теоретич. вопросам адсорбции и адсорбционной хроматографии (к 100-летию со дня рождения акад. М.М. Дубинина): Современное состояние и перспективы развития теории адсорбции. М.: Наука. 2001. С. 311-315.
27. Лебедев Ю.Я. Развитие теории хроматографии медленно диффундирующих веществ. // Журн. физич. химии. 2002. Т. 76. № 1. С. 109-115.
28. Elkin G.E., Glazova N.V. Inversion of component exit order in frontal chromatography of biopolymers // 10-th Bratislava International Conference on Macromolecules "Chromatography of polymers and related substances". Abstracts of papers. Bratislava. 18-22 September 1995. P. 76-77.
29. Цвет М.С. Хроматографический адсорбционный анализ. Избранные труды. М.: АН СССР. 1946. 273 с.

-
30. Сенченкова Е.М. Рождение идеи и метода адсорбционной хроматографии. М.: Наука. 1991. 229 с
31. Сенченкова Е.М. М.С. Цвет создатель хроматографии. М.: Янус-К. 1997. 440 с.
-

Лебедев Юрий Яковлевич – д.х.н., ведущий научный сотрудник, Гос. НИИ ОЧБ Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, тел. (812) 552-19-50

Lebedev Yuriy Ya. – Doctor of chemical sciences, The leading scientific employee, Gos. Scientific research institute OCHB of Federal medical and biologic agency of Russia, e-mail: Leb-chrom@mail.ru