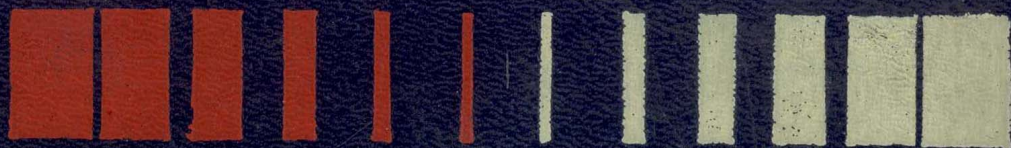


Хроматография



Практическое
приложение
метода

1

Хроматография

Практическое
приложение
метода

Journal of Chromatography Library—volume 22A, volume 22B

Chromatography

Fundamentals and Applications of
Chromatographic and Electrophoretic Methods

Part A: Fundamentals and Techniques

Part B: Applications

Edited by E. HEFTMANN

*Western Regional Research Center, U. S. Department
of Agriculture, Berkeley, CA 94710*

*Elsevier Scientific Publishing Company
Amsterdam — Oxford — New York*

Хроматография

Практическое приложение метода

Редактор Э. ХЕФТМАН

В 2-х частях

1

*Перевод с английского
канд. хим. наук А. В. РОДИОНОВА*

*под редакцией
д-ра хим. наук, проф. В. Г. БЕРЕЗКИНА*



Москва «Мир» 1986

ББК 24.5
Х94
УДК 543

Хефтман Э., Кастер Т., Нидервизер А., Кацимпулас Н.,
Куксис А., Кротью Р., Рональд Р.

Х94 **Хроматография. Практическое приложение метода.**
В 2-х ч. Ч. 1. Пер. с англ./Под ред. Э. Хефтмана. — М.:
Мир, 1986. — 336 с., ил.

Монография, написанная коллективом авторов США, Канады и Швейцарии, под редакцией американского ученого Э. Хефтмана посвящена хроматографии — важнейшему современному аналитическому методу, который широко используется в научных исследованиях и в промышленности для контроля и управления технологическими процессами. В практическом аспекте рассматриваются все основные хроматографические методы: жидкостная, плоскостная, газовая, ионообменная хроматографии, гель-хроматография, электрофорез. В части 1 рассмотрена хроматография аминокислот, олигопептидов, белков, липидов, терпенов и стероидов.

Предназначается для специалистов в области химии, биохимии, медицины, фармацевтической промышленности, для служб по охране окружающей среды.

1804000000-358
Х 041(01)-86—91-86, ч. 1

ББК 24.5

Монография

Эрик Хефтман, Томас Кастер, Алоис Нидервизер и др.

ХРОМАТОГРАФИЯ

ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИЛОЖЕНИЕ МЕТОДА

Часть 1

Старший научный редактор Р. И. Краснова. Младший научный редактор И. И. Землячева.
Художник Г. М. Чековский. Художественный редактор М. Н. Кузьмина.
Технический редактор Т. А. Максимова. Корректор В. И. Киселева.

ИБ № 5431

Сдано в набор 17.02.86. Подписано к печати 24.07.86. Формат 60×90¹/₁₆. Бумага типограф-
ская № 1. Печать высокая. Гарнитура литературная. Объем 10,50 бум. л. Усл. печ. л.
21,00. Усл. кр.-отт. 21,00. Уч.-изд. л. 23,81. Изд. № 3/4143. Тираж 7350 экз. Зак. 148.
Цена 1 р. 60 к.

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР». 129820, ГСП, Москва, И-110, 1-й Рижский пер., 2.

Московская типография № 11 Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР
по делам издательств, полиграфии и книжной торговли 113105, Москва, Нагатинская
ул., д. 1

Редакция литературы по химии

© Elsevier Scientific Publishing Company, 1983

© перевод на русский язык, «Мир», 1986

Предисловие редактора перевода

Хроматография в настоящее время является наиболее широко используемым аналитическим методом. Она активно применяется в научных исследованиях, в различных отраслях промышленности, в медицине, а также для контроля окружающей среды. Исследуя состав разнообразных сложных смесей, хроматография выполняет одну из важнейших задач химической науки, о которой говорил еще М. В. Ломоносов в «Слове о пользе химии». «К точному и подробному познанию какой-либо вещи, — писал он в 1751 г., — должно знать части, которые оную составляют. И хотя в нынешние века изобретенные микроскопы силу зрения нашего так увеличили, что в едва видимой пылинке весьма многие части ясно распознать можно, однако сим полезные инструменты служат только к исследованию органических яв частей, каковы суть весьма тонкие и невидимые простым глазом пузырьки и трубочки, составляющие твердые части животных и растущих веществ; а тех частиц, из которых состоят смешанные материи, особливо зрению представить не могут. И потому познание оных только через химию доходить должно».

Важными особенностями хроматографии, открытой в начале нашего столетия М. С. Цветом, являются высокая селективность, большая чувствительность и универсальность. Хроматография применима для исследования практически всех веществ: газообразных, жидких и твердых. Необычайно широк и круг анализируемых этим методом объектов — от полимеров, пищевых продуктов, микроорганизмов, белков, нефти, металлов, руд до атмосферы планет Солнечной системы и состава лунного грунта.

Хроматография, таким образом, вносит важный вклад в решение одного из важнейших направлений химической науки — аналитической химии. Новое «хроматографическое зрение» химика позволило сделать много важных открытий. В частности, свыше десяти Нобелевских премий было присуждено за исследования, в которых активно использовались хроматографические методы.

Для выполнения хроматографического анализа применяется стандартное, коммерчески доступное оборудование, причем процесс анализа как в промышленности на потоке, так и в условиях лаборатории часто проводится в автоматическом режиме.

Быстрое развитие хроматографических методов, иногда в течение всего нескольких лет, приводит к существенному изменению используемых на практике методов и к изменению методик, применяемых в анализе химических соединений определенного класса. Поэтому для аналитика-хроматографиста, пожалуй, в большей мере, чем для работающего в другой области аналитической химии, необходимо внимательно следить за появлением и практическим использованием новых методов и аналитических приемов в хроматографии. Важную роль в этом направлении хроматографисту могут оказать монографии, в которых рассматривается приложение метода к аналитическому исследованию важнейших классов химических соединений.

Двухтомная монография «Хроматография» под редакцией Э. Хефтмана, вышедшая недавно за рубежом четвертым изданием, является ценным руководством, особенно по хроматографическому анализу важных групп химических соединений. Переведенная на русский язык часть книги, в которую вошли полностью 2-й том и одна глава из 1-го тома, охватывает важные классы соединений, представляющие интерес для биохимии, медицины, фармацевтической промышленности, сельского хозяйства, химической промышленности и других отраслей народного хозяйства.

Отдельные главы книги написаны исследователями, являющимися признанными авторитетами в данной области. Несомненно, достоинством книги является то, что хроматографическое определение отдельных классов соединений рассмотрено с привлечением различных хроматографических и электромиграционных методов.

Содержание книги представляет интерес для широкого круга читателей-аналитиков и всех специалистов, использующих хроматографические методы в своей работе. Мы надеемся, что перевод книги Э. Хефтмана на русский язык будет способствовать повышению эффективности практической работы многих химиков и аналитиков и способствовать дальнейшему расширению областей применения и развитию хроматографических методов.

В. Березкин

Предисловие

Настоящая книга представляет собой четвертое издание классического труда по хроматографии, выпускаемого под редакцией Эриха Хефтмана. Предисловия к предыдущим изданиям, первое из которых вышло в свет 20 лет назад, были написаны ведущими исследователями в данной области. Я не принадлежу к их числу, хотя и имел некоторое отношение к хроматографии.

Вспоминаю свою первую встречу с Лазло Цехмейстером — одним из выдающихся основоположников метода хроматографии, состоявшуюся примерно в 1940 г. во время одного из его первых визитов в Беркли (возможно, это было вообще его первое посещение Беркли). В это время истек срок моей работы у Гильберта Ньютона Льюиса в качестве его ассистента. Льюис представил меня Цехмейстеру и при этом выразил неподдельное восхищение хроматографическим методом разделения веществ, который, как он мне сказал, был открыт много лет назад русским ученым с легкозапоминающейся фамилией Цвет. За год или два до этой встречи мы с Льюисом предприняли попытку усовершенствовать метод разделения близкородственных редкоземельных элементов, и поэтому нас чрезвычайно заинтересовало все, что рассказал нам Цехмейстер о хроматографии.

Мое следующее соприкосновение с хроматографией произошло лишь спустя два года. Во время войны я работал в лаборатории металлургии Чикагского университета. Передо мной стояла задача разработать промышленный метод выделения тогда еще нового элемента плутония, присутствовавшего в незначительных количествах в смеси урана и высокорadioактивных продуктов его распада, причем технологическая схема должна была предусматривать дистанционное управление процессом. Вспомнив свои беседы с Цехмейстером, я включил колоночную хроматографию на неорганических сорбентах в число различных методов разделения, которые предстояло исследовать работавшей со мной группе химиков. Однако такой подход не выдержал конкуренции со стороны более понятного в то время метода соосаждения.

Тем не менее всего лишь через несколько лет мы вновь обратились к методу хроматографии, и на этот раз нас ожидал потрясающий успех. Для разделения трансплутониевых элементов, катионы которых преимущественно трехзарядны, и для

их отделения от редкоземельных элементов мы использовали колоночную хроматографию на органических ионообменных смолах. Лично для меня результаты этих экспериментов имели особое значение, поскольку открывали возможность убедить даже скептиков в справедливости «актиноидной концепции» расположения трансурановых элементов в периодической таблице.

Естественно, мои заметки о хроматографии касаются весьма частной проблемы в стремительно разросшейся области исследований — области, всесторонне представленной в этом новом издании книги. Набор современных методов и способов хроматографии столь разнообразен, а диапазон их использования в различных областях химии, биохимии и в других сферах деятельности столь широк, что их невозможно отразить в предисловии. Некоторое представление об этом можно составить, взглянув на содержание книги. Представленные здесь обзоры написаны высококвалифицированными специалистами, что обеспечивает широкий охват различных аспектов рассматриваемых проблем.

Это новейшее издание книги по хроматографии будет с радостью встречено всеми исследователями, работа которых связана с разделением различных веществ, а также послужит хорошим справочником и для более широкого круга читателей.

Гленн Т. Сиборг

Беркли, Калифорния
июль 1982 г.

Предисловие редактора американского издания

В 1954 г. при поддержке отдела аспирантуры министерства сельского хозяйства США я начал читать курс хроматографии для работающих в районе Вашингтона специалистов, и с тех пор меня не покидала мысль ознакомить более широкую аудиторию с теорией и практикой хроматографии и электрофореза. Прекрасно сознавая, что один человек не в состоянии выбрать самые важные аспекты проблем, рассматриваемых в весьма обширной литературе по этим вопросам, я обратился за помощью к некоторым наиболее известным в своей области специалистам по хроматографии и электрофорезу, и в результате наших коллективных усилий в 1961 г. вышла в свет первая книга под названием «Хроматография». Быстрый рост объема литературы, а также хороший прием, оказанный первому изданию книги, побудили меня выпустить второе издание в 1967 г. «Хроматография» была вновь переработана в 1975 г., после того как произошло слияние книжного издательства «Renhold Publishing Corporation», опубликовавшего первые два издания книги, с издательством «Van Nostrand».

И вот снова пришло время пересмотреть материал с позиций современного состояния проблем, связанных с хроматографией и электрофорезом. Однако поскольку за период с 1975 г. произошли серьезные изменения в этой области, а также в силу того, что теперь публикацию «Хроматографии» осуществляет издательство «Elsevier Scientific Publishing Company», мне хотелось, чтобы это была новая книга, а не переработанное издание. В подготовке этой книги, сохранившей удачный формат предыдущих изданий, приняли участие лишь несколько моих прежних соавторов. Я попытался на конкретных примерах продемонстрировать использование наиболее современных и важных методов разделения веществ и по возможности исключить описание уже устоявшихся или устаревших методов. Полагаю, что новому коллективу авторов удалось в новом свете представить области их исследований.

Мои функции как редактора издания состояли в том, чтобы определить структуру книги, привлечь к ее написанию известных в своей области преподавателей и исследователей, посоветовать, какие моменты следует отразить или опустить в той или иной главе, а затем выработать некую приемлемую для учебника форму изложения материала, которая вместе с тем позволила бы сохранить индивидуальность точек зрения каждого из авторов. В общем, я сделал все, что было возмож-

но при работе с людьми, которые обладают весьма своеобразным характером и по праву гордятся своими достижениями. Я чрезвычайно признателен моим соавторам не только за их личный вклад в эту книгу, но и за помощь в ее редактировании.

Эрих Хефتمان

Оринда, Калифорния

Предисловие к русскому изданию

Это четвертое издание книги, которая к настоящему времени приобрела репутацию настольного справочника по хроматографии. Что касается предыдущего издания, то оно состоит из двух частей, одна из которых посвящена теории и аппаратному оформлению методов разделения веществ, а вторая — практическому приложению хроматографии. Поскольку первая часть по своему содержанию во многом дублирует уже опубликованные в Советском Союзе книги, издательство «Мир» решило включить в настоящее издание только мою вводную главу из этой части; вторая часть приведена полностью.

Конечно, любому автору хотелось бы, чтобы его книга дошла до широкой аудитории, и поэтому ему очень приятно увидеть свою работу переведенной на другие языки. Особое удовольствие, которое я испытываю, представляя читателям русский перевод книги, обусловлено еще двумя причинами. Во-первых, своим появлением в научном арсенале хроматография обязана России, и поэтому представляется вполне естественным, чтобы советские ученые получили еще более глубокое и всестороннее представление о современном состоянии исследований в этой области. Во-вторых, появлению этого перевода способствовал один из известнейших советских хроматографистов-практиков — профессор В. Г. Березкин.

Когда наши советские коллеги будут читать эту книгу, они, несомненно, еще раз осознают и грандиозность тех вершин, которых достиг метод, предложенный русским ботаником М. С. Цветом всего 80 лет назад, и свое законное место на переднем крае теоретических и прикладных исследований в области хроматографии.

Эрих Хефتمان

Оринда, Калифорния

Глава 1

Обзор методов хроматографии и электрофореза

Эрих Хефтман

1.1. Классификация

Хроматография и электрофорез — два наиболее важных дифференциальных миграционных метода [1—3].

Большинство химических процессов, в том числе и химический анализ, включают стадию разделения смесей на индивидуальные компоненты, например фильтрацию, экстракцию, перегонку или электролиз. Дифференциальные миграционные методы применяются для разделения смесей путем принудительного перемещения их компонентов в различные участки системы.

На рис. 1.1 представлена схема разделения смеси трех компонентов (*A*, *B* и *B*), первоначально занимавшей прямоугольную зону, путем ее перемещения направо. Если миграционный путь достаточно велик по сравнению с шириной исходной зоны образца (рис. 1.1, *a*), наиболее подвижный компонент *A* полностью отделится от менее подвижного компонента *B*, который в свою очередь «обгонит» наиболее медленно перемещающийся компонент *B*. Однако если ширина исходной зоны образца соизмерима с длиной миграционного пути (рис. 1.1, *b*), от смеси отделится только некоторое количество наиболее и наименее подвижных компонентов (соответственно *A* и *B*), а компонент *B* вообще не удастся выделить. Если смесь подается в систему непрерывно (рис. 1.1, *в*), в чистом виде удастся получить лишь небольшое количество компонента *A*, а компоненты *B* и *B* в этом случае выделить невозможно.

В соответствии с изложенным различают три типа дифференциальных миграционных методов. Если необходимо выделить компоненты смеси в виде индивидуальных веществ, выбирают метод миграции из узкой зоны (рис. 1.1, *a*), а в аналитических целях можно использовать миграцию из широкой зоны (рис. 1.1, *b*), т. е. фронтальный анализ*, и даже миграцию при

* Этот метод обычно называют импульсным фронтальным (см. Яновский М. И., Газиев Г. А. В кн.: Газовая хроматография. — М.: Наука, 1964, с. 79), а метод, идея которого представлена на рис. 1.1, *в*, — фронтальным (см., например, Шай Г. Теоретические основы хроматографии газов. — М.: ИЛ, 1963). — *Прим. ред.*

непрерывной подаче смеси веществ, или метод непрерывного потока (рис. 1.1, в) [4]. Дифференциальная миграция из широкой зоны применяется, в частности, при проведении анализа белков сыворотки методом электрофореза с подвижной границей, а метод непрерывного потока — при определении состава растворенных в воде солей с помощью ионообменной хроматографии. Однако оба этих метода анализа к настоящему времени устарели, и поэтому мы рассмотрим только зональные

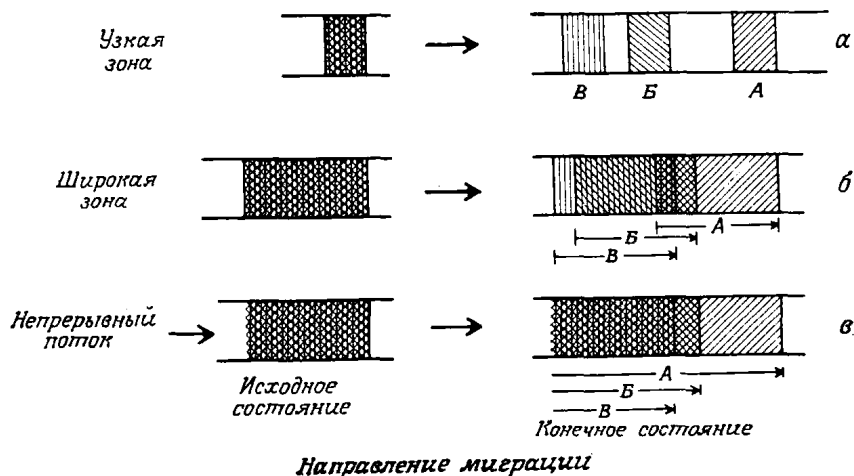


Рис. 1.1. Схема дифференциальной миграции трех компонентов смеси.

Если исходная зона образца достаточно узкая (а), компоненты полностью разделяются, при более широкой исходной зоне (б) области распределения компонентов перекрываются. При непрерывном потоке образца (в) в чистом виде можно получить только наиболее подвижный компонент А.

методы, т. е. основанные на миграции веществ из узких зон, причем основное внимание уделим современной хроматографии и зонному электрофорезу, а такие методы, как, например, зональная очистка и зональное ультрацентрифугирование, вообще исключим из рассмотрения.

Дифференциальная миграция веществ из узкой зоны происходит под действием некой движущей силы. В хроматографии такой силой является поток жидкости или газа, и по этому признаку хроматографические методы целесообразно разделить на два класса: жидкостную (ЖХ) и газовую хроматографию (ГХ). В электрофорезе движущей силой является внешнее электрическое поле. Разделяемые вещества перемещаются в определенной среде, обычно стабилизированном растворе электролита. Хроматографическое разделение проводится в жидкой или твердой среде, т. е. протекает в двухфазной системе, в которой подвижная фаза (жидкость или газ) перемещается отно-

сительно жидкой или твердой неподвижной фазы. В соответствии с природой подвижной и неподвижной фаз различают следующие типы хроматографии*: жидко-жидкостную (ЖЖХ), жидко-твердофазную (ЖТХ), газо-жидкостную (ГЖХ) и газо-твердофазную (ГТХ).

Взаимодействие разделяемых веществ с неподвижной фазой в той или иной степени препятствует их свободному перемещению с потоком жидкости или газа и, как следствие, снижает скорость их движения. Иногда довольно трудно определить механизм взаимодействия вещества с неподвижной фазой, и поэтому для обозначения таких процессов используют расплывчатый термин «сорбция», а неподвижную фазу называют «сорбентом». В процессе хроматографического разделения молекулы веществ многократно проходят этапы сорбции и десорбции, т. е. скорость их перемещения относительно неподвижной фазы постоянно меняется от нуля до скорости потока газа или жидкости. Этот динамический процесс и лежит в основе хроматографического разделения. В рамках упрощенной «тарелочной модели» его описание подчиняется тем же законам, что и фракционная перегонка, и мерой его эффективности является высота, эквивалентная теоретического тарелке (ВЭТТ).

Термин «хемосорбция» используется некоторыми авторами для обозначения специфических взаимодействий вещества с сорбентом, таких, как ионный обмен, окислительно-восстановительные процессы, образование комплексов и т. п. Так, например, при хроматографическом разделении олефинов на сорбентах, пропитанных нитратом серебра, имеет место хемосорбция, обусловленная образованием π -комплексов.

Твердые неподвижные фазы удерживают компоненты смеси в результате адсорбции, абсорбции и других типов взаимодействия, а жидкие неподвижные фазы сорбируют их, выступая, как правило, в роли растворителя. При проведении электрофореза и многих типов хроматографического разделения неподвижность жидкой фазы обычно обеспечивается путем сорбции на инертном твердом носителе — так называемой подложке. В процессе газовой или жидкостной хроматографии разделяемые вещества распределяются между подвижной фазой и неподвижной жидкостью. Согласно общепринятой схеме класси-

* В советской научной литературе жидко-твердофазную хроматографию называют также жидко-адсорбционной, а газо-твердофазную — газо-адсорбционной (см., например, Киселев А. В., Яшин Я. И. Адсорбционная газовая и жидкостная хроматография. — М.: Химия, 1979).

Отметим также, что в иностранной и советской литературе все чаще вместо термина «газо-жидкостная хроматография» используется термин «газо-жидкотвердофазная хроматография», что позволяет отразить все основные фазы, принимающие участие в хроматографическом процессе. — *Прим. перев.*

фикации хроматографических процессов, построенной в соответствии с принципом процесса разделения, различают адсорбционную, распределительную, ионообменную, вытеснительную, аффинную и другие типы хроматографии, хотя обычно осуществляется одновременно несколько из указанных процессов.

Фактически названия многих хроматографических и электрофоретических методов отражают не механизм процесса, а характер фаз или способ разделения. Буквальное восприятие таких названий очень часто вводит в заблуждение начинающих исследователей, и поэтому неоднократно предлагалось заменить такого рода названия на более информативные. Однако поскольку большинство предпринятых с благими намерениями попыток упразднить популярные названия потерпело неудачу, представляется более разумным расшифровать их, чем вводить новые [5]. Ведь в конце концов даже термин «хроматография» можно признать неподходящим, поскольку методы разделения этого класса не имеют ничего общего с «написанием в цвете».

1.2. Колоночная хроматография

Вообще говоря, колоночную хроматографию следовало бы называть жидкостной колоночной хроматографией, чтобы отличить ее от газовой, которая также проводится на колонках. Однако, поскольку в газовой хроматографии иное аппаратное оформление принципиально исключено, термин «колоночная хроматография» служит для обозначения методов хроматографии на колонках, в которых подвижной фазой является жидкость. Неподвижную фазу, которая представляет собой более или менее тонкоизмельченное твердое вещество, упаковывают в определенного вида трубку. В полученную в результате колонку вводят образец, и в том же направлении подают растворитель. В оптимальных условиях компоненты смеси переносятся подвижной фазой (элюентом) с различной скоростью, которая зависит от их относительного сродства к неподвижной и подвижной фазам (рис. 1.2).

Если трубка изготовлена из прозрачного материала, а компоненты смеси окрашены, движение хроматографических зон, или полос, вдоль колонки можно наблюдать непосредственно (рис. 1.2, а). На заре хроматографии экспериментатор по окончании разделения извлекал носитель из колонки, разрезал его на зоны и отдельно экстрагировал каждое вещество, используя иногда для обнаружения зон УФ-освещение или соответствующие цветные реакции. В настоящее время такая процедура извлечения веществ из колонки используется только при применении так называемых «сухих колонок», представляющих собой наполненные сорбентом тонкостенные пластмассовые труб-

ки в форме колбасок, которые можно легко разрезать на зоны по окончании разделения. В общем случае разрешающая способность колонки определяется ее длиной, а емкость — внутренним диаметром. В уже забытом варианте препаративной хроматографии использовались колонки, собранные из отдельных секций с последовательно уменьшающимся внутренним диаметром (составные колонки).

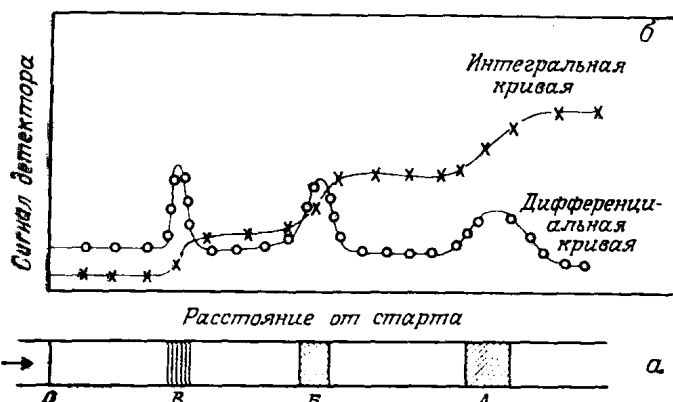


Рис. 1.2. Изображение хроматограммы или электрофореграммы.

С потоком элюента или под действием электрического поля компоненты А, Б и В исходной смеси (0) перемещаются в направлении, указанном стрелкой. Полученная картина взаимного расположения зон представляет собой хроматограмму или электрофореграмму (а), которые с помощью сканирующего устройства можно изобразить графически (б). В проявительной или газовой хроматографии результаты обнаружения компонентов смеси на выходе из колонки представляют в виде соответствующей кривой, которую также называют хроматограммой. Кривая, построенная в координатах концентрация компонента — время, прошедшее с начала разделения, объем элюата или расстояние от старта, представляет собой серию пиков (дифференциальная кривая). Если же по ординате откладывают суммарное количество обнаруженных к данному моменту компонентов, то получают имеющую ступенчатую форму интегральную кривую.

В современной колоночной хроматографии вытекающий из колонки раствор (элюат) пропускают через соответствующий детектор, а затем с помощью автоматического коллектора или вручную собирают в виде отдельных фракций. Результаты обнаружения веществ в элюате представляют в виде хроматограммы (рис. 1.2, б).

Ширина хроматографических зон или соответственно полуширина пика на хроматограмме и отвечающий ему объем элюата — иными словами, разрешающая способность колонки — зависят от многих факторов. Некоторые из них, известные под собирательным термином «диффузия», способствуют размыванию и перекрыванию хроматографических зон. Чтобы уменьшить влияние диффузии и тем самым повысить разрешающую способность колонки, используют мелкозернистые однородные сорбенты. Однако, поскольку гидродинамическое сопротивление

мелких частиц сорбента потоку жидкости довольно высоко, элюент необходимо подавать на колонку под давлением. Поэтому такой метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) известен также под названием «жидкостная хроматография высокого давления» [6—13].

Частицы сорбента могут быть мелкопористыми и неоднородными по форме и размерам (например, силикагель [14]) или представлять собой сферические ядра (шарики), покрытые сорбционным слоем, полученным путем адсорбции либо, что более предпочтительно, с помощью соответствующей химической реакции (химически связанные фазы [15]). Колонки, наполненные такими сферическими частицами с поверхностно-пористым слоем, обладают большей эффективностью, но меньшей емкостью по сравнению с колонками, содержащими объемно-пористые частицы. Иногда улучшения разделяющей способности колонки достигают путем программируемого изменения давления или скорости потока растворителя. Для обнаружения и количественного определения веществ в элюате служат различные детекторы [16]. Из числа детекторов, применяемых в ВЭЖХ, наиболее универсальны дифференциальные рефрактометры (позволяющие измерять разность коэффициентов преломления элюента и элюата) и проточные детекторы, обычно используемые в газовой хроматографии. Применение УФ- и ИК-спектрофотометров ограничено теми случаями, когда молекулы анализируемых веществ содержат хромофорные группы, область поглощения которых не перекрывается с областью поглощения элюента.

В хроматографии (и до некоторой степени и в электрофорезе) образец часто подвергают некой химической обработке с целью получить более простую смесь веществ, увеличить ее растворимость, изменить летучесть компонентов, улучшить их разделение или увеличить чувствительность определения. Последнее достигается, например, путем превращения веществ в флуоресцирующие производные [17]. Выбор метода такой обработки определяется следующими требованиями: реакция должна быть количественной, не давать побочных продуктов и не требовать чрезмерного избытка реагентов. В некоторых автоматических анализаторах предусмотрена химическая модификация соединений, выходящих из колонки, т. е. элюат подвергается определенной химической обработке, в результате которой образуются окрашенные или флуоресцирующие производные анализируемых веществ.

Известен такой вариант колоночной хроматографии, в котором элюент перемещается по колонке под действием центробежной силы [18], а не давления. В этом случае колонка представляет собой своего рода зональный ротор центрифуги, вдоль