



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Обзорная статья

УДК 544

doi: 10.17308/sorpchrom.2022.22/9015

Высокоскоростная ВЭЖХ (краткий обзор)

Александр Яковлевич Яшин, Яков Иванович Яшин

Группа компаний «Сайтегра», Москва, Россия, yashin@scietegra.com

Аннотация. В кратком обзоре обобщены и обсуждены основные вопросы высокоскоростной жидкостной хроматографии, в частности, основные способы сокращения времени разделения: ультра-ВЭЖХ, хроматография на поверхностно-пористых сорбентах, высокотемпературная хроматография, хроматография на монолитных колонках. Во всех этих способах пути внешней и внутренней диффузии сокращаются различными способами, что ускоряет массообмен и позволяет использовать высокие скорости элюирования. Экспресс-методы используются в различных методах ВЭЖХ: обращенно-фазовый, капиллярный, поликапиллярный, гидрофильный, хиральный, противоточный, аффинный. Высокоскоростная жидкостная хроматография широко используется в фармакокинетике, для анализа лекарственных средств в фармацевтике, при промышленном анализе быстрых процессов, для анализа качества и безопасности пищевых продуктов и напитков, для контроля загрязняющих веществ в окружающей среде. Данный вид хроматографии используется для разделения сложных многокомпонентных смесей: катехинов, теафлавинов в чае, хлорогеновых кислот в кофе, полифенолов и флавоноидов в овощах, фруктах и ягодах, стероидов, белков и жирных кислот в биологических жидкостях. Для детектирования в высокоскоростной жидкостной хроматографии используются наиболее распространенные системы детектирования: масс-спектрометрическая, диодно-матричная, ультрафиолетовая, светорассеивающая, флуоресцентная и другие. Экстракцию исследуемых соединений проводили как традиционными методами (твердофазный и жидкостно-жидкостный), так и микроволновой и жидкостной экстракцией при высоких давлениях. Высокоскоростная жидкостная хроматография используется для исследования взаимодействия лекарственного средства с белком, определения активных соединений в таблетках и определения компонентов запаха. Высокоскоростная жидкостная хроматография, несомненно, расширяет аналитические возможности высокоэффективной жидкостной хроматографии в различных жизненно важных областях, способствуя прогрессу высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для сверхбыстрой высокоэффективной жидкостной хроматографии необходима быстрая электроника в жидкостных хроматографах, некоторые компании начали разрабатывать такую электронику.

Ключевые слова: скорость анализа, ультра ВЭЖХ, поверхностно-пористые сорбенты, монолитные колонки, высокотемпературная хроматография, детектор, элюент

Для цитирования: Яшин А.Я., Яшин Я.И. Высокоскоростная ВЭЖХ (краткий обзор) // Сорбционные и хроматографические процессы. 2022. Т. 22, № 1. С. 6-11. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/9015>

Review

High-speed HPLC (Brief review)

Alexander Ya. Yashin, Yakov I. Yashin

Scietegra group, Moscow, Russia, yashin@scietegra.com

Abstract. This brief review summarises and discusses the main issues of high-speed liquid chromatography, in particular, the main methods of reducing separation time: UHPLC, surface-porous sorbent chromatography, high-temperature chromatography, and monolithic column chromatography. In all of these methods, the external and internal diffusion paths are shortened in different ways, which speeds up the mass transfer and allows the use of high elution rates. Express methods are used in different HPLC methods: reversed-phase, capillary, polycapillary, hydrophilic, chiral, countercurrent, and affinity. High-speed liquid chromatography is widely used in pharmacokinetics, for drug analysis in pharmaceuticals, for industrial analysis of rapid processes, for



quality and safety analysis of food and beverages, and to control environmental contaminants. This type of chromatography is used to separate complex multi-component mixtures: catechins, theaflavins in tea, chlorogenic acids in coffee, polyphenols and flavonoids in vegetables, fruits, and berries, as well as steroids, proteins, and fatty acids in biological fluids. For their detection in high-speed liquid chromatography, the most common detection systems are used: mass spectrometric, diode array, UV, light scattering, fluorescent detectors, and others. The studied compounds were extracted using both conventional methods (solid-phase and liquid-liquid extraction) and microwave and liquid-liquid extraction at high pressure. High-speed HPLC is used to study drug-protein interactions, determine active compounds in tablets, and identify odour components. There is no doubt that high-speed liquid chromatography extends the analytical potential of HPLC in various vital areas, contributing to the advancement of this technique. Ultrafast HPLC requires liquid chromatographs with fast electronics, and some companies have begun to develop such electronics.

Keywords: speed of analysis, UHPLC, surface-porous sorbents, monolithic columns, high-temperature chromatography, detector, eluent

For citation: Yashin A.Ya., Yashin YA.I. High-speed HPLC (Brief review). *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2022. 22(1): 6-11. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/9015>

Введение

В хроматографии, как в спорте, постоянное стремление быстрее, эффективнее, селективнее и чувствительнее. На начальном этапе развития жидкостной хроматографии (до 1970 г.) разделение длилось часами, пики были сильно размытыми. После появления высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) все указанные процессы стали стремительно совершенствоваться. С переходом на использование зерен сорбента размером с 100 мкм до 2-5 мкм скорость разделения сократилась в сотни раз, эффективность колонок возросла в сотни раз, чувствительность детектирующих систем возросла на несколько порядков.

Снижение времени разделения позволяет выполнять большее число анализов даже сложных смесей, сделать процесс анализа более производительным, уменьшить стоимость анализа. Основные области применения ВЭЖХ: фармакокинетика, метаболомика, протеомика, допинг-контроль, фармацевтика, клинические анализы, контроль загрязнений пищевых продуктов и окружающей среды, промышленный контроль быстрых и непрерывных процессов и др.

Основные направления снижения времени анализа в ВЭЖХ

Основные пути повышения скорости

разделения в ВЭЖХ это уменьшение диаметра зерен сорбентов в колонке (менее 2 мкм), т.е. применение ультра ВЭЖХ (УВЭЖХ), сокращение путей внутренней диффузии за счет применения пористо-пористых сорбентов, применение современных монолитных колонок с малым сопротивлением потоку и высокотемпературная хроматография. В табл. 1 приведены эти направления развития высокоскоростной ВЭЖХ, их преимущества и недостатки.

УВЭЖХ широко применяется в настоящее время, кроме сокращения времени разделения в несколько раз и повышения эффективности в 2-3 раза, уменьшается размывание пиков и увеличивается их высота, что приводит к повышению чувствительности анализа. Колонки с пористо-пористыми сорбентами с размером частиц 3 мкм по техническим характеристикам не уступают колонкам с частицами 2 мкм в УВЭЖХ. Монолитные колонки на основе силикагелей впервые разработаны фирмой Merk еще в 2000 году под названием Chromolith. Эти колонки имеют биомодальную структуру: транспортные поры размером 2 мкм и мезопоры размером 13 нм, за счет малого сопротивления потоку скорость элюента можно увеличить в 3-10 раз. Таким методом можно получить ультрабыстрое разделение компонентов за несколько секунд [1-6], можно состыковать до десяти колонок в ряд и получить общую эффек-

Таблица 1. Основные пути снижения времени разделения в ВЭЖХ

Table 1. Main methods of reducing separation time during HPLC

Основные пути	Преимущества	Недостатки	Ссылки
УльтраВЭЖХ	Применение колонок с размером зерен менее 2мкм, сокращение времени разделения, повышение эффективности колонок	Высокое входное давление, дорогое оборудование	14, 32, 36
Применение ППК	Ускоряется массообмен	Мал выбор ППК	8-11, 16, 17
Монолитные колонки	Малое входное давление, можно создавать длинные колонки	Мал выбор	12-14, 17, 20
Высокотемпературная хроматография	Уменьшаются удерживания и вязкость элюента, можно использовать воду как элюент, ДИП как детектор	Уменьшается стабильность сорбента и анализа	2

тивность более 100000 теоретических тарелок [4]. На обычных колонках длиной 15, 25 см такой эффективности достичь нельзя. На капиллярных монолитных колонках длиной более 10 м достигнута эффективность около миллиона теоретических тарелок [4]. В последние годы разработаны полимерные монолитные колонки на основе полиметакрилата, полистирола, полиакриламида и др. В высокотемпературной хроматографии скорость разделения увеличивается в 3-5 раз при 90°C и в 20 раз при 200°C.

Сорбенты, стабильно работающие до 200°C, на основе оксидов титана, циркония [2], а также углеродные адсорбенты [2]. Вязкость элюента с повышением температуры уменьшается, что позволяет использовать чистую воду в качестве подвижной фазы и пламенно-ионизационный детектор, который имеет высокую чувствительность ко всем органическим соединениям. Кроме того, вода при температуре выше 100°C становится универсальным растворителем, лучше растворяет неполярные и слабополярные соединения.

В последние годы интерес к ВСЖХ растет, вышли обзоры [1-8], расширились области применения в разных методах [9-17]. Режимы высокоскоростной хромато-

графии используются в обращенно-фазовой ВЭЖХ [13], капиллярной [18] и поликапиллярной [22, 23], противоточной [27], хиральной [16, 47-49] и аффинной хроматографии [19].

Диапазон применений ВСЖХ очень широк. В таблице 2 приведен список областей и объектов исследования методом ВСЖХ. Кроме того, высокоскоростная жидкостная хроматография применяется для исследования разных процессов, в частности, взаимодействия лекарств-белок [19], определение лекарств и маркеров в биологических жидкостях [36,39], лекарств в таблетках [15], контроль качества стандартных продуктов [46]. Основные объекты анализа: чай, кофе, какао, вино, пищевые продукты, лекарственные травы. Основные детекторы, используемые в ВСЖХ: масс-спектрометрический [14, 36, 38, 39], диодно-матричный [29], УФ-детектор [30], по светорассеиванию [41]. Для экстракции анализируемых соединений используют, кроме традиционных, твердофазную и жидкостно-жидкостную [7], микроволновую [28] и жидкостную экстракцию при высоких давлениях [42].

Заключение

ВСЖХ становится широко применяе-



Таблица 2. Применение ВСЖХ в некоторых областях и для разделения сложных смесей
Table 2. Application of high-speed HPLC in certain areas and for the separation of complex mixtures

Области и смеси соединений	Ссылки
1. Области применения	
Фармацевтика	19, 21
Фармакокинетика	24,25
Промышленный анализ	26
Анализ пищевых продуктов	7
Анализ загрязнителей окружающей среды	7,18
2. Перечень смесей	
Катехины	28
Теафлавины	28,29
Хлорогеновые кислоты	30
Полифенолы	32,33,36
Флавоноиды	42
Белки	37
Фосфолипиды	51
Стероиды	35
Пестициды	38
Полиароматические углеводороды (ПАУ)	34
Капсациноиды	48
Жирные кислоты	41,45
Анионы	20

мым методом в важных областях: фармацевтике, анализе пищевых продуктов, анализе загрязнителей окружающей среды, промышленном контроле, для анализа биологических жидкостей, анализ важных сложных смесей биологически активных соединений (катехинов, теафлавинов, хлорогеновых кислот, полифенолов, флавоноидов, стероидов, белков, жирных кислот и др.). Этот метод расширяет аналитические возможности ВЭЖХ в указанных областях. Процесс совершенствования продолжается, в частности, в создании высокоскоростной электроники, что позволяет разделять и регистрировать в течение 1 сек 6 компонентов: гистидин, глицин, аланин, аргинин, триптофан и фенилаланин [5,18].

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Список источников/References

1. Gidding J.C., *Anal. Chem.*, 1965, Vol. 37, pp. 60-63.
2. Yan B., Zhao J., Brown J.S., Blackwell J. et al., *Anal. Chem.*, 2000, Vol. 72, pp. 1253-1262.
3. Carr P.W., Stoll D.R., Wang X., *Anal. Chem.*, 2011, Vol. 83, pp. 1890-1900.
4. Guillarme D., Ruta J., Rudaz S., Veuthy J.L., *Anal. Bioanal. Chem.*, 2010, Vol. 397, pp. 1069-1082.
5. Kaplitz A.S., Kresge G.A., Selover B. et al., *Anal. Chem.*, 2020, Vol. 92, pp. 67-84.
6. Wahab M.F., Roy D., Armstrong D.W., *Anal. Chim. Acta*, 2021, Vol. 1151, pp. 288170.
7. Fast liquid chromatography-mass-spectrometry methods in food and environmental analysis. Eds. Nunez O., Gallart-Ayala H., Martins C.P.B., Lucci P., 2015, 624 p.
8. Kirkland J.J., *Anal. Chem.*, 1969, Vol. 39, pp. 1422-1428.
9. DeStefano J.J., Langlois T.J., Kirkland J.J., *J. Chrom. Sci.*, 2008, Vol. 46, pp. 254-260.



10. Hayes R., Ahmed A., Edge T., Zhang H., *J. Chrom. A*, 2014, Vol. 1357, pp. 36-52.
11. Luo C., DeStefano J.J., Langlois T.J. et al., *Biomedical Chromatography*, 2021, Vol. 35, pp. 1-28.
12. Guiochon G., *J. Chrom. A.*, 2007, Vol. 1168, pp. 101-168.
13. Gerber F., Krummen M., Polgetter H. et al., *J. Chrom. A.*, 2004, Vol. 1036, pp. 127-133.
14. Sharma U., Sharma N., Gupta A., *J. Sep. Sci.*, 2009, Vol. 32, pp. 3425-3481.
15. Alhazmi H.A., Moraya D.A., Alahdal E. et al., *Tropical J. Pharm. Res.*, 2018, Vol. 17, pp. 1127-1134.
16. Catani M., Ismail O.H., Gasparrini F. et al., *The analyst*, 2017, Vol. 142, pp. 555-566.
17. Tanaka N., Mc Calley D.V., *Anal. Chem*, 2016, Vol. 88, pp. 279-298.
18. Xiang P., Yang Y., Zhao Z., Chen M. et al., *Anal. Chem.*, 2019, Vol. 91, pp. 10738-10743.
19. Mallik R., Yoo M.J., Brisco C.J., Hage D.S., *J. Chrom. A.*, 2010, Vol. 1217, pp. 2796-2803.
20. Hatsis P., Lucy C.A., *Analyst*, 2002, Vol. 124, pp. 451-454.
21. Memon N., Qureshi T., Bhangar M.I., Imran M., *Current Analytical Chemistry*, 2019, Vol. 15, pp. 349-372.
22. Sidel'nikov V., *Analitika*, 2014, Vol. 6, pp. 40-55.
23. ZHDanov A.A., *Diplomnaya rabota. Kafedra analiticheskoy himii. Fakul'tet estestvennyh nauk. Novosibirskij gosudarstvennyj universitet*, 2011.
24. Spadaro A., Lorenti M., Zasa G., Rao M., *Pharmactutica Analytica Acta*, 2018, Vol. 9, pp. 12-21.
25. Palem C.R., Goda S., Dudhipala N.R. et al., *Amer. J. Anal. Chem.*, 2016, Vol. 7, pp. 12-21
26. Gomis D.B., Nunez N.S., Alvarez M.D.G., *J. Liq. Chrom.*, 2006, Vol. 29, pp. 931-948.
27. Wang K.B., Liu Z.H., Huang J.A. et al., *J. Chrom. B*, 2008, Vol. 867, pp. 282-286.
28. Rahim A.A., Nafrizal S., Soad B., *Food. Chem.*, 2014, Vol. 147, pp. 262-268.
29. Rana A., Singh H.P., *J. Liq. Chrom. Rel. Techn.*, 2012, Vol. 35, pp. 2272-2279.
30. Craig A.P., Fields C., Liang N. et al., *Talanta*, 2016, Vol. 154, pp. 481-485.
31. Navakova L., Spacil Z., Seifrtova H. et al., *Talanta*, 2020, Vol. 80, pp. 1970-1979.
32. Pan H.B., Zhang D., Li B. et al., *J. Chrom. Sci.*, 2017, Vol. 55, pp. 491-496.
33. Ranusova P., Matusikova I., Nemecek P., *Separations*, 2021, Vol. 8, pp. 13-19.
34. Godinho J.M. Lawhorn J., Bayes B.E., *J. Chrom. A.*, 2020, Vol. 1628, pp. 461432.
35. Karger B.L., Berry L.V., *Clin. Chem.*, 1971, Vol. 17, pp. 757-764.
36. Martinez-Huelamo M., Tulipani S., Jauregui O. et al., *Molecules*, 2015, Vol. 20, pp. 20409-20425.
37. Nugent K.D., Chapter in book «HPLC of peptides and proteins-separation, analysis and conformation» CRC Press 1991.
38. Ahumada D.A., Arias L.A., *J. Braz. Chem Soc.*, 2013, Vol. 24, pp. 1188-1197.
39. Oxelbark J., Lovenhamn A., *Scandinavian J. Clinic Lab.*, 2021, Vol. 81, pp. 401-405.
40. Barbero G.F. Liazid A., Ferreira-Gonzalez M. et al., *Inter. J. Food Prop.*, 2016, Vol. 19, pp. 984-992.
41. Hubert F., Loiseau C., Ergan F. et al., *Food Nutr. Sci.*, 2017, Vol. 8, pp. 1051-1062.
42. Chen X.J., Ji H., Zhang Q.W. et al., *J. Pharm. Biomed Anal.*, 2008, Vol. 46, pp. 226-235.
43. Greco G., Letzel T., *J. Chrom. Sci.*, 2013, Vol. 51, pp. 684-693.
44. Della Corte A., Chitarrini G., Di Gangi L.M. et al., *Talanta*, 2015, Vol. 140, pp. 52-61.
45. Ma Y.C., Wenga X.Q., Houa F.F. et al., *Nat. Prod. Commun.*, 2011, Vol. 6, pp. 645-650.
46. Barhate C.L., Joyce L.A., Makarov A.A. et al., *Chem. Commun. (Comb)*, 2017, Vol. 53, pp. 509-512.
47. Patel D.C., Breibach Z.S., Wahab M.F. et al., *Anal. Chem.*, 2015, Vol. 87, pp. 9137-9148.



48. Catoni M., Ismail O.H., Felliatti S. et al., *Anal. Chem.*, 2015, Vol. 87, pp. 5568-5576.
49. Poppe H., *J.Chrom.*, 1997, Vol. 778, pp. 3-21.
50. Letter W., *J. Liq. Chrom.*, 1992, Vol. 15, pp. 253-266.

Информации об авторах / Information about the authors

Я.И. Яшин – д.х.н., профессор, научный консультант компании «Интерлаб», Москва

А.Я. Яшин – к.х.н., старший научный сотрудник, Институт аналитической токсикологии, Москва

Ya.I. Yashin – Dr.Sci. (chemistry) professor, Scientific Consultant of Interlab, Moscow

A.Ya. Yashin – Dr.Sci. (chemistry), Senior Researcher, Institute of Analytical Toxicology LLC, Moscow

Статья поступила в редакцию 20.09.2021; одобрена после рецензирования 14.11.2021; принята к публикации 24.11.2021.

The article was submitted 20.09.2021; approved after reviewing 14.11.2021; accepted for publication 24.11.2021.