



УДК 541.065:543.544

Низкотемпературное разделение и концентрирование в условиях образования гетерогенных систем (обзор)

Рудаков О.Б.¹, Селеменев В.Ф.², Рудакова Л.В.³¹ ФГБОУ ВО «Воронежский государственный технический университет», Воронеж² ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж³ ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», Воронеж

Поступила в редакцию 20.06.2019 г.

DOI: <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2019.19/780>

В обзоре рассмотрены современные подходы, используемые в методах разделения и концентрирования биологически активных соединений в условиях образования гетерогенных систем при низких температурах. Обсуждены факторы, позволяющие повысить эффективность низкотемпературной жидкостно-жидкостной экстракции, криоконцентрирования, экстракционного вымораживания. Рассмотрены возможные механизмы физико-химических сепарационных процессов, реализуемых в условиях низких температур.

Ключевые слова: физико-химическая сепарация, криоконцентрирование, экстракционное вымораживание, низкотемпературная жидкостно-жидкостная экстракция, субамбиентная жидкостная хроматография

Low-temperature separation and concentration in the conditions of the formation of heterogeneous systems (Review)

Rudakov O.B.¹, Selemenev V.F.², Rudakova L.V.³¹Voronezh State Technical University, Voronezh²Voronezh State University, Voronezh³Voronezh State Medical University, Voronezh

The review considers modern approaches used in the methods of separation and concentration of biologically active compounds under conditions of formation of heterogeneous systems at low temperatures. The factors that improve the efficiency of low-temperature liquid-liquid extraction, cryoconcentration, and extraction freezing are discussed. The scope and capabilities of subambient HPLC are shown. The possible mechanisms of physical and chemical separation processes that are implemented in low temperatures are considered.

In the pharmaceutical and food industries, cryoconcentration of substances from aqueous (organic-water) solutions has received the greatest development from cryometods. The solutions are cooled until ice is formed from water and aqueous (aqueous-organic) solution. The concentration of solutes is observed in the liquid phase. The ice is separated from the liquid phase by centrifugation. The effectiveness of cryoconcentration is increased by repeatedly repeating the freezing of already concentrated solutions, due to the use of shaking and increasing the freezing rate.

With the introduction of a hydrophilic organic solvent into a cooled heterogeneous ice-liquid system (for example acetonitrile) a concentration option, called extraction freezing or liquid-liquid extraction with

partition at low temperature, is implemented. This method turned out to be convenient in the sample preparation of a number of analytes in the analysis by the method of reversed-phase HPLC.

When the temperature drops to $-10 \div -20^\circ\text{C}$, the mixture of acetonitrile and water quickly forms a heterogeneous system with two liquid phases, without a phase of ice. The organic lipophilic components are concentrated in a phase enriched in acetonitrile in this case. Low-temperature liquid-liquid extraction using acetonitrile and its mixtures with other organic solvents is also applicable to sample preparation in the HPLC method. Subambient HPLC is most effective in the separation of *cis-trans*-isomers, tautomers, thermolabile substances. The review examines in detail the manifestations of heterogeneity at the nano-, micro- and macro-levels observed in the process of cooling water-organic mixtures. The conditions for the spinodal decomposition of the liquid phase adjacent to the crystallization front are discussed. The analogies in the mechanism of the redistribution of analytes in the conditions of extraction freezing and hydrophilic liquid chromatography are carried out.

Keywords: physico-chemical separation, cryoconcentration, extraction freezing, low-temperature liquid-liquid extraction, subambient liquid chromatography.

Введение

Низкотемпературное разделение и концентрирование различных соединений в условиях образования гетерогенных систем широко используется как в лабораторной практике, так и в промышленной пищевой и фармацевтической технологии.

Принципиально возможна реализация всех известных методов разделения при низких температурах. Некоторые из них обладают целым комплексом преимуществ и активно применяются, другие остаются экзотикой, пока не представляющей прикладного интереса. Цель данного краткого обзора – рассмотреть современное состояние криометодов.

В обзоре не обсуждена техника замораживания. В настоящее время она развивается по трем основным направлениям: отвод теплоты, выделяемой при кипении воды в вакууме ниже точки ее замерзания; впрыскивание легкокипящего хладагента или жидкости с низкой температурой замерзания в замораживаемую матрицу; и передача теплоты от жидкой среды к хладагенту через твердую стенку. Во всех случаях эффективность процесса замораживания зависит от оптимально подобранных параметров проведения процесса кристаллизации воды.

При охлаждении водно-органических растворов веществ возможна реализация самых различных вариантов. Так, при уменьшении взаимной растворимости воды и органического растворителя при понижении температуры происходит образование гетерогенной системы жидкость – жидкость, без образования фазы льда. Растворенные компоненты в зависимости от их гидрофобно-гидрофильного баланса (ГГБ) будут перераспределяться между фазами, концентрируясь в одной из них [1-6]. Этот вариант применяется в жидкостно-жидкостной экстракции (ЖЖЭ), в обычном и микроисполнении (микро-ЖЖЭ), дисперсионной микро-ЖЖЭ. Для повышения эффективности экстракционного разделения дополнительным фактором являются высаливание и высахаривание [17-19].

При охлаждении водного или водно-органического раствора возможно образование гетерогенной системы жидкость – лед, тогда растворенные вещества будут концентрироваться в растворе и/или сорбироваться на поверхности льда [7-16]. Этот вариант является типичным для криоконцентрирования и экстракционного вымораживания [17-22]. Для повышения эффективности этого способа концентрирования применяют центрифугирование.

При замораживании возможна ситуация, когда образуется тройная гетерогенная система жидкость – жидкость – лед. Вместо льда в охлажденную систему можно вводить твердый сорбент (криосорбция, низкотемпературная твердофазная экстракция). Криосорбционные методы применяют, например, при удалении плазмы из кро-

ви [29]. Водку марки «Хаски» очищают от примесей фильтрацией при пониженной температуре.

Если придать динамический характер экстракционно-сорбционным процессам, т.е. жидкую фазу сделать подвижной относительно твердой фазы, становится возможным реализовать низкотемпературную хроматографию (криохроматографию). Термин *криохроматография* был впервые предложен в работах Хендерсона Р.Ф. [23,24], однако ни термин, ни способ криохроматографического выделения фосфолипидов, описанный в тезисах Хендерсона Р.Ф. не прижился и не нашел широкого применения. Однофамилец этого автора (Хендерсон Д.Е.) предложил термин *низкотемпературная высокоэффективная жидкостная хроматография* (low temperature high-performance liquid chromatography) [25-28]. Высокоэффективная жидкостная хроматография при температуре около точки замерзания элюента оказалась потенциально полезным инструментом для изучения широкого спектра биологически активных веществ, с ее помощью изучалась динамика *цис-транс*-изомеризации. Она полезна, очевидно, при изучении таутомерных, например, кетонольных превращений β -дикарбонильных соединений [39]. Хроматография при низких температурах предлагает удобный метод измерения относительных концентраций изомеров и, таким образом, расчета констант равновесия для такой изомеризации в различных растворителях, при варьировании рН и температуры. Можно выделить чистые фракции *цис*- и *транс*-изомеров или таутомеров и использовать их в кинетических исследованиях изомеризации. ВЭЖХ при температуре около точки замерзания элюента является потенциально полезным инструментом для изучения широкого спектра биохимических молекул. Хендерсоном Д.Е. с соавторами продемонстрировано высокоэффективное жидкостное хроматографическое разделение биологически активных пептидов, содержащих 1-пролилные остатки. Показано, что быстрое взаимопревращение изомеров между *цис*- и *транс*-изомерными формами в пролилпептидной связи вызывает классические эффекты вторичного равновесия в формах пиков. Эксплуатируя колонку при температурах в диапазоне от -15 до +5°C, можно получить нормальное разделение различных изомерных форм.

В англоязычной научной периодике для ВЭЖХ при низких температурах закрепился термин *subambient HPLC*, где *subambient* означает температуру ниже комнатной [30-35]. «Субамбиентная», иначе говоря, низкотемпературная ВЭЖХ позволяет разделить изомеры и термически лабильные или нестабильные соединения, которые не могут быть проэлюированы при комнатной температуре. Общие наблюдения за хроматографическим поведением аналитов в условиях нормально-фазовой ВЭЖХ при пониженных температурах на примере комплексов металлов и ароматических углеводов показали применимость этой методологии и к другим сорбатам, которые являются термически нестабильными, а также она обеспечивает возможность увеличения параметров удерживания плохо удерживаемых соединений.

Криоконцентрирование

В простейшем случае при криоконцентрировании (КК) водные (водно-органические) растворы веществ охлаждаются до образования льда из воды и водного (водно-органического) раствора. В жидкой фазе наблюдается концентрирование растворенных веществ. Лед отделяют от жидкой фазы механическим способом, например, центрифугированием. Эффективность КК можно увеличить за счет неоднократного повторения заморозки уже сконцентрированных растворов. Процесс многоступенчатого вымораживания целесообразен до достижения концентраций выделяемого

компонента и до температур, при которых помимо образования кристаллов льда, начинается образование кристаллов растворенного вещества.

Еще одним фактором улучшения показателей КК является применение встряхивателей [59]. Эксперименты по замораживанию водного раствора витамина В₁ проводили с использованием возвратно-поступательного шейкера, генерирующего колебательное движение при различных амплитудах и частотах. Увеличение амплитуды и частоты вызвало уменьшение среднего коэффициента распределения и увеличение скорости роста кристалла льда, что приводило к улучшению показателей КК. В работе [59] получены эмпирические уравнения, описывающие скорость роста кристаллов льда и средний коэффициент распределения в зависимости от условий встряхивания, таких как амплитуда и частота. Показано, что увеличение скорости замораживания приводило к увеличению скорости концентрирования, однако чрезмерное увеличение скорости замораживания не целесообразно.

КК растворенных в воде неорганических и органических компонентов путем частичного замораживания пробы без добавления экстрагента, как правило, не селективно, т.е. происходит групповое концентрирование. Разные по природе примеси, неорганические и органические соединения, в одинаковой степени оттесняются фронтом кристаллизации. Вместе с тем, к преимуществам концентрирования при пониженных температурах, можно отнести практически полное сохранение БАВ – витаминов, макро- и микроэлементов, сохранение ароматических и термолабильных веществ. При КК получают концентраты высокого качества, так как скорость биохимических реакций при низких температурах пренебрежимо мала.

КК состоит из следующих операций: вымораживания определенного количества воды из сгущаемого раствора; отделения образовавшихся кристаллов льда от концентрата. Решающим фактором с точки зрения легкости отделения водяных кристаллов от концентрата являются их размеры и форма. Желательно, чтобы образовывались большие дендритные кристаллы. Для этого необходимо подбирать оптимальную скорость замораживания и оптимальные концентрации компонентов. Конечная степень концентрирования ограничена и определяется физико-химическим состоянием раствора, прежде всего его вязкостью. Для минимизации вязкости необходимо минимизировать возможность образования мелких кристаллов льда. Для получения кристаллов крупных размеров (0.25-0.30 мм) рекомендуют вносить «затравку» кристаллов льда на стадии вымораживания. Конечная концентрация сгущаемого раствора зависит от конечной температуры вымораживания. В обзоре [60] обобщены результаты исследований влияния различных рабочих параметров на производительность КК, в том числе влияние температуры охлаждающей жидкости, расхода раствора, начальной концентрации раствора, времени замораживания, скорости роста фронта кристаллов льда и скорости перемешивания.

Интересный эффект обнаружили при КК образцов мочи [20]. Было установлено, что высокомолекулярные липофильные вещества, содержащиеся в моче наркоманов, в значительном количестве попадают в твердую, ледяную фракцию. Это вызвано тем, что уже при охлаждении мочи до 0°C липидоподобные вещества, растворенные в моче, превращаются в эмульсию. На границе лед/вода воскоподобные частицы переохлажденной эмульсии легко включаются в структуру растущего льда. Благодаря тому, что моча является раствором многих веществ, растущие кристаллы льда являются мелкими и обычно неправильной формы, площадь поверхности соприкосновения лед/вода достаточно велика. Именно фактор большой площади контакта фаз, по мнению автора статьи, является основной причиной включения липидоподобных веществ в структуру льда. Таким образом при температуре от -11

до -15°C происходит значительная очистка пробы от липидоподобных веществ без существенной потери других аналитов.

КК высокомолекулярных БАВ также имеет свои особенности. Так, растворы терапевтических белков часто замораживают для длительного хранения. В процессе замораживания белки в жидком растворе перераспределяются и располагаются в межкристаллическом пространстве между кристаллами льда. Это связано с исключением растворенного вещества из кристаллов льда, более высокой вязкостью концентрированного раствора и пространственным ограничением между кристаллами. Такая сегрегация может оказывать негативное влияние на нативную конформацию белковых молекул. Чтобы лучше понять механизмы, происходящие при замораживании растворов белков, авторами работы [59] была разработана модель фазового поля для описания роста кристаллов льда и динамики КК на мезомасштабах, основанная на приближении среднего поля концентрации растворенного вещества и лежащих в его основе явлений переноса тепла, массы и импульса. Модель фокусируется на эволюции границ раздела между жидким раствором и кристаллами льда, а также на степени концентрации растворенного вещества в результате разделения, диффузии и конвективных эффектов. Рост кристаллов обусловлен охлаждением основного раствора, но подавляется более высокой концентрацией растворенного вещества из-за увеличения вязкости раствора, снижения температуры замерзания и выделения скрытой теплоты. Результаты расчетов демонстрируют взаимозависимость эксклюзии растворенного вещества, ограничения пространства, теплообмена, слияния кристаллов и динамического образования узких промежутков между кристаллами и пограничными участками. Экспериментально установлено, что при замораживании локальные тепловые и конвективные эффекты, вызванные фазовым переходом, охлаждением, гравитацией оказывают влияние на производительность процесса КК, на распределение и стабильность белков. Иначе говоря, в процессе замораживания тепло, масса и импульс влияют на размер, форму и скорость роста кристаллов льда, а также на распределение белковых молекул между ними. Оказалось, что при быстрых скоростях охлаждения дендритные кристаллы быстро разветвляются, захватывая белки между боковыми ветвями кристаллов, что позволяет получить более равномерное распределение белка. При медленных скоростях охлаждения образуется клеточная, а не дендритная кристаллическая структура воды, молекулы белка распределяются неравномерно, а кристаллы льда продолжают расти и объединяться. Таким образом, замораживание является сложным экзотермическим процессом, на управление которым влияет много параметров. Для мезомасштабной системы с размером домена около десятков микрон в [59] было продемонстрировано динамическое КК за счет исключения объема и эффекта удержания пространства. В межкристаллическом пространстве между кристаллами льда происходило увеличение концентрации растворенного вещества, понижалась температура замерзания, уменьшалась подвижность растворенного вещества, возникало препятствование срастанию или дальнейшему росту кристаллов льда. Как один из выводов, авторы [59] указывают на необходимости учитывать возможность денатурации белков при КК.

Таким образом, процессы, происходящие при замораживании растворов, отличаются сложным механизмом и сопровождаются целым спектром физических процессов.

Так, Яценко О.Б. с соавторами в работах [36-37] экспериментально наблюдал фазовые превращения в водных растворах изопропилового спирта (ИПС) при температурах от комнатной до отрицательных (ниже 0°C). Уже при комнатной температуре эти растворы проявляют некоторые специфические свойства — оптические, акустические, которые не позволяют считать их «истинными», т.е. вначале на

нано-, затем на микро- и, наконец, на макроуровне проявляют гетерогенность. При снижении температуры до 0°C и ниже в очень широком диапазоне концентраций исходных растворов наблюдалось еще в жидкой фазе формирование агрегатов определенной формы макроскопического размера (~ 1 см), которые при наличии градиента температуры направленно двигаются в растворе из области более низких температур в область более высоких. Причем, в процессе снижения температуры охлаждающей системы эти агрегаты быстро размножаются, увеличиваются в размерах, сложным образом взаимодействуя друг с другом и окружающей жидкой средой. Их можно механически выделять из раствора. При определенной температуре, зависящей от концентрации исходного раствора, формирование и движение агрегатов прекращается и начинается кристаллизация жидкой фазы, не входящей в состав этих агрегатов. Яценко О.Б. обратил внимание на сложную, многоуровневую, иерархическую систему организации структурных элементов, формирующихся в жидкой фазе в процессе ее охлаждения, которая затем длительное время сохраняется в процессе плавления. Таким образом, при охлаждении водных растворов ИПС имеют место два вида фазовых превращений: кристаллизация и расслоение гомогенной жидкой фазы. При этом зарождающиеся и растущие кристаллы льда вытесняют более легкоплавкий компонент – ИПС, в незакристаллизованную часть жидкой фазы. Расслоение жидкой фазы происходит, вероятнее всего, по спинодальному механизму, не требующему формирования зародышей, происходящему одновременно во всем исходном растворе и часто ведущему к формированию упорядоченных структур, но уже не на атомно-молекулярном уровне, как при кристаллизации, а на наноуровне (коллоидном уровне) образующихся агрегатов в системе на начальной стадии расслоения исходного раствора. На фронте кристаллизации происходят процессы широко известные как явление *концентрационного переохлаждения*. Примесь (второй компонент), вытесняемая в жидкую фазу фронтом кристаллизации, накапливается в определенном слое, дестабилизирует условия плоского фронта, приводя к росту дендритов, формированию ячеистых структур и т.д. В этой области пересыщения растущий кристалл создает условия для спинодального распада жидкой фазы, прилегающей к фронту кристаллизации. Важной особенностью этих процессов является поведение воды, входящей в раствор. При снижении температуры чистой воды от комнатной до 0°C в ней происходит ряд фазовых превращений, в первую очередь, на нано- и микроуровне. Такие изменения в состоянии воды при охлаждении растворов до 0°C и ниже, несомненно, должны сказываться на их структуре и свойствах. В этом плане показательны результаты работы [38], в которой идет речь о превращении водных растворов NaCl в коллоидные при температуре $<0^{\circ}\text{C}$. Именно формирование наноагрегатов воды при снижении температуры создает условие для первоначального разделения компонентов раствора и его распада по спинодальному механизму. Выделение легкоплавкого компонента (ИПС) в отдельные области раствора, способствует, с одной стороны, началу кристаллизации льда в областях, обогащенных водой (более тугоплавкий компонент), а с другой, способствует спинодальному распаду раствора там, где он обогащен спиртом. Периодическое чередование этих областей в процессе охлаждения раствора и ведет к формированию наблюдаемых агрегатов. Можно сказать, что эти агрегаты — результат сложного, периодически повторяющегося на разных уровнях сочетания двух процессов: кристаллизации в тех областях, где больше воды, и спинодального распада там, где концентрируется ИПС. Для выяснения роли границ раздела, зарождающихся в водном растворе, Яценко О.Б. предложил вводить в исходную исследуемую систему заранее созданные поверхности раздела различного типа. В частности, в одном случае такую роль выполняет поверхность слитка льда, сформированного из чистой воды при темпера-

туре, например, -30°C . Определенный объем чистого ИПС, охлажденного предварительно при той же температуре, наливается на поверхность льда, и образец изотермически выдерживается при этой температуре определенное время, достаточное для осуществления процесса взаимодействия ИПС с поверхностью слитка льда. В результате взаимодействия чистого жидкого ИПС с поверхностью слитков льда наблюдается формирование системы упорядоченных агрегатов, образующихся на постепенно размывающейся исходно плоской границе раздела «лед – ИПС».

Итак, формирование агрегатов в водном растворе ИПС 10–30 об. % происходит в интервале температур -10°C – -15°C . Средний размер агрегатов составляет несколько мм. При наличии температурной неоднородности агрегаты движутся в сторону более высоких температур. При градиенте температуры $1\text{--}2^{\circ}\text{C}/\text{см}$ скорость движения составляет $1\text{--}2\text{ мм/с}$. Характер движения и взаимодействия агрегатов очень чувствительны к распределению температуры в растворе. После прекращения движения агрегатов наблюдается кристаллизация жидкой фазы, первоначально не входившей в состав агрегатов. Подобные явления имеют место и в водных растворах 1-бутанола и 1-пентанола, но не характерны для растворов метанола, этанола и 1-пропанола [36]. Такие различия, вероятней всего связаны с более высокой полярностью и гидрофильностью метанола, этанола и 1-пропанола по сравнению с ИПС и спиртами $\text{C}_4\text{--}\text{C}_5$ (см. табл. и комментарии к ней). Рассмотренные выше явления с расслоением жидкостей и движением агрегатов в направлении градиента температур пока не применимы на практике для реализации криоконцентрирования или криохроматографии, но дают определенную экспериментальную базу для рассмотрения теоретических представлений в этом направлении. Существует немало бинарных и многокомпонентных жидких гомогенных систем, которые при понижении температуры расслаиваются без образования фазы льда. Например, нашла применение при пробоподготовке система ацетонитрил – вода [6]. При ее охлаждении до -20°C происходит расслаивание на фазу, обогащенную ацетонитрилом, и фазу, обогащенную водой. В ацетонитрильной фазе может содержаться от 14 до 34 об.% воды, эта фаза менее полярна, чем водная, она лучше растворяет в себе относительно малополярные компоненты раствора – различные органические вещества [6,17]. Полярные неорганические и ионогенные органические вещества остаются в водной фазе, менее полярные концентрируются в ацетонитрильной. Этот эффект нашел свое применение в низкотемпературной ЖЖЭ. Для повышения эффективности ЖЖЭ вместо ацетонитрила можно использовать его смеси с этилацетатом и ИПС, а также высаливание или высахаривание. Хорошо растворимые в воде соли или моносахариды вытесняют гидрофобную органику из водной фазы в ацетонитрильную.

При рассмотрении роли растворителя в процессах разделения веществ с применением жидкой фазы исследователи часто употребляют термины *полярный*, *малополярный*, *неполярный растворитель*, придавая этому показателю лишь эмпирический качественный уровень (вода полярнее спиртов, спирты полярнее сложных эфиров, а эфиры полярнее аренов и алканов). Вместе с тем, этот показатель можно определять количественно. Итак, *под полярностью растворителей понимается их способность сольватировать находящиеся в нем заряженные или полярные частицы*. Эта способность зависит от всех специфических и неспецифических взаимодействий между молекулами растворителя и растворенного вещества. Учесть в полной мере совокупность всех этих взаимодействий каким-то одним физико-химическим параметром невозможно. В связи с этим количественно полярность растворителей определяют с помощью различных эмпирических параметров. Авторы рекомендуют для этих целей многократно апробированные критерии полярности P_N и липофильности R_L растворителей (таблица). Эти критерии соотносятся между собой как $R_L=100-P_N$.

По этой шкале полярность у воды равна 100, а декана – нулю, а липофильность (гидрофобность), напротив максимальна у декана. Критерии, представленные в таблице, можно смело отнести и к хроматографическим, и к экстракционным свойствам растворителей. Ибо экстрагируемые компоненты, перераспределяясь в сорбционных или экстракционных процессах между фазами, реализуют свой ГГБ сообразно полярности или липофильности фазы, в которой они концентрируются.

Таблица. Критерии полярности P_N и липофильности R_L типовых растворителей. По данным [40,41]

Растворитель	P_N	R_L	Растворитель	P_N	R_L
Декан	0.00	100	Октанол-1	28.85	71.15
Изооктан	0.32	99.68	Бутанон	29.03	70.97
Пентан	0.45	99.55	Пиридин	29.04	70.96
Циклогексан	0.71	99.29	<i>трет</i> -Бутанол	29.12	70.88
Гексан	0.85	99.15	Пентанол-1	31.25	68.75
Гептан	1.44	98.56	Бензонитрил	31.72	68.28
Триэтиламин	6.24	93.76	Ацетон	32.18	67.82
Тетрахлорметан	7.29	92.71	Нитробензол	33.00	67.00
Сероуглерод	8.25	91.75	Бутанол-1	36.29	63.71
Диизопропиловый эфир	9.02	90.98	ИПС	36.72	63.28
Диэтиловый эфир	11.73	88.27	Уксусная кислота	38.45	61.55
Толуол	12.07	87.93	Пропанол-1	39.09	60.91
Бензол	13.44	86.56	ДМФА	42.88	57.12
Хлорбензол	16.65	83.35	Этанол	43.97	56.03
Бромэтан	16.72	83.28	Ацетонитрил	44.66	55.34
ТГФ	21.00	79	Нитрометан	46.72	53.28
1,4-Диоксан	21.71	78.29	ДМСО	48.41	51.59
Этилацетат	21.84	78.16	Метанол	54.34	45.66
Хлороформ	22.00	78	Этиленгликоль	62.77	37.23
Метиленхлорид	23.04	76.96	Формаид	83.83	16.17
Дихлорэтан	24.88	75.12	Вода	100.00	0

Физико-химическая сепарация

Рассмотрим сепарационные свойства ацетонитрила и его смесей с водой. Под сепарационными свойствами обозначим свойства растворителей, применяемых в экстракционных, сорбционных и хроматографических и иных методах Separation Science. В технологии под термином *сепарация* (лат. *Separatio* – отделение) подразумевают различные процессы разделения смешанных объемов разнородных частиц, жидкостей разной плотности, эмульсий, суспензий и т.п. В отечественной химии не спешат этот термин распространить, как это сделано давно в англоязычной научной периодике, на физико-химические процессы, которые изучает так называемая Separation Science. Пора согласиться с термином *сепарация*, поскольку не удалось подобрать иного термина. Чтобы его не путать с сепарацией, основанной на физических свойствах разделяемых систем, можно ввести уточнение *физико-химическая сепарация*.

В практике самых разных физико-химических сепарационных методов, в том числе криометодов, активно применяют ацетонитрил [3,6]. В настоящее время ацетонитрил получил широкое применение в качестве гидрофильного экстрагента как в чистом виде, так и в качестве модификатора экстрагентов в самых разнообразных методах экстракции: твердофазная экстракция (ТФЭ), микро-ТФЭ, низкотемпературная ТФЭ; ЖЖЭ с высаливанием и высахариванием; микро-ЖЖЭ, дисперсионная

микро-ЖЖЭ, жидкостная экстракция под давлением; флюидная экстракция, низкотемпературная ЖЖЭ, экстракционное вымораживание; комбинированный способ концентрирования квечерс (QuEChERS)[4,5,7-12,14-17,41-52].

В методах ЖЖЭ важна смешиваемость и солюбилизующая способность растворителей. Особое значение имеет смешиваемость с водой. По этому свойству растворители разделяют на гидрофобные и гидрофильные. Мерой гидрофильности или гидрофобности хорошо зарекомендовали себя критерии $\log P$ и $ClogP$ [6], это логарифмы коэффициента распределения растворителя между водой и 1-октанолом. Особенностью $ClogP$ является то, что он расчетный, а $\log P$ определяется экспериментально. Эти критерии хорошо коррелируют между собой и достаточно тесно коррелируют с распределением растворителей в экспериментально найденном миксотропном ряду [53]. Растворители, расположенные в миксотропном ряду выше *трет*-бутанола, смешиваются с водой и между собой в любых соотношениях, их можно отнести к гидрофильным. Растворители ниже *трет*-бутанола гидрофобны и хорошо смешиваются с неполярными растворителями. Гидрофильные растворители имеют отрицательные или близкие к нулю критерии ($\log P \leq 0.6$), они полностью или частично смешиваются с водой и между собой, а растворители с более положительными значениями критериев гидрофобности неограниченно или частично смешиваются между собой и с неполярным гексаном. Чем больше разница между значениями критерия $\log P$ (или $ClogP$), тем маловероятней смешиваемость растворителей. Но есть и исключения, еще требующие теоретической интерпретации. Например, бензол хорошо смешивается с метанолом. Ацетонитрил, ИПС и ТГФ гидрофильны, они при комнатной температуре смешиваются не только с водой и типичными гидрофильными растворителями, но и со многими гидрофобными растворителями.

В обзоре [6] обобщены данные, которые показывают, что смеси ацетонитрила с водой при хранении в течение от получаса до нескольких часов при температуре ниже комнатной расслаиваются на две жидкие фазы. Разделение фаз происходит при температурах ниже -1.32°C и может наблюдаться в широком диапазоне концентраций ацетонитрила. Диапазон содержания ацетонитрила в смесях с водой, способных расслаиваться при температуре около -10°C составляет от 38 до 87 об.%, что позволяет подбирать состав бинарного растворителя пробы максимально близкий к составу подвижной фазы, используемой в обращенно-фазной ВЭЖХ. При температурах $\leq -10^\circ\text{C}$ расслоение на две фазы происходит достаточно быстро (≤ 30 мин), что приемлемо для пробоподготовки в химическом анализе методом ВЭЖХ. В этих гетерогенных системах ацетонитрил распределен неравномерно между двумя фазами. Верхняя фаза обогащена ацетонитрилом, а нижняя – водой. Холодную ЖЖЭ используют для подготовки проб образцов, в том числе для депротенизации сырого образца, удаления белка из органического растворителя, для селективной ЖЖЭ фенолов, триклозана, бисфенола А и других БАВ из сложных смесей, например, из молочных продуктов. Это явление может использоваться также как криометод удаления избытка ацетонитрила из биологических образцов и из хроматографических подвижных фаз [6].

Не только ацетонитрил, но и такие растворители как ацетон, диоксан, пропиловые спирты, 4-бутиролактон, N-метилпирролидон, *трет*-бутиловый спирт, диацетоновый спирт могут в присутствии высаливателей образовывать самостоятельную водно-органическую фазу, в которой содержится от 2 до 50 об.% воды [17]. Это свойство используют в гидрофильной ЖЖЭ. В качестве высаливателей хорошо себя зарекомендовали $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и Li_2SO_4 , хотя используют и другие соли, например, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , MgSO_4 , NaCl . Варьируя концентрацию и тип высаливателя можно изменять соотношение органического растворителя и воды в двух разделенных фа-

зах. Если концентрация высаливателя в водном растворе приближается к насыщению, то содержание органического растворителя в водной фазе стремится к минимуму. Образованию гетерогенной системы способствует сочетание применения солей и охлаждения до 4°C.

Ацетонитрил имеет высокую солюбилизирующую способность для многих органических веществ, однако при охлаждении она падает. Поэтому для улучшения растворимости аналитов в ацетонитрильной фазе при реализации низкотемпературной ЖЖЭ рекомендуют использовать добавки к ацетонитрилу этилацетата и ИПС [5]. В качестве перспективного экстрагента фенолов методом низкотемпературной ЖЖЭ является смесь ацетонитрила с ИПС и этилацетатом (80:5:15 об.), в которой образование двухфазной системы жидкость–жидкость при -10°C происходит за короткое время (~10мин).

Системы органический растворитель – вода зачастую проявляют значительное отклонение от свойств идеальных растворов, так как межмолекулярные взаимодействия вода – вода, органический растворитель – органический растворитель и вода – органический растворитель могут существенно различаться. Эти отклонения обусловлены тем, что на наноуровне происходит образование структур, в которых имеются негомогенные образования, которые одни исследователи называют ассоциатами, а другие применяют термин *кластеры*, под которым понимают объединение нескольких однородных элементов (молекул компонента смеси), являющихся самостоятельными единицами, обладающими определёнными свойствами [54]. При растворении вещества в такой неидеальной бинарной смеси состав растворителей в сольватной оболочке не соответствует составу бинарного растворителя в объеме раствора. Следовательно, в таких неидеальных двойных смесях возникает возможность преимущественной сольватации растворенного вещества одним из компонентов смеси. Конечно, кластеры химически малоустойчивы, имеют разные структуры, которые находятся между собой и окружающей гомогенной фазой в подвижном равновесии, которое смещается под действием концентрации компонентов смеси и температуры. Так, авторы [54] полагают, что доля кластеров воды увеличивается с увеличением концентрации ацетонитрила по причине того, что молекулы ацетонитрила не образуют кластеры, а ведут себя как “растворитель”, окружающий и стабилизирующий кластеры воды, увеличивая тем самым время жизни больших кластеров. Было установлено, что растворимость фенола в смесях с ацетонитрилом меньше, чем в чистой воде, поскольку в них преобладает взаимодействие воды с последним. Дальнейшее увеличение концентрации ацетонитрила приводит к появлению ацетонитрильной фазы, не связанной с кластерами воды. Это вызывает резкое увеличение растворимости фенола при концентрации ацетонитрила > 0.4 мольных доли. Таким образом, в бинарных смесях фенол преимущественно взаимодействует с органическим компонентом даже при больших концентрациях воды.

В работе [55] показано с использованием ИК-спектроскопии, квантово-химических и хемометрических расчетов, что при значительных количествах органического растворителя в системе вода – ацетонитрил преобладает структура ацетонитрила с квазициклическими ассоциатами. При этом с увеличением доли ацетонитрила реализуется постепенный переход от тетраэдрической структуры воды к структуре, характерной для индивидуального ацетонитрила. Для него возможны агрегаты, содержащие до 120 молекул самого ацетонитрила. Авторы [55] делают вывод, что бинарные смеси более структурированы, чем индивидуальный растворитель (ацетонитрил), благодаря образованию сильных водородных связей.

В работе [56] при изучении оптической плотности смесей вода – ацетонитрил было установлено, что в диапазоне 195-235 нм она принципиально отличается от за-

висимостей при длинах волн >240 нм. Преображенский М.А. считает, что в этой области на поглощение ацетонитрила при 90 об.% и более может вносить свой вклад светорассеяние, обусловленное негомогенностью системы на наноуровне, т.е. аномальность поглощения связана с существованием больших кластеров.

Экстракционное вымораживание

В работах [7-12] показано, что ацетонитрил применим в режиме экстракционного вымораживания. При образовании фазы льда из воды при $-19\div-20^\circ\text{C}$ растворенные органические вещества вытесняются в жидкую ацетонитрильную фазу. Такой способ концентрирования пробы активно применяют в ВЭЖХ в способе, получившем название *liquid-liquid extraction with partition at low temperature*. В измельченный образец добавляют несколько мл ацетонитрила, охлаждают до -20°C , центрифугируют, отделяют органический слой, фильтруют и анализируют [13-16]. Этот метод заметно более дешевый, чем ТФЭ, поскольку нет необходимости использовать дорогие патроны с сорбентами.

Бехтеревым В.Н. была предпринята попытка теоретического толкования развиваемого им метода экстракционного вымораживания (ЭВ) [7-12]. Его теоретические представления базируются на адсорбционном механизме распределения аналита между образующейся поверхностью кристаллов воды и жидким экстрактом, состав которого определяется фазовой диаграммой. В условиях ЭВ при -19°C с образовавшимися кристаллами льда сосуществует жидкая фаза постоянного состава из воды и ацетонитрила. Было обнаружено заметное варьирование массы образующегося в опытах экстракта. Очевидно, в этом явлении свою роль играют возникающие при замораживании водно-органических растворов жидкие микровключения в твердой фазе. Сам лед имеет поликристаллическую структуру с множеством трещин, в которые за счет капиллярных сил втягивается контактирующая жидкая водно-органическая фаза (экстракт). Бехтерев В.Н. считает, что прямым доказательством того, что твердая фаза (лед) при ЭВ выступает в качестве адсорбента, служат результаты следующего эксперимента. На поверхность льда, полученного охлаждением до -19°C дистиллированной воды, помещали предварительно охлажденный до этой же температуры раствор аналитов (уксусная и пропионовая кислоты) в ацетонитриле (его охлаждали в отдельной емкости, одновременно с замораживанием воды). Приготовленные таким способом образцы дополнительно выдерживали при -19°C еще 48 ч, после чего, отделив жидкую фазу, методом ГЖХ определяли в ней содержание кислот. Полученные данные указывали на уменьшение концентрации аналитов в жидком растворе в результате контакта с поверхностью льда. Увеличение площади соприкосновения жидкой и твердой фаз сопровождалось дальнейшим снижением концентрации кислот в жидкости. Эти наблюдения могут свидетельствовать об адсорбционном механизме извлечения при ЭВ. Следует учитывать конкуренцию между молекулами растворителя и аналита за адсорбент. Кроме этого существенная адсорбция может наблюдаться только при развитой поверхности льда, когда он представляет собой шугу, состоящую из частиц льда, имеющих размеры, характерные для частиц сорбента в классической колоночной ЖХ (5-20 мкм). Только в этом случае кристаллическую фазу льда можно считать эффективным полярным адсорбентом, кристаллическая решетка которого образована полярными молекулами воды и, по аналогии с силикагелем, она имеет на поверхности гидроксильные группы, способные адсорбировать соединения с полярными функциональными группами. В эксперименте Бехтерева В.Н. [9] снижение концентрации карбоновых кислот при относительном небольшом увеличении объема фазы льда фактически попадает в диапа-

зон погрешности определения, т.е. правильные выводы сделаны при недостаточно убедительном эксперименте. Этот автор предполагает, что экстракционная способность растворителя (жидкой фазы) при ЭВ должна возрастать с ростом полярности экстрагента, и проводит аналогию с нормально-фазовой адсорбционной ЖХ. Действительно, при замене полярного растворителя (ацетонитрила) на гексан степень концентрирования карбоновых кислот C_2-C_6 с помощью ЭВ резко падает. Согласно предложенной модели в данном случае с уменьшением полярности жидкости контактирующей с кристаллами воды (твердая фаза, адсорбент) адсорбция молекул карбоновых кислот на поверхности кристаллов льда возрастает. Известно, что степень ионизации аналита существенным образом отражается на адсорбции и, соответственно, на параметрах его удерживания в ЖХ. Варьируя рН жидкой фазы можно управлять степенью адсорбции. Так, рН водного раствора влияла на степень концентрирования карбоновых кислот при их извлечении ацетонитрилом. Смещение в щелочную область, сопровождающееся ростом степени диссоциации карбоновых кислот, резко снижала их концентрации в получаемом методом ЭВ ацетонитрильном экстракте. Это связано с ростом адсорбции кислот в ионизированном состоянии на кристаллах льда, являющегося полярным сорбентом (поверхность которого модифицируется щелочью). Данный результат ожидаем как с точки зрения теории адсорбции, так и по аналогии с ЖХ на полярных сорбентах. Таким образом, варьируя рН водного раствора на стадии пробоподготовки методом ЭВ можно управлять селективностью извлечения тех или иных компонентов из анализируемой пробы в экстракт.

При описании ЭВ более точной аналогией, чем адсорбционная ЖХ, является аналогия с гидрофильной ЖХ, где поверхность льда рассматривается как полярная неподвижная фаза, а подвижной фазой является смесь ацетонитрила с водой. Ацетонитрил здесь является базовым растворителем, а вода – полярной добавкой и одновременно модификатором поверхности, образуя на полярном адсорбенте полимолекулярный адсорбционный слой. Удерживание уменьшается при увеличении доли воды в подвижной фазе. Механизмы удерживания в гидрофильной ЖХ довольно сложны, имеет место конкуренция между механизмами адсорбционным и распределительным между двумя фазами. Одна фаза – это полуиммобилизованный слой, обогащенный водой, около поверхности сорбента, вторая – сама подвижная фаза. При этом с увеличением содержания воды в подвижной фазе возрастает доля воды и в слое около сорбента. Поэтому удерживание, в основном, зависит от распределения воды между слоями. Кроме того, предполагается, что вклад в удерживание могут вносить и другие виды взаимодействий (водородная связь, диполь – дипольные и слабые дисперсионные взаимодействия) [57].

Продолжая рассуждать об аналогиях между ЭВ и гидрофильной ЖХ, можно представить себе вариант криохроматографии, в котором микрочастицы льда, или поризованный лед служат неподвижной фазой, а подвижной фазой является смесь ацетонитрила с водой. Этот случай представляет определенный интерес для теоретиков, дает возможность просчитать условия и пути реализации данного варианта жидкостной хроматографии.

Заключение

Анализ современного состояния теории и практики методов разделения и концентрирования веществ в жидких средах показывает, что криометоды – концентрирование вымораживанием, низкотемпературная жидкостно-жидкостная и твердофазная экстракция, субамбиентная жидкостная хроматография и комбинация этих

методов, являются реализацией эффективных физико-химических сепарационных процессов, основным преимуществом которых являются низкотемпературные условия их осуществления. В этих условиях возможно максимально полное сохранение свойств разделяемых или концентрируемых компонентов. Понимание механизмов и технологических воздействий низких температур на растворы биологически активных веществ имеет решающее значение в фармацевтической промышленности для производства высококачественных биопрепаратов.

Список литературы

1. Подолина Е.А., Рудаков О.Б., Фан Винь Тхинь, Рудакова Л.В. // *Журнал аналитической химии*, 2010, Т. 65. № 2. С. 121-123.
2. Рудаков О.Б., Хорохордина Е.А., Чан Хай Данг, Бедарев А.А. // *Научный вестник ВГАСУ. Серия: Физико-химические проблемы и высокие технологии строительного материаловедения*. 2014. № 8. С. 106-113.
3. Рудаков О.Б., Хорохордина Е.А., Рудакова Л.В., Грошев Е.Н. // *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2015. № 3. С. 42-47.
4. Рудаков О.Б., Хорохордина Е.А., Преображенский М.А., Рудакова Л.В. // *Журнал физической химии*. 2016. Т. 90. № 8. С. 1257-1260.
5. Рудаков О.Б., Хорохордина Е.А., Преображенский М.А. // *Журнал физической химии*, 2017. Т. 91. № 4. С. 707-711.
6. Рудаков О.Б., Селеменев В.Ф., Рудакова Л.В., Подолина Е.А. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2018. Т. 18. № 4. С. 458-478.
7. Бехтерев В.Н. // *Журнал аналитической химии*. 2008. Т. 63. № 10. С. 1045-1049.
8. Бехтерев В.Н., Гаврилова С.Н., Кошкарева Е.В. // *Химико-фармацевтический журнал*. 2008. Т. 42. № 2. С. 44-46.
9. Бехтерев В.Н. // *Журнал аналитической химии*. 2011. Т. 66. № 6. С. 608-613.
10. Бехтерев В.Н. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2015. Т. 15. № 5. С. 683-692.
11. Бехтерев В.Н. // *Журнал физической химии*. 2016. Т. 90. № 10. С. 1558-1562.
12. Бехтерев В.Н., Маляровская В.И. // *Известия ВУЗОВ. Прикладная химия и биотехнология*. 2018. Т. 8. № 4. С. 73-82.
13. Hongcheng Liu, Tao Lin, Jia Mao et al. // *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. Vol. 2015. Art. ID 404925. 6 p.
14. De Pinho G.P., Neves A.A., de Queiroz M.E.L.R. et al. // *Food chemistry*. 2010. Vol. 121. No 1. pp. 251-256.
15. De Pinho G.P., Neves A.A., de Queiroz M.E.L.R. et al. // *Food control*. 2010. Vol. 21. No 10. pp. 1307-1311.
16. Goulart S.M., de Queiroz M.E.L.R. et al. // *Talanta*. 2008. Vol. 75. No 5. pp. 1320-1323.
17. Хорохордина Е.А., Подолина Е.А., Рудаков О.Б. Жидкостная экстракция смешанными растворителями. Применение в химическом анализе фенолов. Saarbrücken. LAP Lambert Academic Publishing, 2012, 240 с.
18. Nugbienyo L., Malinina Y., Garmonov S. et al. // *Talanta*. 2017. Vol. 167. pp. 709-713.
19. Подолина Е.А., Рудаков О.Б. // *Бутиловские сообщения*, 2009, Т. 15. № 2. С. 24-36.
20. Тяжелников С.Ф. // *Современные проблемы науки и образования*. 2012. № 5. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=6960> (дата обращения: 08.06.2019).
21. Русинова А.А., Полежаев Ю.М. Матерн А.И. // *Аналитика и контроль*. 1999. № 4. С. 4-10.
22. Яценко О.Б., Котова Д.Л., Федоренко А.А., Селеменев В.Ф. // *Вестник ТГУ*. 1999. Т. 4. № 2. С. 266.
23. Henderson R.F., Clayton M.H. // *Federation proceedings*. 1975. Vol. 34. No 3. P. 633.
24. Henderson R.F., Clayton M.H. // *Federation proceedings*. 1976. Vol. 35. No 7. P. 1503.
25. Henderson D.E., Novak F.P. // *Journal of Chromatographic Science*. 1982. Vol. 20. No 6. pp. 256-259.
26. Henderson D.E. Horváth C. // *Journal of chromatography*. 1986. Vol. 368. No 2. pp. 203-213.
27. Henderson D.E. Mello J.A. // *Journal of Chromatography A*. 1990. Vol. 499. pp. 79-88.
28. Yamasaki T., Sakai M., Kanamori T. et al. // *Chromatographia*. 1986. Vol. 21. No 8. pp. 478-479.
29. Третьяков Б.В., Стецюк Е.А., Петров С.Н. // *Нефрология*. 2001. Т. 5. № 2. С. 78-95.

30. Boehm V. // *Chromatographia*. 1999. Vol. 50. No 9-10. pp. 282-286.
31. Gentili A., Dal Bosco, C., Fanali S., Fanali C. // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2019. Vol. 164. pp.759-767.
32. Ohta H., Wlodarczyk E. Piaskowski K. et al. // *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2017. Vol. 409. No 14. pp. 3695-3706.
33. Zarzycki P.K., Ohta H., Saito Y., Jinno K. // *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2008. Vol. 391. No 8. pp. 2793-2801.
34. Zarzycki P.K., Ohta H., Saito Y., Jinno K. // *Chromatographia*. 2006. Vol. 64. No 1-2. pp. 79-82.
35. Ghosh P., Chawla B., Joshi P.V., Jaffe S.B. // *Energy & Fuels*. 2006. Vol. 20. No 2. pp. 609-619.
36. Яценко О.Б., Чижев А.С., Попов А.Н., Шульгин В.А. // *Коллоидный журнал*. 2012. Т. 74. № 1. С. 131-134.
37. Яценко О.Б., Чижев А.С., Попов А.Н. и др. // *Конденсированные среды и межфазные границы*, 2012. Т. 14. № 1. С. 114-118
38. Яценко О.Б., Котова Д.Л., Селеменев В.Ф., Крысанова Т.А. // *Журнал прикладной химии*. 1997. Т. 70. № 12. С. 1948-1954.
39. Rudakov O.B., Fedorov V.E.; Martynov S.V. et al. // *Journal of analytical chemistry of the USSR*. 1991. Vol. 46. No 12. pp. 1705-1709.
40. Рудаков О.Б., Седишев И.П. // *Известия РАН. Серия химическая*. 2003. Т. 52. № 1. С. 52-59.
41. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2012. Т. 12. № 2. С. 231-239.
42. McConvey I.F., Woods D., Lewis M., Gan Q., Nancarrow P. // *Org. Process Res. Dev.* 2012. Vol. 16. No 4. pp. 612-624.
43. Pence D.N., Tingyue Gu. // *Separations Technology*. 1996. Vol. 6. No 4. pp. 261-264.
44. Zarzycki P.K., Zarzycka M.B., Ślaczka M.M. // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010. Vol. 397. No 3. pp. 905-908.
45. Yesong Gu, Po-Huhg Shih. // *Enzyme and Microbial Technology*. 2004. Vol. 35. № 6-7. pp. 592-597.
46. Roach A., Dunlap J., Harte F. // *Journal of Food Science*. 2009. Vol.74. No 2. pp. 23-29.
47. Georgescu B., Georgescu C.E. // *Animal Biology & Animal Husbandry. International Journal of the Bioflux Society*. 2013. Vol. 5. № 2. pp. 171-174.
48. Подолина Е.А., Рудаков О.Б., Хороордина Е.А., Григорьев А.М. // *Журнал аналитической химии*. 2008. Т. 63. № 6. С. 599-602.
49. Рудаков О.Б., Хороордина Е.А., Подолина Е.А., Харитонов Л.А. // *Журнал физической химии*. 2007. Т. 81. № 12. С. 2278-2283.
50. Sudipta S., Ashok K.S., Amit K.K. et al. // *Handbook of Food Bioengineering*. 2017. No 4. pp. 65-106.
51. Rahman M.M., Abd El-Aty A.M., Kim S.-W. et al. // *Journal of separation science*. 2017. Vol. 40. No 1. pp. 203-212.
52. Wang B., Ezejias T., Hao Feng, Blaschek H. // *Chemical Engineering Science*. 2008. Vol. 63. No 9. pp. 2595-2600
53. Схунмакерс П. Оптимизация селективности в хроматографии. М. Мир. 1989. 399 с.
54. Захаров А. Г., Воронова М. И., Батов Д.В., Смирнова К.В. // *Журнал физической химии*. 2011. Т. 85. № 3. С. 473-478.
55. Монахова Ю.Б., Муштакова С.П., Колесникова С.С., Грибов Л.А. // *Журнал аналитической химии*. 2011. Т. 66. № 1. С. 56-62.
56. Преображенский М.А., Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Попова М.И. // *Научный вестник Воронежского государственного архитектурно-строительного университета. Серия: Физико-химические проблемы и высокие технологии строительного материаловедения*. 2015. № 2. С. 80-89.
57. Gritti F., Guiochon G. // *Journal of Chromatography A*. 2013. Vol. 1302. pp. 55-64.
58. Iritani E. Katagiri N. Okada K. et al. // *Separation and purification technology*. 2013. Vol. 120. pp. 445-451.
59. Fan T.-H., Li, J.-Q., Minatovicz B., Soha E. et al. // *Polymers*. 2019. Vol. 11. No 1. No art. 10.
60. Amran N.A., Samsuri S., Safiee N.Z., Zakaria Z.Y. et al. // *Chemical engineering communications*. 2016. Vol. 203. No 7. pp. 957-975.

References

1. Podolina E.A., Rudakov O.B., Thin Fan Vin, Rudakova L.V., *Journal of Analytical Chemistry*, 2010, Vol. 65, No 2, pp. 117-119. doi: 10.1134/S1061934810020036
2. Rudakov O.B., Khorokhordina E.A., Chan Xaj Dang, Bedarev A.A., *Nauchnyj vestnik VGASU. Seriya: Fiziko-ximicheskie problemy* i

vy`skie texnologii stroitel`nogo materialovedeniya, No 8, 2014, pp. 106-113.

3. Rudakov O.B., Khorokhordina E.A., Rudakova L.V., Groshev E.N., *Vestnik VGU. Seriya: Ximiya. Biologiya. Farmaciya*, 2015, No 3, pp. 42-47.

4. Rudakov O.B., Khorokhordina E.A., Preobrazhenskii M.A., Rudakova L.V., *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2016, Vol. 90, No 8, pp. 1665-1668. doi: 10.1134/S0036024416080264

5. Rudakov O.B., Khorokhordina E.A., Preobrazhenskii M.A., *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2017, Vol. 91, No 4, pp. 707-711. doi: 10.7868/S0044453717040264

6. Rudakov O.B., Selemenev V.F., Rudakova L.V., Podolina E.A., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2018, Vol. 18, No 4, pp. 458-478.

7. Bekhterev V.N., *Zhurnal analiticheskoy khimii*, 2008, Vol. 63, No 10, pp. 1045-1049.

8. Bekhterev V.N., Gavrilova S.N., Koshkareva E.V., *Khimiko-farmaceuticheskij zhurnal*, 2008, Vol. 42, No 2, pp. 44-46. DOI: 10.30906/0023-1134-2008-42-2-44-46

9. Bekhterev V.N., *Zhurnal analiticheskoy khimii*, 2011, Vol. 66, No 6, pp. 608-613.

10. Bekhterev V.N., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2015, Vol. 15, No 5, pp. 683-692.

11. Bekhterev V.N., *Zhurnal fizicheskoy khimii*, 2016, Vol. 90, No 10, pp. 1558-1562.

12. Bekhterev V.N., Malyarovskaya V.I., *Izvestiya VUZOV. Prikladnaya ximiya i biotexnologiya*, 2018, Vol. 8, No 4, pp. 73-82. doi: 10.21285/2227-2925-2018-8-4-73-8.

13. Hongcheng Liu, Tao Lin, Jia Mao et al., *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2015, Vol. 2015, Art. ID 404925. 6 p. doi: 10.1155/2015/404925

14. De Pinho G.P., Neves A.A., de Queiroz M.E.L.R. et al., *Food chemistry*, 2010, Vol. 121, No 1, pp. 251-256. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.11.080.

15. De Pinho G.P., Neves A.A., de Queiroz M.E.L.R. et al., *Food control*, 2010, Vol. 21, No 10, pp. 1307-1311. doi: 10.1016/j.foodcont.2010.03.006.

16. Goulart S.M., de Queiroz M.E.L.R. et al., *Talanta*, 2008, Vol. 75, No 5, pp. 1320-1323. doi: 10.1016/j.talanta.2008.01.058

17. Khorokhordina E.A., Podolina E.A., Rudakov O.B., *Zhidkostnaya e`kstrakciya smeshanny`mi rastvoritelyami. Primenenie v ximi-*

cheskom analize fenolov. Saarbrücken. LAP Lambert Academic Publishing, 2012, 240 p.

18. Nugbienyo L., Malinina Y., Garmonov S. et al., *Talanta*, 2017, Vol. 167, pp. 709-713.

19. Podolina E.A., Rudakov O.B., *Butlerovskie soobshheniya*, 2009, Vol. 15, No 2, pp. 24-36.

20. Tyazhel`nikov S.F., *Sovremennye problemy` nauki i obrazovaniya*, 2012, No 5, <https://science-education.ru/ru/article/view?id=6960> (data obrashheniya: 16.06.2019).

21. Rusinova A.A., Polezhaev Yu.M. Matern A.I., *Analitika i control*, 1999, No 4, pp. 4-10.

22. Yacenko O.B., Kotova D.L., Fedorecz A.A., Selemenev V.F., *Vestnik TGU*, 1999, Vol. 4, No 2, pp. 266.

23. Henderson R.F., Clayton M.H., *Federation proceedings*, 1975, Vol. 34, No 3, pp. 633.

24. Henderson R.F., Clayton M.H., *Federation proceedings*, 1976, Vol. 35, No 7, pp. 1503

25. Henderson D.E., Novak F.P., *Journal of Chromatographic Science*, 1982, Vol. 20, No 6, pp. 256-259.

26. Henderson D.E. Horváth S., *Journal of chromatography*, 1986, Vol. 368, No 2, pp. 203-213. doi: 10.1016/S0021-9673(00)91064-1

27. Henderson D.E. Mello J.A., *Journal of Chromatography A*, 1990, Vol. 499, pp. 79-88 doi: 10.1016/S0021-9673(00)96965-6

28. Yamasaki T., Sakai M., Kanamori T. et al., *Chromatographia*, 1986, Vol. 21, No 8, pp. 478-479. doi: 10.1007/BF02341274

29. Tret`yakov B.V., Steczyuk E.A., Petrov S.N., *Nefrologiya*, 2001, Vol. 5, No 2, pp. 78-95.

30. Boehm V., *Chromatographia*, 1999. Vol. 50. No 9-10, pp. 282-286. doi: 10.1007/BF02490829.

31. Gentili A., Dal Bosco, C., Fanali S., Fanali C., *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2019, Vol. 164, pp. 759-767. doi: 10.1016/j.jpba.2018.11.042

32. Ohta H., Wlodarczyk E. Piaskowski K. et al., *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2017, Vol. 409, No 14, pp. 3695-3706. doi: 10.1007/s00216-017-0313-y

33. Zarzycki P.K., Ohta H., Saito Y., Jinno K., *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2008, Vol. 391, No 8, pp. 2793-2801. doi: 10.1007/s00216-008-2209-3

34. Zarzycki P.K., Ohta H., Saito Y., Jinno K., *Chromatographia*, 2006, Vol. 64, No 1-2, pp. 79-82. doi: 10.1365/s10337-006-0835-5

35. Ghosh P., Chawla B., Joshi P.V., Jaffe S.B., *Energy & Fuels*, 2006, Vol. 20, No 2, pp. 609-619. DOI: 10.1021/ef0502305
36. Yacenko O.B., Chizhov A.S., Popov A.N., Shul'gin V.A., *Kolloidny'j zhurnal*, 2012, Vol. 74, No 1, pp. 131–134.
37. Yacenko O.B., Chizhov A.S., Popov A.N. et al., *Kondensirovanny'e sredy` i mezhfazny'e granicy*, 2012, Vol. 14, No 1, pp. 114-118.
38. Yacenko O.B., Kotova D.L., Selemenev V.F., Kry'sanova T.A., *Zhurnal prikladnoj khimii*, 1997, Vol. 70, No 12, pp. 1948-1954.
39. Rudakov O.B., Fedorov V.E., Martynov S.V. et al., *Journal of analytical chemistry of the USSR*, 1991, Vol. 46, No 12, pp. 1705-1709.
40. Rudakov O.B., Sedishev I.P., *Izvestiya RAN. Seriya ximicheskaya*, 2003, Vol. 52, No 1, pp. 52-59.
41. Rudakov O.B., Rudakova L.V., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2012, Vol. 12, No 2, pp. 231-239.
42. McConvey I.F., Woods D., Lewis M., Gan Q., Nancarrow P., *Org. Process Res. Dev.*, 2012, Vol. 16, No 4, pp. 612-624.
43. Pence D.N., Tingyue Gu., *Separations Technology*, 1996, Vol. 6, No 4, pp. 261-264.
44. Zarzycki P.K., Zarzycka M.B., Ślącza M.M., *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, Vol. 397, No 3, pp. 905-908.
45. Yesong Gu, Po-Huhg Shih., *Enzyme and Microbial Technology*, 2004, Vol. 35, No 6-7, pp. 592–597.
46. Roach A., Dunlap J., Harte F., *Journal of Food Science*, 2009, Vol.74, No 2, pp. 23-29.
47. Georgescu B., Georgescu C.E., *Animal Biology & Animal Husbandry. International Journal of the Bioflux Society*, 2013, Vol. 5, No 2, pp. 171-174.
48. Podolina E.A., Rudakov O.B., Khorokhordina E.A., Grigor'ev A.M., *Journal of Analytical Chemistry*, 2008, Vol. 63, No 6, pp. 548-550. doi: 10.1134/S1061934808060063.
49. Rudakov O.B., Khorokhordina E.A., Podolina E.A., Kharitonova L.A., *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2007, Vol. 81, No 12, pp. 2053-2058. doi: 10.1134/S0036024407120242
50. Sudipta S., Ashok K.S., Amit K.K. et al., *Handbook of Food Bioengineering*, 2017, No 4, pp. 65-106.
51. Rahman M.M., Abd El-Aty A.M., Kim S.-W. et al., *Journal of separation science*, 2017, Vol. 40, No 1, pp. 203-212. doi: 10.1002/jssc.201600889
52. Wang B., Ezejias T., Hao Feng, Blaschek H., *Chemical Engineering Science*, 2008, Vol. 63, No 9, pp. 2595-2600. doi: 10.1016/j.ces.2008.02.004.
53. Sxunmakers P. Optimizaciya selektivnosti v xromatografii, M., Mir, 1989, 399 p.
54. Zaxarov A.G., Voronova M.I., Batov D.V., Smirnova K.V., *Zhurnal fizicheskoy khimii*, 2011, Vol. 85, No 3, pp. 473-478.
55. Monaxova Yu.B., Mushtakova S.P., Kolesnikova S.S., Gribov L.A., *Zhurnal analiticheskoy khimii*, 2011, Vol. 66, No 1, pp. 56-62.
56. Preobrazhenskij M.A., Rudakov O.B., Rudakova L.V., Popova M.I., *Nauchny'j vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo arhitekturno-stroitel'nogo universiteta. Seriya: Fiziko-ximicheskie problemy` i vy`sokie texnologii stroitel'nogo materialovedeniya*, 2015, No 2, pp. 80-89.
57. Gritti F., Guiochon G., *Journal of Chromatography A*, 2013, Vol. 1302, pp. 55-64. doi: 10.1016/j.chroma.2013.06.001.
58. Iritani E. Katagiri N. Okada K. et al., *Separation and purification technology*, 2013, Vol. 120, pp. 445-451 doi: 10.1016/j.seppur.2013.10.015
59. Fan T.-H., Li, J.-Q., Minatovicz, B., Soha E. Et al., *Polymers*, 2019, Vol. 11, No 1, No art. 10. doi: 10.3390/polym11010010.
60. Amran N.A., Samsuri S., Safiei N.Z., Zakaria Z. et al., *Chemical engineering communications*, 2016, Vol. 203, No 7, pp. 957-975. doi: 10.1080/00986445.2015.1075982.

Рудаков Олег Борисович - д.х.н., зав. кафедрой химии и химической технологии материалов Воронежского государственного технического университета, Воронеж

Селемев Владимир Федорович - д.х.н., зав. кафедрой аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

Рудакова Людмила Васильевна - д.х.н., зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии Воронежского государственного медицинского университета, Воронеж

Rudakov Oleg B. – Dr. Sci (Chemistry), head of Department of chemistry and chemical technology of materials of Voronezh state technical University, Voronezh. E-mail: robi57@mail.ru

Selemenev Vladimir F. – Dr. Sci (Chemistry), head of Department of analytical chemistry of Voronezh state University, Voronezh. E-mail: common@chem.vsu.ru

Rudakova Lyudmila V. – Dr. Sci (Chemistry), head of Department of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology of Voronezh state medical University, Voronezh. E-mail: vodoley65@mail.ru