

УДК 543.544 : 543.4 : 547.40

**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ МИКРОАНАЛИЗ  
ХРОМАТО-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ**

*Костюковский Я. Л., Меламед Д. Б.*

Рассмотрены химические реакции с участием ряда важнейших функциональных групп, пригодные для получения легко детектируемых соединений. Обсуждены возможности комплексного применения химических реакций, тонкослойной и колоночной жидкостной хроматографии и спектрометрических методов для функционального микронализа органических веществ.

Библиография — 296 ссылок.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение . . . . .	338
II. Основы реакционного хромато-спектрометрического анализа . . . . .	339
III. Методы идентификации органических соединений по функциональным группам . . . . .	341
IV. Заключение . . . . .	358

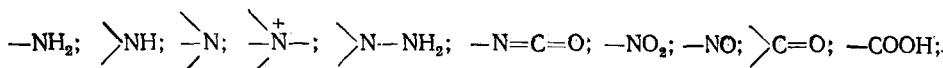
**I. ВВЕДЕНИЕ**

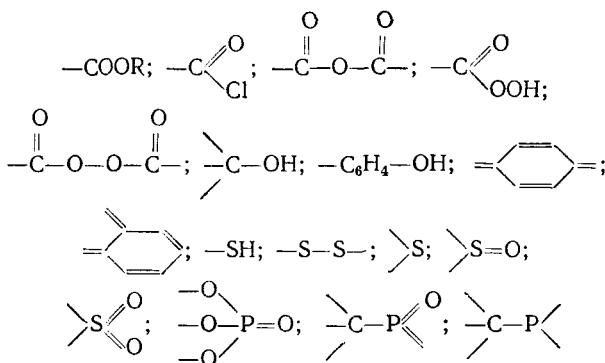
Аналитическая реакционная хроматография включает в себя химические методы дериватизации анализируемых веществ, проведение хроматографического разделения и детектирование соответствующих производных. Реакционные методы, существенно расширяющие возможности традиционных хроматографических методов, нашли широкое практическое применение для анализа органических веществ в окружающей среде, промышленном и сельскохозяйственном производстве, медицине, фармакологии и т. д. Особенно перспективно применение реакционной хроматографии для определения следовых количеств различных соединений в сложных смесях. Большой интерес реакционная хроматография представляет и для функционального анализа.

В последние годы наметились две основные тенденции развития функционального анализа органических веществ — создание микрометодов определения функциональных групп [1—3] и применение таких методов в комбинации с хроматографическим разделением.

Наиболее детально разработаны и описаны газохроматографические методы функционального анализа [4—6]. Полученные к настоящему времени материалы по применению тонкослойной (TCX) и колоночной жидкостной хроматографии в сочетании с различными методами детектирования, в частности, спектрометрическими, пока не систематизированы и не рассмотрены с точки зрения их пригодности для функционального анализа. Возможности таких методов несколько шире, чем газохроматографических, так как они позволяют проводить анализ не только летучих, но и многих нелетучих, а также недостаточно стабильных соединений. Проведение химических реакций для получения легко детектируемых производных в сочетании с высокой разрешающей способностью TCX и колоночной жидкостной хроматографии и с методами спектрометрии позволяет успешно осуществлять функциональный анализ органических соединений в количестве до нескольких нанограммов.

В настоящем обзоре рассмотрены химические реакции, применяемые для дериватизации ряда важных функциональных групп органических соединений:





и обобщены основные результаты работ по определению производных с помощью комбинации ТСХ и колоночной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией, спектрометрией в ультрафиолетовой и видимой областях и спектрофлуориметрией.

## II. ОСНОВЫ РЕАКЦИОННОГО ХРОМАТО-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Для превращения анализируемых веществ в легко разделяемые и детектируемые производные предложены многочисленные химические реакции. Особенно большое число исследований посвящено реакционной колоночной хроматографии. Эти исследования позволили найти оптимальные условия синтеза производных органических соединений различных классов. При этом химические реакции, применяемые для функционального анализа в сочетании с хромато-спектрометрическими методами, могут проводиться как до хроматографического разделения — для превращения функциональных групп анализируемых веществ в удобные для разделения и детектирования производные, так и после разделения — для обнаружения функциональных групп.

Химические реакции должны быть селективными по отношению к отдельным функциональным группам, однако на практике это требование часто не выполняется. В связи с этим при анализе сложных образцов для более надежной идентификации применяют несколько реакций.

Для проведения анализа используют две основные схемы: 1) получение производных, затем их хроматографическое разделение и спектрометрическое определение; 2) хроматографическое разделение анализируемых веществ, затем проведение химических реакций и спектрометрическое определение. В зависимости от выбранного пути к реакциям предъявляют соответствующие требования. При проведении анализа по первой схеме для получения производных используют реагенты, которые взаимодействуют с функциональными группами и образуют с выходом, близким к количественному, стабильные, хорошо разделяемые и легко детектируемые вещества [7—10]. Хромато-спектрометрические методы обычно применяют для производных, интенсивно поглощающих в ультрафиолетовой и видимой областях спектра. С помощью масс-спектрометрии, характеризующейся большими идентификационными возможностями, в принципе можно определять любые производные, однако целесообразнее, чтобы они образовывали интенсивные молекулярные и характеристические осколочные ионы [11—15, 19—21].

Обычно производные получают вне хроматографических приборов, однако возможно проведение дериватизации непосредственно на пластинах для ТСХ или в жидкостном хроматографе. В последнем случае применяют реакции, протекающие с высокой скоростью. Производные полифункциональных соединений получают в результате реакций с одной или несколькими группами, причем последнее предпочтительнее, так как улучшает избирательность хромато-спектрометрических методов. Дериватизация функциональных групп анализируемых веществ до проведения жидкостной хроматографии во многих случаях весьма эффективна,

так как она облегчает не только разделение и детектирование, но и интерпретацию результатов, а также повышает надежность определения.

Согласно второй схеме, анализируемые вещества сначала хроматографируют, а затем идентифицируют на пластинках и в элюатах после превращения с помощью различных химических реакций в легкодетектируемые соединения. Сравнительно просто осуществляется выбор реакций для визуализации анализируемых веществ на пластинках после ТСХ. К реагентам, применяемым в жидкостных хроматографах, предъявляются более жесткие требования: высокая скорость взаимодействия, что особенно важно при работе в непрерывном режиме; избыток реагента не должен мешать детектированию [7, 9, 10]. Следует отметить, что многие типы современных жидкостных хроматографов снабжены реакторами для получения легкодетектируемых соединений [7, 9, 10, 16]. Для разделения до дериватизации важен подбор хроматографических условий с учетом свойств функциональных групп анализируемых веществ. Так, например, для соединений кислотного или основного характера часто применяют ионообменную или обращенно-фазную ион-парную хроматографию [7, 10, 17, 18].

Наиболее надежным методом идентификации разделенных анализируемых соединений или их производных является масс-спектрометрия [11, 19—21]. После разделения смеси методами ТСХ или колоночной жидкостной хроматографии элюаты отдельных фракций концентрируют и затем вводят в масс-спектрометр. В более совершенных приборах используют комбинированные системы, состоящие из газового хроматографа, масс-спектрометра и ЭВМ. В последнее время разрабатываются также системы, обладающие более широкими аналитическими возможностями, чем существующие, и включающие жидкостной хроматограф, масс-спектрометр и ЭВМ [11, 20, 22]. Однако до сих пор такие системы применяли главным образом для исследовательской работы, а также для подтверждения результатов анализов, выполненных другими методами. Значительно чаще функциональные группы разделенных веществ идентифицируют с помощью УФ-спектрофотометров или спектрофлуориметров, а после ТСХ — визуально или с помощью денситометров и других устройств [7, 9, 10, 18, 23]. Наряду с измерением интенсивностей в спектрах поглощения или флуоресценции в сложных случаях рекомендуют применять детектирование при двух или нескольких длинах волн [24, 25].

Хромато-спектрометрические методы отличаются высокой чувствительностью; предел детектирования с помощью масс-спектрометров и флуориметров составляет  $10^{-9}$ — $10^{-12}$  г (при применении лазеров — до  $10^{-20}$  г), УФ-спектрофотометров —  $10^{-8}$ — $10^{-9}$  г, по окраске —  $10^{-6}$ — $10^{-7}$  г вещества в пробе.

Количественное определение идентифицированных веществ проводят обычными методами, используемыми в хроматографии и спектрометрии [7, 9, 11, 18, 23, 24, 26, 27].

Успех анализа реакционными хромато-спектрометрическими методами в значительной степени определяется качеством подготовки проб, которая является сложной и ответственной стадией. Особенно важное значение она имеет при определении микроколичеств соединений в реальных объектах, например, в окружающей среде, биологических средах, пищевых продуктах и др. Это связано с необходимостью извлечения микропримесей из весьма сложных смесей, где концентрации анализируемых соединений во много раз меньше концентраций других компонентов.

В настоящем обзоре нет возможности подробно рассмотреть способы подготовки проб к анализу и проведения предварительного исследования. Некоторые данные, касающиеся этих операций, приведены в работах [7, 28—32]. Мы остановимся только на некоторых важных деталях, которые, по нашему мнению, целесообразно учитывать при проведении хромато-спектрометрического анализа. Существенное значение для экстракции анализируемых веществ имеет применение смесей растворите-

лей разной полярности, а также введение в такие смеси противоионов, облегчающих выделение полярных органических соединений. Представляет также интерес применение для экстракции методов ионообменной, гель-проникающей и обращенно-фазной хроматографий [7, 9, 11, 28—30]. Для выделения летучих веществ целесообразно использовать различные виды микродистилляции, в частности, при пониженном давлении, из сред с соответствующими значениями рН [7, 9, 29, 30, 32]. Тщательная очистка, как правило, весьма трудоемка и сопряжена с потерей вещества, что следует учитывать при выборе метода анализа данного объекта. Применение хромато-спектрометрических методов, предусматривающих предварительное получение производных в ряде случаев позволяет упростить процедуру очистки экстракта [8—10, 27, 30]. Для повышения воспроизводимости используют одновременный анализ опытных и контрольных проб, приготовленных из опытных, удалением анализируемых соединений [30, 33].

Большое значение имеет предварительное исследование, которое может включать оценку воздействия на анализируемые вещества кислот, щелочей, окислителей, температуры, а также элементный анализ и определение спектральных характеристик [3, 13, 34]. Часто имеют дело с весьма малыми количествами вещества, и поэтому предварительное исследование в широком объеме выполнить не удается. Однако в ходе подготовки проб к анализу и проведения предварительного исследования важно получить информацию, позволяющую сделать предположение о характере анализируемых веществ.

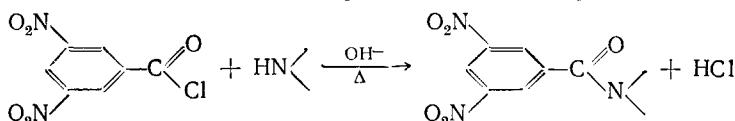
### III. МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ПО ФУНКЦИОНАЛЬНЫМ ГРУППАМ

Достоверность хромато-спектрометрических методов функционального анализа зависит от качества хроматографического разделения. При определении соединений с низкой молекулярной массой в сложных смесях лучшие результаты получаются при хроматографировании их производных. Например, в случае масс-спектрометрии более эффективен анализ производных, а не самих соединений [11—13, 15, 20, 21]. Предложено большое число реагентов, способных вступать в реакции с различными функциональными группами. В результате этих реакций в молекулу анализируемого вещества вводят достаточно сложную группировку с ароматическими или гетероциклическими фрагментами, которые усиливают поглощение видимого и УФ-света или придают молекуле способность флуоресцировать. «Зашитенные» функциональные группы можно идентифицировать после проведения соответствующих химических превращений (например, гидролиза). Соединения, эффективно разделяющиеся методами ТСХ и колоночной жидкостной хроматографии, часто анализируют непосредственно.

#### 1. Группы $\text{—NH}_2$ и $\text{—NH}$

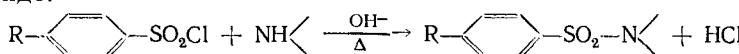
Для получения производных первичных и вторичных аминов предложено большое число реагентов и реакций. Наиболее широко применяют реакцию ацилирования, которую обычно проводят при повышенных температурах в присутствии катализаторов — неорганических оснований, третичных аминов, краун-эфиров и др. В качестве ацилирующих агентов чаще других используют галогенангидриды ароматических карбоновых и сульфокислот.

Производные, интенсивно поглощающие в УФ-области, получаются при действии 4-нитро-, 3,5-динитро-, 4-метокси-, 4-диметиламино-, 4-диметиламино-3,5-динитробензоилхлоридов, а также 4-бифенил-, 4-(4'-нитрофенилазо)бензол-, 4-(4'-диметиламинофенилазо)бензолкарбонилхлоридов и др. [7, 8, 10, 14, 35]. Реакции протекают по следующей общей схеме:



Как правило эти процессы идут с выходом, близким к количественному, полученные амиды стабильны, хорошо экстрагируются органическими растворителями и имеют коэффициенты поглощения в УФ-области около 14 000 [8, 10, 14]. Смеси амидов легко разделяются с помощью ТСХ и колоночной жидкостной хроматографии. Для их разделения предложены многочисленные неподвижные фазы и системы растворителей. Кроме УФ-спектрометрии, детектирование может осуществляться по окраске, а также с помощью масс-спектрометра [8, 9, 14, 18, 21, 23, 26, 29, 35, 36]. Чувствительность определения ди- и полинитробензамидов может быть существенно повышена путем обработки их щелочью и ацетоном (реакция Яновского), в результате чего образуются интенсивно окрашенные соединения [38].

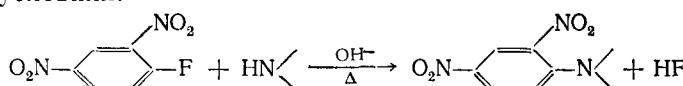
Ряд производных, поглощающих в УФ-области, получают по реакции с галогенангидридами ароматических сульфокислот: 4-метил-, 4-иод-, 4-диметиламино-, 4-(фенилазо)-, 4-(4'-N,N-диметиламинофенилазо)бензолсульфохлорида и др. [8, 10, 14, 21]. Схему реакции можно представить в виде:



Замещенные сульфамиды образуются также при действии тринитробензолсульфокислоты [37, 39]. Как правило, сульфамиды поглощают УФ-излучение несколько слабее, чем соответствующие бензамиды [10].

Соединения, имеющие  $-\text{NH}_2$ - и  $\text{---NH---}$ -группы, образуют производные при взаимодействии с 1-диалкил( $\text{C}_1\text{---C}_5$ )амионафталин-5-сульфохлоридами, N-метил-2-анилинонафталин-6-сульфохлоридом (мансиликлоридом), 2-*n*-хлорсульфофенил-3-фенилиндоном (дисилхлоридом), 4-(1-окси-3-фенилинден-2-ил)бензолсульфохлоридом, 1,3-нафтоиленбензимидазол-6-сульфохлоридом [7, 10, 14, 27, 40]. Разделение смесей сульфамидов проводят методами ТСХ и колоночной жидкостной хроматографии с применением большого числа различных неподвижных фаз и элюентов, а детектирование — по флуоресценции, окраске, поглощению в УФ-области, а также масс-спектрометрически [14, 18, 26, 27, 36, 41—43]. Наиболее широкое применение получили реакции с 1-диметиламинонафталин-5-сульфохлоридом (дансилхлоридом), который используется для идентификации первичных и вторичных аминов, аминокислот (АК), аминофенолов и фенолов [10, 14, 27, 44]. Нами показано, что дансилхлорид может быть применен и для определения ненасыщенных аминов [44]. Основное преимущество дансиламидов по сравнению с другими сульфамидами состоит в легкости разделения и идентификации производных. Условия определения дансиламидов приведены в [12, 14, 18, 21, 27, 42, 43, 45].

Для получения производных применяют и другие соединения, имеющие достаточно подвижный атом галогена, в частности, 2,4-динитрофторбензол, 2,4-динитрохлорбензол, 2,4-динитро-5-фторанилин, 7-фтор- и 7-хлор-4-нитробензо-2-окса-1,3-диазол (НБД-хлорид) и др. [8, 10, 14, 15, 33, 46, 47]. Среди этих соединений наибольшее практическое применение получил 2,4-динитрофторбензол, образующий производные, которые поглощают в УФ-области и легко разделяются в различных хроматографических условиях:

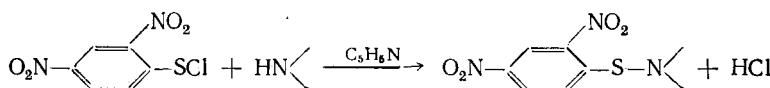


Для подтверждения результатов анализа применяют метод масс-спектрометрии [8, 14, 26, 37, 48].

Широко применяется и НБД-хлорид, который образует флуоресцирующие НБД-амины, интенсивно поглощающие в видимой и УФ-областях спектра [8, 14, 33, 49, 50]. Различные амины и аминокислоты дают производные, окрашенные в желтый, оранжевый или красный цвет, что может служить дополнительным идентификационным признаком [33, 49,

50]. Смеси НБД-аминов легко разделяются с помощью ТСХ и колоночной жидкостной хроматографии и идентифицируются по флуоресценции, окраске, поглощению света в УФ-области или масс-спектрометрически [15, 26, 33, 51–55]. Нами показано, что по ряду характеристик, в частности по высокой селективности определения и стабильности производных, НБД-хлорид превосходит дансилихлорид [27, 55].

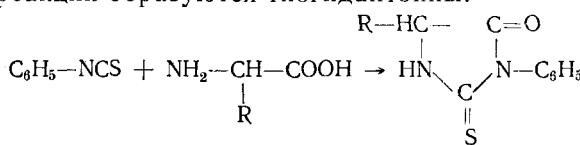
К соединениям с подвижным атомом галогена относится и 2,4-динитробензолсульфенилхлорид, который образует производные, поглощающие в УФ-области:



Эти производные разделяют с помощью ТСХ, например, на силикагеле или силуфоле в системе бензол — циклогексан — хлороформ — этанол [35, 56].

Для получения производных по  $-\text{NH}_2$ - и  $\text{>NH}$ -группам предложен также ряд других реагентов, например, 9-флуоренилметилхлорформиат, дающий флуоресцирующие соединения, N-(хлорметил)фталимид и N-(хлорметил)изатин, образующие вещества, способные поглощать УФ-излучение, однако они применяются крайне редко [8, 57, 58].

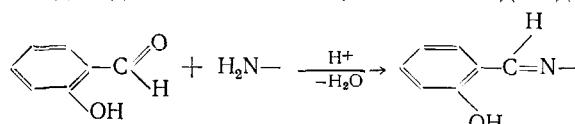
Большая группа замещенных изо- и изотиоцианатов образует производные с аминами. Это фенил- и 4-(6-метилбензотиазол-2-ил)фенилизотиоцианаты, фенил-, нафтил-, 4-фенилазобензоилизоцианаты и др. [7, 8, 18, 21, 34, 35]. Наиболее часто их используют для идентификации АК; в результате реакции образуются тиогидантонины:



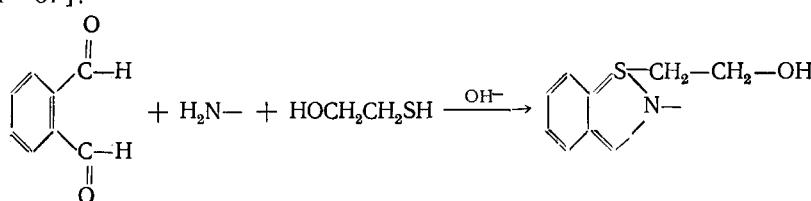
Эти соединения легко разделяют методами ТСХ и колоночной жидкостной хроматографии и определяют по поглощению в УФ-свете. Результаты анализа подтверждают масс-спектрометрически [10, 26, 59–61].

Аминогруппы можно идентифицировать также по образованию флуоресцирующих соединений с флуоресцеин-, 9-акридил-, 4-диметиламино-1-нафталилизотиоцианатами или с 4-(6-метилбензотиазол-2-ил)фенилизотиоцианатом, а также с 2-(4-изотиоцианатофенил)-3-фенилиндоном [7, 10, 14, 27, 62].

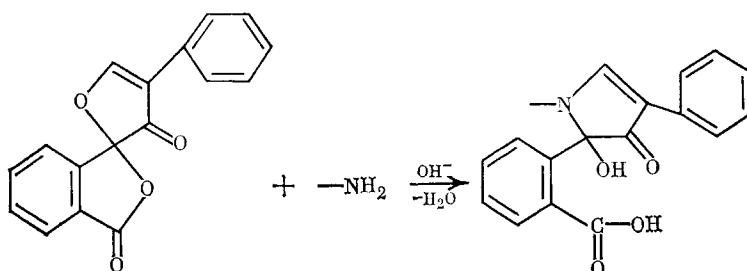
Амины, особенно первичные, энергично взаимодействуют с реагентами, содержащими карбонильную группу, например, с 4-диметиламино- и 2,4-динитробензальдегидами или с салициловым альдегидом [8, 35, 38]:



Образующиеся азометини дают с дифенилборным ангидридом комплексы, легко разделяемые методом ТСХ [10, 63]. Наиболее часто применяется *o*-фталевый альдегид (*o*-ФА), который в присутствии некоторых тио-соединений, например, монотиогликоля образует флуоресцирующие циклические соединения, легко разделяющиеся хроматографически [10, 27, 51, 64–67]:



Представляет интерес идентификация первичных аминогрупп и АК с помощью 4-фенил-спиро[фуран-2,3Н-1-фталан]-3,3'-диона(флурама) [10, 14, 27, 35, 68, 69]:



Образующиеся интенсивно флуоресцирующие соединения хорошо разделяются с помощью ТСХ и колоночной жидкостной хроматографии [10, 14, 27, 35, 68, 69].

Флурам и *o*-ФА могут служить реагентами для дериватизации вторичных аминов после их превращения в первичные, например, путем обработки  $\text{NaOCl}$  и 2,2'-тиодигликолем<sup>1</sup>.

Существенный интерес представляют хромато-спектрометрические методы функционального анализа соединений, которые после проведения соответствующих реакций превращаются в вещества, имеющие  $\text{--NH}_2$ - или  $\text{>NH}$ -группы. Среди них следует отметить пестициды, лекарственные средства, токсичные и канцерогенные соединения [7, 9, 10, 18, 27, 30, 54]. Так, например, разработаны методы превращения канцерогенных нитрозаминов в соответствующие вторичные амины с идентификацией последних в виде дансиlamидов или НБД-аминов [33, 42, 49, 55]. Показано, что эти производные пригодны для обнаружения нитрозаминов в объектах окружающей среды методом хромато-масс-спектрометрического анализа [15, 45, 55, 70].

Хроматографическое разделение до дериватизации наиболее перспективно при функциональном анализе АК, ароматических и гетероциклических аминов. Обычно ТСХ аминокислот проводят на силикагеле, оксиде алюминия, целлюзополиамиде, ионообменных смолах (например, фикцион, даузекс) в различных системах с добавками фенолов, органических кислот и аммиака [23, 26, 50, 71–76]. Некоторые алифатические амины и АК хорошо разделяются методом высокоеффективной ТСХ на химически связанных фазах типа RP-18 [73, 77, 78].

Ароматические амины разделяют в тонком слое силикагеля, оксида алюминия, полиамида, целлюлозы, а также на ионообменных смолах и силикагеле, импрегнированном фенолами, оксалатами, ацетатами, сульфатами, хлоридами, поверхностно-активными веществами с использованием различных систем растворителей [23, 26, 71–74, 79, 80]. В работах [26, 79] изучена зависимость хроматографической подвижности аминов от их строения.

Для обнаружения соединений, имеющих  $\text{--NH}_2$ - и  $\text{>NH}$ -группы, на пластинах или в элюатах предложено большое число реагентов, как универсальных (иод,  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , фосфорномолибденовая и фосфорновольфрамовая кислоты,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{SbCl}_3$ ,  $\text{SbCl}_5$ , pH-индикаторы и др.), так и обладающих относительной специфичностью. Из последних достаточно часто применяют растворы нингидрина, флурама, *o*-ФА, НБД-хлорида,  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  в сочетании с  $\text{KI}$ , смесью ацетилацетона с формальдегидом и др. [14, 26, 27, 53, 73–75, 78].

Ароматические амины можно также определять, используя следующие реакции: сочетание с диазотированной сульфаниловой кислотой, 4-нитроанилином и др.; диазотирование с последующим сочетанием, например, с фенолами; взаимодействие с 4-диметиламинобензойным и ко-

<sup>1</sup> См. Hidiro A. Anal. Chem. Acta, 1983, v. 147, p. 317.

ричным альдегидами. Для детектирования применяют метод УФ-спектрофотометрии [18, 26, 38, 71, 78, 81]. Некоторые ароматические и гетероциклические амины обладают собственной флуоресценцией [53, 82].

Ионообменную жидкостную хроматографию чаще применяют для разделения АК, реже — для алифатических аминов. В связи с важным биологическим значением АК созданы автоматические и полуавтоматические АК-анализаторы, которые пригодны и для определения некоторых других аминосоединений — моно-, ди- и полииаминов<sup>2</sup>. Обычно в качестве неподвижных фаз используют амберлиты, апинексы, биорекс, сефадексы, партисил SCX и др.; элюентами служат различные буферные системы. Элюаты обрабатывают нингидрином, *o*-ФА, флурамом, НБД-хлоридом и др., затем либо фиксируют окраску, либо проводят спектрофотометрический или спектрофлуориметрический анализ [9, 10, 27, 83—85]. В последнее время для анализа АК и алифатических аминов применяют метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (обычно обращенно-фазной) на лихросорбе RP-18, пермафазе ODS, зорбаксе C<sub>8</sub> или ODS,  $\mu$ -бондапаке C<sub>18</sub> и др. с водно-спиртовыми смесями, часто содержащими противоионы; добавка последних улучшает разделение АК [10, 17, 18, 76, 85—90]. Для дериватизации разделенных веществ чаще других используют нингидрин и *o*-ФА, а образовавшиеся производные определяют с помощью УФ- или флуоресцентных детекторов<sup>3</sup>.

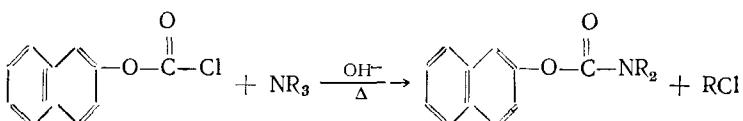
Значительное количество исследований посвящено разделению ароматических аминов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Предложены различные неподвижные фазы и элюенты; для обнаружения аминов применяют УФ-детекторы [7, 10, 81, 91—94]. Кроме того, для детектирования ароматических аминов после их разделения применяют масс-спектрометрические методы [13, 20, 95, 96].

Анализ амидов, как правило, проводят после превращения их в соответствующие амины. В принципе для обнаружения амидов после разделения можно использовать реакцию образования гидроксамовых кислот [23, 38].

Большое количество химических реакций, предложенных для дериватизации первичных и вторичных аминов позволяет, по нашему мнению, относительно легко выбрать оптимальный вариант для анализа различных объектов. Во многих случаях целесообразно получать флуоресцирующие производные и разделять их с помощью ТСХ, такой простой способ дает возможность проводить высокочувствительную идентификацию этих функциональных групп.

## 2. Группы $\text{—N} \begin{array}{c} \diagup \\ \diagdown \end{array} \text{—N}^+$

Хромато-спектрометрический анализ этих групп разработан пока недостаточно. Некоторые третичные амины определяют в виде производных, образующихся при взаимодействии с пентафторбензил- или 2-нафтилхлорформиатом [10, 97]:



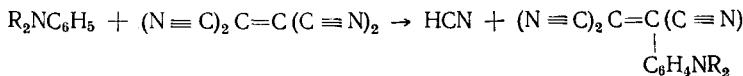
Вероятно, промежуточной стадией этой реакции является деалкилирование аминов; если это действительно так, то реакция может быть применена для получения ряда производных и из вторичных аминов.

Для разделения третичных аминов используют ТСХ на силикагеле, оксиде алюминия и других сорбентах. Системы растворителей, как правило, содержат аммиак и дихлорэтан. Визуализацию разделенных соединений проводят путем их обработки реагентом Драгендорфа, K<sub>2</sub>PtCl<sub>6</sub>, хлоранилом, тетранитрометаном, тетрацианхинондиметаном, тетрациан-

<sup>2</sup> См. Sauem N., Ronald E. J. Chromatogr., 1983, v. 256, p. 313.

<sup>3</sup> См. Cunico R., Schlabach T. J. Chromatogr., 1983, v. 266, p. 461; Simpson R. J. Chromatogr., 1983, v. 261, p. 407.

этиленом и др. [2, 3, 14, 26, 98, 99]. В случае тетрацианэтиlena реакция протекает по схеме:



Особенность разделения третичных аминов методом высокоеффективной жидкостной хроматографии состоит в использовании подвижных фаз, содержащих противоионы, например, 9,10-диметоксиантрацен-2-сульфоната или акрилон-2-сульфоната [9, 10, 18, 100, 101].

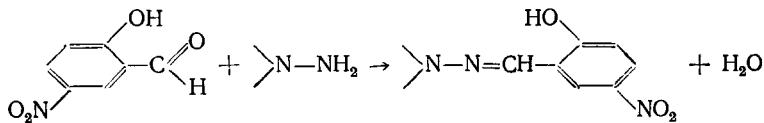
Соединения с группами  $\text{>N}^+$  разделяют с помощью ТСХ на силикагеле, оксиде алюминия, целлюлозе, используя подвижные фазы, содержащие, как правило, соляную, уксусную, лимонную и другие кислоты. Для визуализации пластинку обрабатывают реагентом Драгендорфа или  $K_2PtCl_6$  [3, 23, 102–104].

Четвертичные аммониевые соединения хроматографируют на ионообменных смолах, например, партисиле SCX, амберлите CG-50, цикарте 226, с элюентами, содержащими противоионы типа нафталин- или антрацен-2-сульфонатов [9, 85, 105–107].

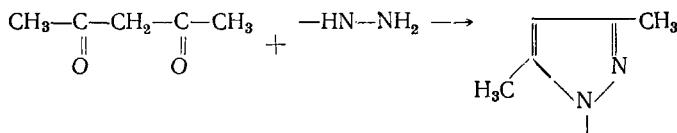
Эффективное разделение этих веществ, в том числе длинноцепочечных, достигается с помощью метода высокоеффективной жидкостной хроматографии на нуклеосиле-5  $N(CH_3)_2$ , с системой гексан — хлороформ — этилацетат в качестве растворителя или на нуклеосиле CN с водным раствором метанола, содержащим *n*-толуолсульфокислоту<sup>4</sup>.

### 3. Группа $\text{>N-NH}_2$

Для анализа соединений, содержащих эту группу (алкил- и арилгидразинов, гидразидов кислот и др.) с помощью хромато-спектрометрических методов использовано получение нескольких достаточно стабильных и хорошо разделяемых соединений. Так, реакция гидразинов с 5-нитро-2-оксибензальдегидом протекает по схеме [8, 10, 21, 38]:



Алкилгидразины образуют с ацетилацетоном производные пиразолона [8, 10, 21]:

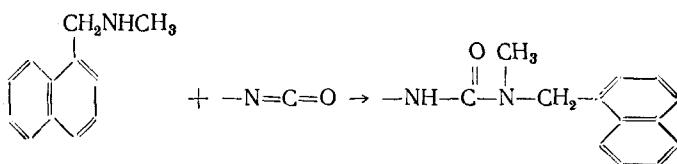


Легкость взаимодействия  $\text{>N-NH}_2$ -группы с карбонильными соединениями используют для ее идентификации с помощью других альдегидов и кетонов. Разделение гидразинов до дериватизации проводят главным образом методом высокоеффективной жидкостной хроматографии на фазах типа  $\mu$ -бондапак  $C_{18}$  или аминекс с различными элюентами [18, 108, 109].

### 4. Группа $\text{—N=C=O}$

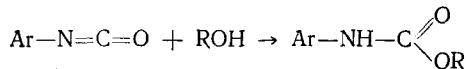
Как уже упоминалось, изоцианаты образуют с аминами производные, эта же реакция используется при идентификации изоцианатов. Как правило, для этой цели применяют 9-(*N*-метиламинометил)антрацен и *N*-метил-1-нафталинметиламин [110, 111]:

<sup>4</sup> См. Kudon M. J. Chromatogr., 1983, v. 261, p. 293.



Среди других реагентов на изоцианаты прежде всего следует назвать N-4-нитробензил-N-алкиламины, аминофенолы, 1-(2-пиридилил)- и 1-(2-метоксифенил)пiperазины, которые образуют производные, интенсивно поглощающие в УФ-области [112—116].

Ароматические изоцианаты взаимодействуют со спиртами по схеме:



Образующиеся производные легко разделяются хроматографически; затем их идентифицируют методом УФ-спектрофотометрии [110, 112—116].

Обнаружение групп  $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$  возможно и после разделения, например, с помощью высокоеффективной жидкостной хроматографии на  $\mu$ -бондапаке C<sub>18</sub> или лихросорбе RP-18 с использованием подвижных фаз, состоящих из ацетонитрила или метанола и воды; детектирование проводят методами УФ- или ИК-спектроскопии [2, 10, 21].

Изоцианаты, а также изотиоцианаты могут быть идентифицированы хромато-спектрометрически после их гидролиза в соответствующие амины.

## 5. Группы $-\text{NO}_2$ и $-\text{NO}$

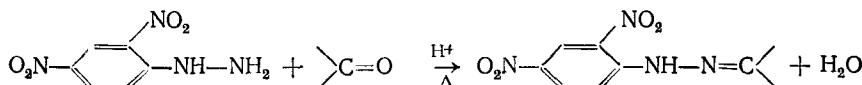
Для анализа нитросоединений предложены хромато-спектрометрические методы, основанные на предварительном разделении с помощью TCX или высокоеффективной TCX на силикагелях марок RP-2 и RP-18, ацетилцеллюлозе и др. В состав систем растворителей обычно входят метанол, этанол и ацетонитрил [26, 117, 120]. Наличие  $\text{NO}_2$ -группы обуславливает достаточно интенсивное поглощение в УФ-свете, что используется для обнаружения нитросоединений на хроматографических пластинах или в элюатах.

Ароматические ди- и полинитросоединения визуализируют по реакции Яновского, а также действием N,N-диэтиламилина или  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  [117—119]. Разделение нитросоединений проводят, например, методом обращенно-фазной жидкостной хроматографии на лихросорбе RP-18 или RP-8 с использованием в качестве подвижной фазы водных растворов спирта или ацетонитрила; для идентификации применяют УФ-детекторы [91, 120, 121]. Результаты анализа обычно подтверждают масс-спектрометрически [122, 123].

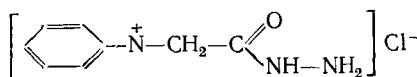
Исследования, посвященные идентификации NO-группы с помощью хроматоспектрометрических методов, немногочисленны. Различные N-нитрозамины предложено определять после их денитрозирования по образовавшимся нитрит-иону и аминогруппе [33, 42, 55]. При действии окислителей или восстановителей нитросоединения можно превратить в нитросоединения или в гидразины соответственно.

## 6. Группа $>\text{C}=\text{O}$

Наибольшее внимание уделяют получению производных карбонильных соединений при действии на них гидразинов, в частности, фенилгидразина и его замещенных [8—10, 21, 35, 124]:

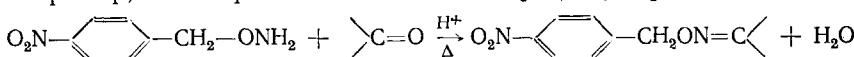


Аналогично реагируют азобензол-4-карбоксигидразин и реактив Жи-парда [10, 35]:



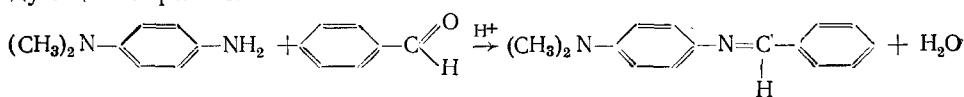
При применении дансила-, мансила- и НБД-гидразинов, 2-фенилацетил-, 1,3-индандион-1-гидразина, изоникотинилгидразина и др. получают интенсивно флуоресцирующие гидразоны [7, 10, 21, 54, 125, 126]. Сорбентами для ТСХ гидразонов служат силикагель, оксид алюминия и целлюлоза [3, 26, 127, 128]. Обнаруживают эти соединения по окраске, по флуоресценции или поглощению в УФ-области [26, 124, 126–128]. Гидразоны разделяют также методом высокоеффективной жидкостной хроматографии и идентифицируют с помощью УФ- или флуоресцентных детекторов [10, 126, 129–133]. Хорошие результаты получают, например, при использовании зорбакса ODS и смеси ацетонитрила с водой<sup>5</sup>.

Производные карбонильных соединений, поглощающие в УФ-области, получают конденсацией с замещенными гидроксимирами и семикарбазинами, например, с 4-нитробензилоксамином [10, 13, 21]:



Условия хроматографического разделения оксимов и семикарбазонов описаны в [9, 21, 26, 35, 134, 135]. Масс-спектры многих гидразонов и оксимов весьма удобны для идентификации этих соединений [10, 21, 126, 134, 136].

Альдегиды легко реагируют с первичными аминами, например, с N,N-диметиламино-1,4-, 1,3- и 1,2-фенилендиамиами, этилендиамином, аминопиперидином и др. [8, 35, 124, 137]. Эти реагенты представляют практический интерес с точки зрения функционального анализа альдегидов, так как образующиеся основания Шиффа интенсивно окрашены и поглощают в УФ-области спектра. Ароматические альдегиды реагируют следующим образом:



$\alpha$ -Дикарбонильные соединения, а также  $\alpha$ -кетокислоты образуют с 1,2-фенилендиамином флуоресцирующие хиноксазолоны [8, 138–140]. Как основания Шиффа, так и хиноксазолоны хорошо разделяются хроматографическими методами [35, 137–140]. Альдегиды, в отличие от кетонов, взаимодействуют с 5,5-диметилгидрорезорцином (димедоном), давая окрашенные соединения, разделение которых проводят с помощью ТСХ [13, 35, 141, 142]. Идентификацию  $\alpha$ -оксометиленовой группы проводят по образованию флуоресцирующих соединений в результате реакции с N-метилникотинамидахлоридом. Продукты разделяют в тонком слое или методом колоночной хроматографии [9, 10, 143]. Алифатические альдегиды при взаимодействии с ацетилацетоном и первичными аминами или аммиаком образуют флуоресцирующие лутидины [26, 27, 53, 144].

Разделение веществ, содержащих карбонильную группу, до дериватизации проводят с помощью ТСХ на силикагеле, оксиде алюминия и целлюлозе с использованием систем растворителей, как правило, существенно отличающихся по полярности. Для визуализации применяют универсальные или относительно специфичные реагенты, например,  $\sigma$ -амиnobифенил и другие ароматические амины [26, 32, 135, 145].

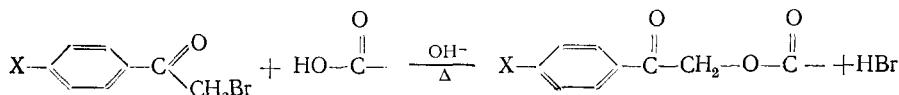
Разделение карбонильных соединений методом нормально- и обращенно-фазной жидкостной хроматографии, проводимое на различных неподвижных фазах, дает хорошие результаты. В этом случае обнаружение проводят УФ-детекторами или (после обработки элюента  $\sigma$ -фенилфенолом, N-метилникотинамидахлоридом и др.) флуоресцентным детектором [9, 131, 135, 143, 146, 147]. Результаты определений подтверждают масс-спектрометрически [11, 13, 136, 148].

<sup>5</sup> См. Slavin S. J., Liq. Chromatogr., 1983, v. 6, p. 425.

Для определения веществ, содержащих группу  $\text{C}=\text{O}$ , чаще других применяют метод их дериватизации с последующим детектированием по поглощению в УФ-области или по окраске. По нашему мнению, незаслуженно редко используют флуоресцирующие производные, применение которых резко повышает чувствительность определения. Возможно, это объясняется недостаточной доступностью реагентов, необходимых для получения таких производных.

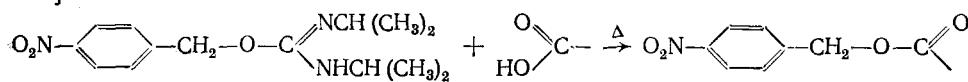
## 7. Группы —COOH и —COOR

Для получения производных по карбоксильной группе часто применяют фенацилгалогениды, например, 4-бром-, 4-метокси-, 4-нитро-, 4-фенилазо-, N,N-диметиламинобензоловазофенацилбромиды:



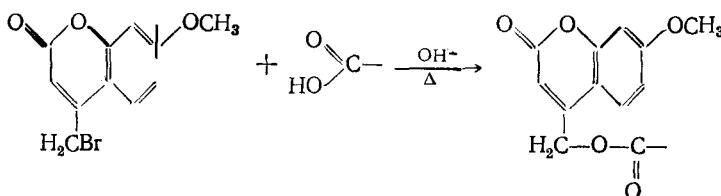
Фенациловые эфиры интенсивно поглощают в УФ-области (коэффициент поглощения составляет  $\sim 18\,000$ ) [7–9, 10, 35, 135, 149, 150], а нафтациловые эфиры, образующиеся при действии на соединения с карбоксильной группой 2-нафтацилбромида и 1-бромацетилпирена—флуоресцируют [10, 151, 152]. Для ТСХ этих производных применяют силикагель, лихросорб RP-18, в системах бензол — этилацетат, диметилформамид — вода и ряд других [26, 135, 150, 153]. Для разделения применяют жидкостную хроматографию, например, обращенно-фазовую на  $\mu$ -бондапаке C<sub>18</sub>,  $\mu$ -порасиле C<sub>18</sub>, лихросорбе RP-18, радиалпаке AC<sub>18</sub> методом градиентного элюирования. Обнаружение проводят с помощью масс-спектрометров и флуоресцентных или УФ-детекторов [151, 152, 154–160].

Заслуживает внимания УФ-спектрофотометрическая идентификация карбоксильных групп путем превращения кислот, в том числе длинноцепочечных, в бензиловые и нитробензиловые эфиры. Для этой цели применяют соответствующие бромиды, а также 4-нитробензил-3-*n*-толилтриазин или *n*-нитробензил-N,N'-дизопропилизомочевину [7, 8, 10, 135, 149].



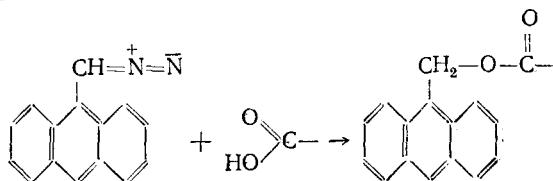
Такие эфиры стабильны и хорошо разделяются с помощью ТСХ или колоночной хроматографии на самых разнообразных фазах [9, 18, 26, 135, 149].

Флуоресцирующие эфиры, представляющие интерес для идентификации карбоксильной группы, можно получить в результате реакции с хлорметилизатином или хлорметилантраценом, N-(хлорметил)- и N-(хлорметил-4-нитро)фталимидами, 4-бромметил-7,8-бензокумарином, 4-бромметил-7-ацетокси- и 4-бромметил-7-метоксикумаринами [8, 54, 58, 138, 161–166]:



В [54, 162–168] приведены условия разделения этих эфиров различными методами, в том числе жидкостной хроматографией на партисиле C<sub>18</sub> или нуклеосиле 10 C<sub>18</sub> с градиентным элюированием в водном растворе метанола.

Флуоресцирующие производные кислот получают также действием дифенил-, 1-нафтил-, 1-(4-бифенил)- или 9-антрилдиазометанов:



Образующиеся соединения разделяют с помощью метода жидкостной хроматографии, например, обращенно-фазной, используя для идентификации флуоресцентный или УФ-детекторы [7, 169–172].

В работе [173] в качестве реагента на карбоксильную группу предложен 9-(оксиметил)антрацен, который образует флуоресцирующие эфиры, легко разделяемые хроматографически.

Способность карбоновых кислот взаимодействовать с аминами, в частности, с 1-нафтalamином, *n*-аминофенолом и 9, 10-диаминофенантреном, с образованием амидов использована в работах [174, 175]. Разделение проводили методом жидкостной хроматографии на  $\mu$ -бондапаке C<sub>18</sub> или нуклеосиле C<sub>18</sub> с элюированием водным раствором метанола и последующим определением с помощью флуоресцентных или УФ-детекторов. Соединения с группами –COOH и –COOR образуют с гидроксиламином гидраксамовые кислоты, которые хорошо разделяются и легко идентифицируются с помощью колориметрической реакции с солями трехвалентного железа [1, 2, 26, 38].

В ряде работ описаны производные, полученные из полифункциональных соединений, имеющих карбоксильную группу. Так,  $\alpha$ -кетокислоты взаимодействуют с 2,4-динитрофенилгидразином [7–9, 26, 153, 176], *o*-фенилендиамином [8, 10, 138–140, 177], N-метилникотинамидхлоридом [9, 10, 143]. Некоторые оксикислоты образуют с резорцином и 2-нафтолом флуоресцирующие соединения [27, 53, 138].

Большое количество работ посвящено хроматографическому разделению веществ, содержащих группы –COOH и –COOR до дериватизации. Низкомолекулярные кислоты разделяют методом ТСХ на силикагеле, оксиде алюминия, полиамиде, целлюлозе, крахмале и других сорбентах с использованием систем растворителей, как правило, содержащих спирты, эфиры и основания—амиак, диэтиламин и т. п. [26, 80, 153, 178–182]. Длинноцепочечные кислоты обычно разделяют на силикагеле, пропитанном ундеканом или додеканом, с системами растворителей, содержащими ацетонитрил, диметилформамид, муравьиную и уксусную кислоты [26, 80, 153]. Аналогично проводят разделение в тонком слое эфиров насыщенных карбоновых кислот [26, 153, 180, 183, 184]. Насыщенные кислоты легко отделяются от ненасыщенных с помощью ТСХ на силикагеле, импрегнированном Ag<sup>+</sup> [18, 26, 182].

Для разделения ароматических кислот применяют силикагель или оксид алюминия с различными системами растворителей, которые часто содержат метanol, муравьиную и уксусную кислоты, амиак и др. [26, 80, 185]. Для разделения *n*-, *m*- и *o*-замещенных ароматических кислот методом ТСХ применяют полиамид с водными растворами  $\alpha$ -циклодекстринов [186].

Ди- и поликислоты часто разделяют на немодифицированном силикагеле, однако лучшие результаты получены при использовании силикагеля или кизельгурда, пропитанных полиэтиленгликолями, с системами, в состав которых входят спирты, тетрагидрофуран, муравьиная и уксусная кислоты, амиак [3, 26, 153, 188].

Для определения кислот после проведения ТСХ предложено много различных реагентов, однако чаще других применяют универсальные — иод, pH-индикаторы, фосфорномолибденовую кислоту и др. [26, 153, 178, 180, 184, 185]. Ди- и поликислоты образуют с солями Cu<sup>2+</sup> окрашенные комплексные соединения, а с дициклогексилкарбодиимидом — флуоресцирующие производные [187, 188].

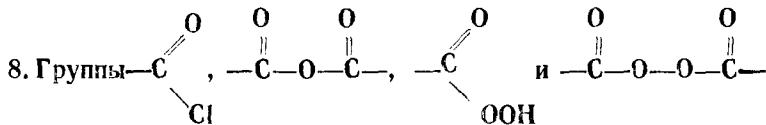
Разделение кислот проводят методом обращенно-фазной колоночной жидкостной хроматографии с использованием противоионов [7, 17, 146, 157, 182, 189–194]. Применяют и другие виды хроматографии, в частности, ионообменную; описаны различные варианты проведения анализов [16, 31, 182, 195–203].

Эфиры предельных кислот чаще всего разделяют методом обращенно-фазной жидкостной хроматографии, например, на лихросорбе RP-18 или бондапаке C<sub>18</sub>; подвижной фазой служат водные растворы метанола или ацетонитрила [9, 18, 182, 194, 204].

Ненасыщенные кислоты хроматографируют на корасиле П, порасиле А, партисиле 10 или 20, сферисорбе 5W и других сорбентах, содержащих 2–5% Ag<sup>+</sup>. Азотокислое серебро вводят и в подвижные фазы, применяя смеси органических растворителей с водой [9, 18, 205–207].

Условия проведения колоночной жидкостной хроматографии поликарбоновых кислот определены в [18, 91, 157, 182, 197, 203]. Обнаружение кислот после разделения, как правило, не представляет больших трудностей. С этой целью используют их способность поглощать в ИК- и коротковолновой УФ-областях спектра, причем коротковолновое поглощение наиболее эффективно для ароматических кислот [18, 91, 189, 190, 199, 202, 205, 206, 208]. Некоторые кислоты предложено определять путем обработки элюатов o-нитрофенолом, солями Ce<sup>4+</sup> и др. [7–10, 18, 182]. Анализ сложных образцов успешно проводят методом хромато-масс-спектрометрии с использованием для разделения колоночной жидкостной хроматографии [11, 13, 136, 148, 209, 210].

Нам представляется, что для определения веществ, содержащих группы —COOH, в зависимости от объекта исследования с равным успехом могут использоваться обе схемы хромато-спектрометрического анализа.



Ангидриды и галогенангидриды определяют теми же методами, что и кислоты, после превращения в соответствующие производные или в кислоты. Некоторые из этих соединений при взаимодействии с n-диметиламинобензальдегидом и N,N-диметиланилином на силикагеле образуют фенилметановые красители [211].

Гидропероксиды и пероксиды можно идентифицировать после их восстановления до кислот. Предложены хромато-спектрометрические методы анализа этих соединений и без дериватизации с помощью нормально- или обращенно-фазной ТСХ и определения по поглощению в УФ-области [18, 26, 212–215].

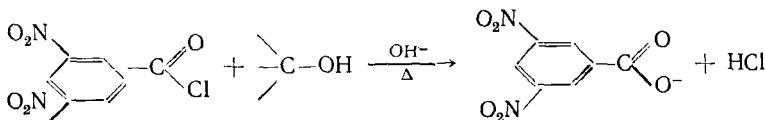
Так, например, гидропероксиды изомеров линолевой кислоты хорошо разделяются на сферисорбе Si 60 с использованием системы этанол – гексан<sup>6</sup>. Чувствительность анализа можно повысить путем добавления к элюентам иодида натрия или ароматических моно- и диаминов [9, 215, 216].

В работе [18] описано применение метода колоночной жидкостной хроматографии гидропероксидов после их превращения в эфиры.

### 9. Группы $\text{—C}(\text{OH})\text{—}$

Наиболее подробно исследовано взаимодействие спиртов с 4-метокси-, 4-метилтио-, 4-нитро- и 3,5-динитробензоилхлоридами, протекающее по схеме [2, 7–10, 32, 35, 135, 217]:

<sup>6</sup> См. Koskas J. J. Chromatogr., 1983, v. 258, p. 280.

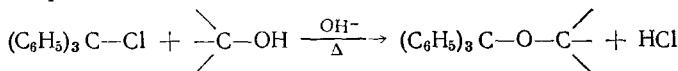


Образующиеся эфиры более стабильны, чем соответствующие амиды.

Окрашенные и интенсивно поглощающие в УФ-области эфиры (коэффициент поглощения  $\sim 14\,000$ ), пригодные для идентификации спиртов, получают действием 4-(4'-нитрофенилазо)бензол- и 4-(4'-диметиламинофенилазо)бензокарбонилхлоридов; разделение проводят с помощью ТСХ, как правило, на силикагеле, а также на крахмале, целлюлозе, тальке с различными системами растворителей [26, 32, 218]. Для разделения эфиров широко применяют также обращенно-фазную жидкостную хроматографию на  $\mu$ -бондалаке  $C_{18}$ , лихросорбе RP-18 и др.; элюирование проводят водными растворами спиртов, а детектирование — с помощью масс-спектрометров и УФ-спектрофотометров [7–10, 135, 219].

Сульфохлориды, за исключением 4-иодбензосульфохлорида и дисильхлорида, применяют для получения производных спиртов редко. Дисильхлорид образует интенсивно флуоресцирующие эфиры [9, 21, 40, 220, 221].

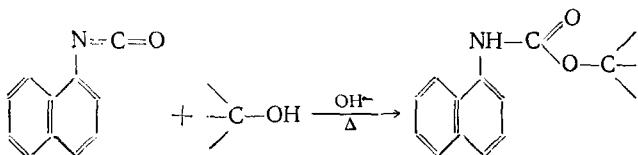
Спирты взаимодействуют и с другими соединениями, содержащими достаточно подвижный атом галогена, например, с 2,4-динитрофторбензолом, 2,4-динитробензосульфенхлоридом и трифенилхлорметаном (тритилхлоридом) [2, 35, 135, 222]. В последнем случае реакция протекает следующим образом:



Отметим, что эфиры такого типа, в отличие от соответствующих производных аминов, не растворимы в кислотах [10].

Флуоресцирующие производные, пригодные для идентификации, первичные спирты образуют с 1-этокси-4-(дихлор-5-триазинил)нафталином, в молекуле которого также имеется подвижный галоген [7, 10].

На взаимодействии спиртов с изоцианатами основано получение достаточно стабильных эфиров, которые в зависимости от выбранного реагента поглощают УФ-излучение или флуоресцируют. Описано получение таких производных с фенил-, о-нитрофенил-, *n*-толуолсульфо-, 1-нафтил-, антрапилен-, 4(6-метилензоизопропи-2-ил)фенилизоцианатами [2, 13, 35, 62, 223]:



Разделение этих эфиров проводят с помощью ТСХ на силикагеле, MNSiG, лихросорбе RP-18 и других сорбентах в различных системах растворителей [26, 62, 223, 224]. Хорошее разделение достигается при использовании метода обращенно-фазной колоночной жидкостной хроматографии на лихросорбе RP-18 и силикагеле  $C_{18}$  с градиентным элюированием смесями ацетонитрила и метанола с водой; определение проводят флуоресцентным или УФ-детектором [9, 35, 62, 223]. В работах [9, 18, 225] описано разделение тех же эфиров методом нормально-фазной хроматографии. Интересная схема анализа предложена в [3, 266]. При взаимодействии спиртов  $\text{C}_1$ — $\text{C}_6$  с сероуглеродом и едкимカリ образуются алкилксантаны, которые разделяют в тонком слое микроцеллюлозы в системе бутанол—вода—аммиак и идентифицируют методом УФ-спектрофотометрии.

Соединения, содержащие группировку  $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{OH})-$  идентифицируют по образованию окрашенных циклических производных с аль-

дегидами и флуоресцирующих производных — с нафталин- и фенантрен-борными кислотами [177, 227].

Для ряда алифатических спиртов применяют хроматографическое разделение до дериватизации методом ТСХ. Сорбентами для разделения низших спиртов служат — силикагель, оксид алюминия, целлюлоза, а высших — силикагель или кизельгур, пропитанные парафиновым маслом. В последнем случае используют водно-органические системы.

Гликоли и многоатомные спирты хроматографируют на силикагеле, импрегнированном боратом аммония или силикатом магния, оксиде алюминия и др. [3, 26, 153, 178, 228]. Визуализацию спиртов после их разделения методом ТСХ или колоночной жидкостной хроматографии обычно проводят с помощью универсальных реагентов [3, 26, 135, 178, 228]. Среди избирательных реагентов можно отметить метаванадат натрия и 8-оксихинолин, образующие окрашенные производные [2, 26, 135].

Разделение веществ, содержащих группу  $\text{C}=\text{O}$ , проводят методом обращенно-фазной колоночной жидкостной хроматографии, например, на партисиле-5 ODS, зорбаксе ODS и др. с водно-органическими элюентами; для идентификации используют УФ-детекторы [16, 18, 138, 147, 229, 230]. Хорошие результаты дает также применение для разделения спиртов нормально-фазной, ионообменной и других видов хроматографии [231, 232]. Для отделения короткоцепочных спиртов от длинноцепочных используют сепадекс LH-20 [219, 231].

Многоатомные спирты разделяют на партисиле А, аминексе А 27 и других сорбентах с различными элюентами, а идентифицируют по поглощению в УФ-области или по окраске после обработки кислыми растворами  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  [3, 9, 18, 31]. В [233] описано определение спиртов в элюатах с перекисью водорода и кобальт-люминалом люминесцентным методом. В сложных случаях для подтверждения наличия спиртов применяют метод масс-спектрометрии [11, 13, 148].

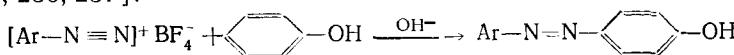
По нашему мнению, для анализа спиртов в большинстве случаев целесообразно получать окрашенные или поглощающие в УФ-области производные с последующим хроматографическим разделением.

## 10. Группы — $\text{C}_6\text{H}_4$ —ОН

К числу наиболее исследованных способов получения производных фенолов, так же как и спиртов, относится взаимодействие с замещенными бензоилхлоридом, главным образом, с 4-нитро- и 3,5-динитробензоилхлоридом [2, 9, 10, 18, 32, 35]. Для идентификации фенольных групп используют также производные, получающиеся при реакции с галогенангидридами сульфокислот. Так, в случае 4-иодбензол- и 4-азобензолсульфохлоридов получают вещества, поглощающие в УФ-области, а в случае дансил- и дисилхлоридов — флуоресцирующие соединения [7, 9, 27, 35]. Чаще других используют дансилхлорид, образующий дансилэфиры, которые получают аналогично дансиламидам, но при более высоких значениях рН. В этих условиях полифенолы, а также аминофенолы дают полизамещенные производные [7, 21, 27, 54, 234]. Продукты разделяют либо непосредственно после проведения реакции, либо после экстракции и концентрирования методами ТСХ, высокоэффективной ТСХ и колоночной жидкостной хроматографии и определяют по поглощению в УФ-области, флуоресценции или с помощью масс-спектрометра [7, 10, 20, 54, 234]. При анализе различных контаминантов, лекарственных средств, пестицидов и других соединений, содержащих фенольный гидроксил или превращающихся в фенолы, хромато-спектрометрические методы с использованием дансилхлорида нашли широкое применение [10, 18, 27, 54, 68].

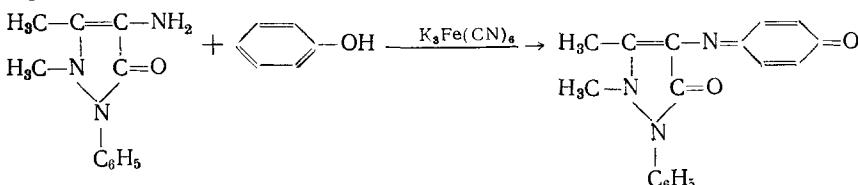
Для определения фенолов описано получение флуоресцирующих или поглощающих в УФ-области производных с 2,4-динитрофтор (или хлор)-бензолом, *n*-(5-фтор-2,4-динитрофенилазо)-N,N-диметиланилином, 1-этокси-4-(дихлор-5-триазинил)нафталином и др. [7–9, 35, 235]. Более специфичными считаются поглощающие в УФ-области и окрашенные

производные, образующиеся при взаимодействии с солями диазония [2, 3, 38, 236, 237]:



Обычно для этой цели используют соли диазония, полученные из 4-нитробензола или сульфаниловой кислоты, а также из 4-аминобензонитрила. Азофенолы хорошо разделяются с помощью ТСХ на силикагеле или методом обращенно-фазной жидкостной хроматографии, например, на лихросорбе RP-18 с водным раствором метанола; обнаружение проводят по окраске [7, 32, 236–238].

Окрашенные хинонимины получают реакцией фенолов с 4-аминоантисипирином [2, 3, 32, 38]:



Разделение хинониминов не представляет трудностей; для этой цели можно использовать ТСХ на силикагеле или обращенно- и нормально-фазную колоночную хроматографию с фотометрическим детектором [26, 32, 233, 239]. Например, сложные смеси фенолов удается разделить в виде хинониминов на  $\mu$ -бондапаке  $C_{18}$  и  $\mu$ -бондапаке CN с использованием в качестве подвижной фазы водного раствора метанола или смеси тексана с тетрагидрофураном<sup>7</sup>.

Из числа веществ, редко употребляемых для определения фенолов, наибольший интерес представляет 1-нитрозо-2-нафтол. Этот реагент при взаимодействии с некоторыми замещенными фенолами образует флуоресцирующие соединения, хорошо разделяющиеся хроматографически [3, 27, 53].

В [240] описано разделение производных фенолов, получаемых непосредственно на хроматографической пластинке, путем обработки раствором прочного синего ВВ.

Значительное число работ посвящено разделению фенольных соединений до дериватизации. Для ТСХ применяют немодифицированный силикагель, силикагель RP-18, силикагель, импрегнированный полиамиами, вазелиновым маслом, поверхностно-активными веществами и  $\text{AgNO}_3$ , а также полиамид, целлюлозу, вулканический туф, даузекс 50 W и др. Подвижными фазами служат смеси органических растворителей, буферные системы и растворы  $\alpha$ -циклоцестрина [26, 72, 241–246].

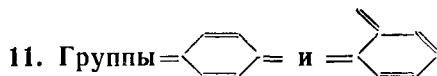
Многоосновные фенолы разделяют на силикагеле или оксида алюминия, а в состав элюентов обычно вводят хлороформ и метанол [26, 247–249]. После разделения фенолы визуализируют обработкой универсальными реагентами [26, 54, 135, 244, 247]. Окрашенные или флуоресцирующие соединения образуются при обработке фенолов растворами солей  $\text{Ce}^{4+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Th}^{4+}$  [3, 38, 135, 241]. Более специфичны для фенолов соли диазония и антипирин с  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  [2, 3, 7, 26, 246]. Многоосновные фенолы могут быть обнаружены с помощью монохлорамина [2, 3, 38, 248, 249].

Широкое распространение для разделения фенолов до дериватизации получила обращенно-фазная колоночная жидкостная хроматография на химически связанных неподвижных фазах:  $\mu$ -бондапак  $C_{18}$ , ультрасфер  $C_{18}$ , зорбакс ODS, гиперсил ODS и др.; в качестве элюентов используют водные растворы ацетонитрила или метанола, которые в ряде случаев содержат буферные системы, уксусную кислоту или противоионы [250–258]. Для разделения фенолов пригодна также нормально-фазная жидкостная хроматография на  $\mu$ -бондапаке  $\text{NH}_2$  или CN,  $\mu$ -порасиле,

<sup>7</sup> См. Blo G. J. Chromatogr., 1983, v. 257, p. 69.

лихросорбе Si 60, зипаксе CN, зорбаксе Sil, сефасорбе НР; подвижной фазой служат смеси органических растворителей: гексана, гептана, хлороформа, изопропилового спирта и др. [18, 23, 252, 257, 258]. Для улучшения хроматографического разделения рекомендуют пропитывать неподвижную фазу растворами солей трехвалентного железа или 8-оксихинолина [260]. Для идентификации фенолов применяют методы масс-спектрометрии, УФ- и ИК-спектроскопии, спектрофлуориметрии [9, 13, 20, 239, 252, 256–258].

Для определения фенолов, так же как и кислот, с одинаковым успехом можно использовать обе схемы хромато-спектрометрического анализа.



Хиноны могут быть обнаружены по окисляющему действию, реакциям с 2,4-динитрофенилгидразином, ароматическими аминами, многоатомными фенолами и циануксусным эфиrom [1, 3, 10, 38]; однако эти способы редко сочетают с разделением, что, возможно, объясняется легкостью восстановления хинонов в соответствующие фенолы.

В результате реакции бензо- и нафтохинонов с бензолсульфиновой кислотой образуются окрашенные и флуоресцирующие диоксидифенил- или диоксифенилнафтисульфоньи, которые разделяют с помощью ТСХ на силикагеле или силуфоле [247, 261].

Для разделения хинонов до дериватизации в тонком слое применяют силикагель или силикагель, пропитанный  $\text{AgNO}_3$ , полиамид и другие сорбенты [26, 262]. Анализ методом колоночной жидкостной хроматографии, как правило, обращенно-фазной проводят на порасиле  $\text{C}_{18}$  или пермофазе ODS с водно-органическими элюентами и УФ-детектором [9, 18, 239, 263].

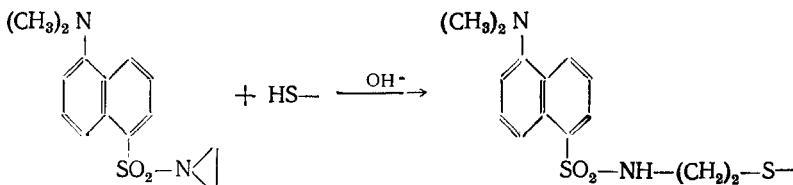
## 12. Группы $-\text{SH}$ и $-\text{S}-\text{S}-$

Использовано пока небольшое число производных, пригодных для хромато-спектрометрического определения соединений с  $-\text{SH}$ -группой, а также группой  $-\text{S}-\text{S}-$  после ее восстановления в  $-\text{SH}$ .

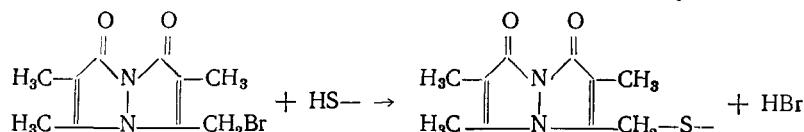
В результате взаимодействия тиолов с  $\text{S},\text{S}'$ -дитио-бис-(2-нитро)бензойной кислотой при  $\text{pH} \sim 8$  образуются окрашенные дисульфиды, которые можно разделить, например, с помощью обращенно-фазной колоночной жидкостной хроматографии на лихросорбе RP-18 с метанол-фосфатным буфером ( $\text{pH } 8.0$ ); идентификацию проводят с помощью УФ-детектора [9, 264].

2,4-Динитротиоэфиры, получающиеся при реакции тиолов с 2,4-динитрохлорбензолом, хорошо разделяются с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии на лихросорбе RP-18 с водным раствором ацетонитрила<sup>8</sup>.

Тиолы реагируют с дансилаизиридином с образованием стабильных производных, легко разделяемых хроматографически [8, 265].



Монобромбиман взаимодействует с тиолами по следующей схеме:



<sup>8</sup> См. Langenhouw H. J. Chromatogr., 1983, v. 257, p. 170.

Образующиеся соединения флуоресцируют, хорошо разделяются хроматографическими и электрофоретическими методами [266–268].

Флуоресцирующие производные, пригодные для анализа тиолов, получают также при взаимодействии с 9-акридил-, N-(n-2-бензимидазил)-фенил- и N-(7-диметиламино-4-метилкумаринил)малеимидами [138, 269, 270]. Недавно описан новый реагент для получения флуоресцирующих производных —7-фторбензо-2-окса-1,3-диазол-4-сульфонат аммония, реагирующий с —SH-группой при температуре ~60° и pH ~9,5. Этот препарат, так же как и НБД-хлорид, к которому он близок по строению, достаточно стабилен и не обладает собственной флуоресценцией. Условия проведения анализа методом колоночной жидкостной хроматографии таких соединений изложены в [271].

Ряд работ посвящен разделению тиолов и дисульфидов до дериватизации методом ТСХ. В качестве сорбентов используют силикагель, смеси силикагеля с хлористым палладием, оксид алюминия, целлюлозу [26, 80, 272–274].

Визуализацию групп —SH и —S—S— на пластинках и в элюатах проводят с помощью как универсальных, так и относительно специфичных реактивов — комплекса дитиофлуоресцеина с o-оксимеркурийбензойной кислотой, смеси азида натрия с иодом, 3,5-ди-трит-бутил-1,2-бензохинона с хлорным железом, 6,6'-диокси-2,2'-динафтилдисульфида, реагива Драгендорфа, растворов сероуглерода и едкого кали в водном бутаноле [26, 274–277].

Для разделения веществ, содержащих группы —SH и —S—S—, применяют метод колоночной жидкостной хроматографии, в особенности обращенно-фазной на  $\mu$ -бондапаке C<sub>18</sub>, сферисорбе ODS, НС пеллосиле ODS и других сорбентах с водно-спиртовыми растворами при определенных значениях pH [10, 138, 278, 279]. Считают, что для идентификации этих соединений целесообразно применять электрохимический детектор [10, 278–280].

В работах [281–284] предложены также реагенты, позволяющие после разделения обнаруживать тиолы по образующимся окрашенным или флуоресцирующим производным. Так, представляет интерес применение смеси o-фталевого альдегида и таурина или других первичных аминов для получения флуоресцирующих изоиндололов.

### 13. Группа >S, >S=O, >S<sup>0</sup><sub>O</sub>

Для анализа соединений, содержащих эти группы, используют в основном методы разделения до дериватизации с помощью ТСХ. Анализ проводят как на чистом, так и на импрегнированном силикагеле и оксиде алюминия с различными системами растворителей [26, 80, 272, 273, 285]. Для визуализации на пластинках применяют иод, тетрацианэтилен, 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,3-бензохинон и др. [26, 80, 273], при необходимости результаты анализа подтверждают масс-спектрометрически [272, 273, 286].

### 14. Группа —O—P=O

Разделение алкил- и арилфосфатов до дериватизации проводят с помощью ТСХ на силикагеле или целлюлозе с рядом элюентов, включающих бензол, метанол, хлороформ, а визуализацию осуществляют путем гидролиза до аниона PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> и последующего взаимодействия, например, с молибдатом или ванадатом аммония с образованием окрашенных соединений [26, 287, 290].

Описано разделение соединений, содержащих указанные группы до дериватизации с помощью нормально- и обращенно-фазной колоночной

**Характеристики некоторых реагентов для хромато-спектрометрических методов**

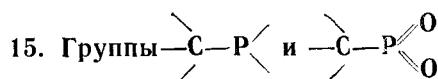
Реагент	Применение		Группы	Способ детекти- рования
	до разде- ления	по раз- делению		
3,5-Динитро-или 4-нитро-бензоилхлорид	+	-	$\text{--NH}_2$ ; $\text{--NH}$ , $\text{--C--OH}$ ; $\text{--C}_6\text{H}_4\text{--OH}$	Окр., УФ, МС
Дансилхлорид	+	-	$\text{--NH}_2$ ; $\text{--NH}$ ; $\text{--C}_6\text{H}_4\text{--OH}$	УФ, ФЛ, МС
2,4-Динитрофторбензол	+	-	$\text{--NH}_2$ ; $\text{--NH}$ ; $\text{--SH}$ ; $\text{--C--OH}$ ; $\text{--C}_6\text{H}_4\text{--OH}$	Окр., УФ, МС,
НБД-хлорид	+	+	$\text{--NH}_2$ ; $\text{--NH}$	Окр., УФ, ФЛ МС
Фенилизо- или фенилизотиоцианат	+	-	$\text{--NH}_2$ ; $\text{--NH}$ ; $\text{--C}_6\text{H}_4\text{--OH}$ ; $\text{--C--OH}$	УФ, МС
<i>o</i> -Фталевый альдегид	+	+	$\text{--NH}_2$	УФ, ФЛ
4-Фенил- <i>спиро</i> (фуран-2), 3Н-1'-фталан)-3,3'-дион (флурам)	+	+	$\text{--NH}_2$	ФЛ, УФ
Нингидрин	-	+	$\text{--NH}_2$	Окр., УФ
Диазотированные сульфаниловая кислота или 4-нитроанилин	+	+	$\text{--C}_6\text{H}_4\text{--NH}_2$ ; $\text{--C}_6\text{H}_4\text{--OH}$	Окр., УФ
Реактив Драгендорфа	-	+	$\text{--N}=\text{N}$ ; $\text{--N}^+ \text{--}$	Окр.,
N-4-Нитробензил-N-пропиламин	+	-	$\text{--N}=\text{C=O}$	УФ
Ацетон и NaOH	-	+	$\text{--C}_3\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$ и $\text{--C}_6\text{H}_2(\text{NO}_2)_3$	Окр., УФ
2,4-Динитро- или 4-нитрофенилгидразин	+	-	$\text{--C=O}$	Окр., УФ, МС
Дансилгидразин	+	-	$\text{--C=O}$	ФЛ, УФ, МС
4-Нитробензилоксиамин	+	-	$\text{--C=O}$	УФ, МС
N'-Метилникотинамидхлорид	+	+	$\text{--CH}_2\text{--C}(=\text{O})$	ФЛ
Димедон	+	-	$\text{H--C}(=\text{O})$	Окр., ФЛ
N, N'-Диметиламино-4-анилин	+	-	$\text{H--C}(=\text{O})$	Окр.
4-Бром- или 4-нитрофенацилбромид	+	-	$\text{--COOH}$	УФ, МС
2-Нафтазилбромид	+	-	$\text{--COOH}$	ФЛ, УФ, МС
n-Нитробензил-N, N'-изопропилизомочевина	+	-	$\text{--COOH}$	Окр., УФ
4-Бромметил-7-метоксикумарин	+	-	$\text{--COOH}$	ФЛ, УФ
1-Нафтил- или 9-антрилдиазометан	+	-	$\text{--COOH}$	ФЛ, УФ
<i>o</i> -Фенилendiамин	+	-	$\text{--C}(=\text{O})\text{--C}(=\text{O})$	ФЛ, УФ
Соли Ce <sup>4+</sup>	-	+	$\text{--COOH}$ ; $\text{--C--OH}$ ; $\text{--C}_6\text{H}_4\text{--OH}$	ФЛ
Ванадат Na и 8-оксихинолин	-	+	$\text{--C--OH}$	Окр.

ТАБЛИЦА (продолжение)

Реагент	Применение		Группы	Способ детектирования
	до разделения	после разделения		
4-Аминоантипирин	+	+	$-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$	Окр.
5,5'-Дитио- <i>bis</i> (2-нитро)-бензойная кислота	-	+	$-\text{SH}$	Окр.
Тетрацианэтилен	-	+	$=\text{S}; =\text{S}=\text{O}; \text{S}=\text{O}$	Окр., МС
Молибдат аммония	-	+	$\begin{array}{c} \text{---O} \\   \\ \text{---O---P=O} \\   \\ \text{---O} \end{array}$	Окр.

Обозначения методов: УФ—по поглощению в УФ-области спектра; ФЛ—по флуоресценции; МС—масс-спектрометрически. Окр.—по окраске.

жидкостной хроматографии с УФ-детектором [10, 291, 292].



Данные по идентификации групп, содержащих связи С—Р, с помощью хромато-спектрометрических методов немногочисленны. Непосредственное разделение ряда фосфоновых кислот проводят методом ТСХ, с визуализацией путем окисления до аниона  $\text{PO}_4^{3-}$  и последующего взаимодействия с молибдатом аммония или другими реактивами; используют также колоночную хроматографию с различными детекторами [26, 289, 293, 294].

Некоторые результаты определения этих групп приведены при описании методов анализа фосфорорганических инсектицидов и продуктов их превращений [10, 18, 138, 295, 296].

#### IV. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные в обзоре данные показывают, что к настоящему времени накоплен обширный экспериментальный материал по функциональному микроанализу органических соединений с использованием сочетания химических превращений, хроматографического разделения и спектрометрической идентификации. Хромато-спектрометрические методы представляют существенный интерес для определения весьма малых количеств ( $10^{-9}$ — $10^{-12}$  г) органических соединений различных классов, причем возможности этих методов значительно больше, чем классического функционального анализа.

Сравнительная оценка реагентов, применяемых для хромато-спектрометрических методов, не проводилась, что затрудняет их выбор для анализа сложных образцов. В связи с этим целесообразно на основании литературных материалов и собственных экспериментальных данных составить перечень и привести некоторые характеристики относительно селективных реагентов, которые в большинстве случаев являются оптимальными для хромато-спектрометрических методов (см. таблицу). Эти данные могут облегчить выбор реагента для проведения анализов различных объектов.

Реакционные хромато-спектрометрические методы нашли практическое применение для микроанализа многих органических веществ по функциональным группам, однако масштабы их использования в настоящее время явно не соответствуют возможностям этих методов. Необходимо расширять область практического применения хромато-спектромет-

рических методов, при этом, по нашему мнению, следует идти по пути упрощения отдельных стадий и автоматизации анализа.

Представляется целесообразным проведение исследований по разработке систематического функционального микроанализа органических соединений хромато-спектрометрическими методами, а также по отысканию способов существенного повышения чувствительности определения, в частности, флуориметрическими и масс-спектрометрическими методами с применением аналитических лазеров.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Черонис Н. Д., Ма Т. С. Микро- и полумикрометоды органического функционального анализа. М.: Химия, 1973.
2. Сиггра С., Ханна Д. Количественный органический анализ по функциональным группам. М.: Химия, 1983.
3. Польодек-Фабини Р., Бейрих Т. Органический анализ. Л.: Химия, 1981.
4. Березкин В. Г., Татаринский В. С., Пальянова М. В., Федячкин М. М. Успехи химии, 1974, т. 43, с. 2088.
5. Ma T., Ladas A. Organic Functional Group Analysis by Gas Chromatography. London: Acad. Press, 1976.
6. Березкин В. Г., Бузланова М. М. Функциональный анализ органических соединений газохроматографическим методом (обзорная информация), М.: ЦНИИТЕХИМ, 1981. Вып. 4, с. 1.
7. Lawrence J. Organic Trace Analysis by Liquid Chromatography. New York: Acad. Press, 1981, p. 143.
8. Knapp D. Handbook of Analytical Derivatization Reactions. New York: J. Wiley, 1981, p. 48.
9. Snyder L., Kirkland J. Introduction to Modern Liquid Chromatography. New York: J. Wiley, 1979, p. 291.
10. Chemical Derivatization in Analytical Chemistry/Eds by R. Frei, J. Lawrence. New York: Plenum Press, 1981, v. 1, p. 38.; 1982, v. 2, p. 127.
11. Полякова А. А. Молекулярный масс-спектральный анализ органических соединений. М.: Химия, 1983, с. 96.
12. Покровский А. А., Костюковский Я. Л., Меламед Д. Б., Медведев Ф. А. Ж. аналит. химии, 1978, т. 33, с. 970.
13. Kemp W. Qualitative Organic Analysis. London; McGraw-Hill 1979.
14. Seiler N. J. Chromatogr., 1977, v. 143, p. 221.
15. Kostyukovskii Ya. L., Medvedev F. A., Melamed D. B. Biomed. Mass-Spectrom., 1981, v. 8, p. 480.
16. High Performance Liquid Chromatography/Ed. by Horvath C. New York: Acad. Press, 1981, p. 208.
17. Яшин Я. И. Ж. аналит. химии, 1982, т. 37, с. 2043.
18. Pryde A., Bibbitt M. Application of High Performance Liquid Chromatography. London: Chapman and Hall, 1979, p. 137.
19. Advances in Mass Spectrometry/Ed. by A. Quayle. London: Heyden, 1980, v. 8B, p. 1076.
20. Nibbering N. Trends Anal. Chem., 1982, v. 1, p. 295.
21. Handbook of Derivatives for Chromatography. London: Heyden, 1978, p. 235.
22. Edmond C., McCloskey J., Edmond A. Biomed. Mass Spectrom., 1983, v. 10, p. 237.
23. Densitometry in Thin Layer Chromatography/Ed. by J. Touchstone, J. Scherme. New York: 1979, p. 153.
24. Сильверстейн Р., Басслер Г., Моррил Т. Спектрометрическая идентификация органических соединений. М.: Мир, 1977.
25. Zipper M., Mowitz J. Anal. Chim. Acta, 1982, v. 140, p. 123.
26. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. М.: Мир, 1981, т. 1, 2.
27. Костюковский Я. Л., Меламед Д. Б. Ж. аналит. химии 1982, т. 37, с. 701.
28. Taylor J., Tier H. Pure Appl. Chem., 1979, v. 51, p. 1603.
29. Official Methods of Analysis. Washington, 1980, p. 38.
30. Костюковский Я. Л., Меламед Д. Б. Ж. аналит. химии, 1983, т. 38, с. 1865.
31. Химия промышленных сточных вод/Под ред. А. Рубина. М.: Химия, 1983, с. 128.
32. Хроматографический анализ окружающей среды. М.: Химия, 1979, с. 132.
33. Костюковский Я. Л., Меламед Д. Б. Ж. аналит. химии, 1979, т. 34, с. 1358.
34. Chen Y. Mikrochim. Acta, 1981, v. 1, p. 343.
35. GLC and HPLC Determination of Therapeutic Agents/Ed. by Tsuji. New York; M. Dekker, 1978, p. 209.
36. Clark R., Wells M. J. Chromatogr. Sci., 1978, v. 16, p. 332.
37. Jacobs W. J. Liquid Chromatogr., 1982, v. 5, p. 881.
38. Коренман И. М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. М.: Химия, 1975, с. 43.
39. Candill W., Wightman R. Anal. Chim. Acta, 1982, v. 141, p. 269.
40. Jandera P., Pechova H., Tocksteinova D. Chromatographia, 1982, v. 16, p. 275.
41. Беленький Б. Г., Королева Е. М., Мальцев В. Г. Докл. АН СССР, 1982, т. 263, с. 1013.

42. Костюковский Я. Л., Меламед Д. Б., Покровский А. А. Ж. аналит. химии, 1978, т. 33, с. 808.
43. Gredo B., Heart M. J. Chromatogr., 1983, v. 255, p. 67.
44. Костюковский Я. Л., Меламед Д. Б. Ж. аналит. химии, 1980, т. 35, с. 1985.
45. Medvedev F. A., Melamed D. B., Kostyukovskii Ya. L. Biomed. Mass Spectrom., 1980, v. 7, p. 354.
46. Imai K., Watanabe V. Chromatographia, 1982, v. 16, p. 214.
47. Spragg B., Hutching S. J. Chromatogr., 1983, v. 258, p. 289.
48. Cong N., Tyihak E., Vajda M., Mincsovics E. J. High Resol. Chromatogr. and Chromatogr. Commun., 1982, v. 5, p. 511.
49. Klimish H., Stender L. J. Chromatogr., 1974, v. 90, p. 141.
50. Меламед Д. Б., Костюковский Я. Л. Вопр. питания, 1978, № 6, с. 64.
51. Umagat H., Kucera P., Weh L. J. Chromatogr., 1982, v. 239, p. 463.
52. Watanabe Y., Imai K. Ibid., 1982, v. 239, p. 723.
53. Seitz W. Critical Rev. in Anal. Chem., 1980, v. 8, p. 367.
54. Lawrence J. J. Chromatogr. Sci., 1979, v. 17, p. 147.
55. Костюковский Я. Л., Медведев Ф. А., Меламед Д. Б. Ж. аналит. химии, 1980, т. 35, с. 551.
56. Обгемперанская С. И., Нгуен Ким Кон. Ж. аналит. химии, 1979, т. 34, с. 2421.
57. Moye H. Anal. Letters, 1979, v. 12B, p. 25.
58. Lindner W. J. Chromatogr., 1980, v. 198, p. 367.
59. Noggle F. J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 1980, v. 63, p. 702.
60. Henderson L. Anal. Biochim. 1980, v. 102, p. 1.
61. Насимов И. В., Левина Н. Б. Биоорганическая химия, 1980, т. 6, с. 393.
62. Wintersteiger R., Gamse G., Pache W. Z. Anal. Chem., 1982, B. 312, S. 455.
63. Hohaus E. Ibid., 1982, B. 310, S. 70.
64. Griffin M., Price S., Palm R. T. Clin. Chim. Acta, 1982, v. 125, p. 89.
65. Skaaden T., Greibrokk T. J. Chromatogr., 1982, v. 247, p. 111.
66. Wassner S., Li J. Ibid., 1982, v. 227, p. 497.
67. Ewens R., Brown J. J. Chern. Ecol., 1982, v. 1, p. 99.
68. Gübitz G., Wintersteiger R. J. Anal. Toxicol., 1980, v. 4, p. 141.
69. Szokan G. J. Liquid Chromatogr., 1982, v. 5, p. 1493.
70. Покровский А. А., Медведев Ф. А., Меламед Д. Б., Костюковский Я. Л. Ж. аналит. химии, 1978, т. 33, с. 1396.
71. Petronio B., Russo M. Chromatographia, 1980, v. 13, p. 623.
72. Srivastava S., Chanhan G. J. Lipid Chromatogr., 1982, v. 5, p. 1081.
73. Lepri L., Desideri P., Heimler D. J. Chromatogr., 1982, v. 245, p. 297.
74. Schwartz D. Ibid., 1982, v. 240, p. 206.
75. Barlocz S., Karsai T. Ibid., 1981, v. 233, p. 198.
76. Barcelon M. Ibid., 1982, v. 238, p. 175.
77. Brinkmann U. J. High Resol. Chromatogr. and Chromatogr. Commun., 1982, v. 5, p. 476.
78. Distler W. Z. Anal. Chem.: 1981, B. 309, S. 127.
79. Ghaffoor A., Barc L. J. Chem. Soc. Pak, 1982, v. 4, p. 147.
80. Кифардин С. А., Макаров К. А. Тонкослойная хроматография в органической химии. Л.: Химия, 1978, с. 51.
81. Narang A., Chondhury D., Richards A. J. Chromatogr. Sci., 1982, v. 20, p. 235.
82. Krause R. J. Chromatogr., 1983, v. 255, p. 497.
83. Suzuki R., Ujimoto K., Kurihara H. Ibid., 1982, v. 243, p. 253.
84. Sayem N., Simard R. Ibid., 1983, v. 256, p. 313.
85. Larson J., Pfeiffer C. Ibid., 1983, v. 259, p. 519.
86. Roumeliotis P., Unger K., Kurganova A. A., Davankov B. A. Ibid., 1983, v. 255, p. 51.
87. Kok W., Frei R. Ibid., 1983, v. 256, p. 17.
88. Kucera P., Umagat H. Ibid., 1983, v. 255, p. 563.
89. Light A., Bowinau R. J. Liquid Chromatogr., 1981, v. 4, p. 825.
90. Ram N., Morris J. Ibid., 1981, v. 4, p. 791.
91. Hamilton R., Sewell P. Introduction to High Performance Liquid Chromatography. New York: J. Wiley, 1978, p. 151.
92. Schmeltz J., Dyer C., Matacker J. J. Chromatogr., 1982, v. 245, p. 309.
93. Papp E., Vigh G. Ibid., 1983, v. 259, p. 49.
94. Vapge Z., Vigh G. Ibid., 1983, v. 257, p. 380.
95. Hurst R., Fish F. Anal. Chem., 1981, v. 53, p. 2175.
96. Becher G. J. Chromatogr., 1981, v. 211, p. 103.
97. Gübitz G., Wintersteiger R. Ibid., 1981, v. 218, p. 51.
98. Ruijten H., Amsterdam P., De Bree H. Ibid., 1982, v. 252, p. 193.
99. Обгемперанская С. И., Кафрави А. Вестн. МГУ. Химия, 1981, т. 22, с. 311.
100. Gübitz G. Microchim. Acta, 1979, v. 2, p. 355.
101. Brinkmann U. Anal. Chem. Sympos. Ser. 1980, v. 3, p. 247.
102. Волкова Н. С., Примакова Т. Б., Соколов С. Д. Хим. фарм. ж., 1981, № 9, с. 111.
103. Gorham J., Coughlan S. J. Chromatogr., 1981, v. 210, p. 550.
104. Giebelmann R. Pharmazie, 1982 B. 37, S. 737.
105. Hackzell J., Schill G. Acta Pharm. Suec., 1981, v. 18, p. 257.
106. Jarson J., Preiffer C. Anal. Chem., 1983, 55, p. 393.
107. Crommen I. J. Chromatogr., 1980, v. 193, p. 225.
108. Bauer D., Parret J., Ruch B. Ibid., 1982, v. 249, p. 283.
109. Fiala E., Kulakis C. Ibid., 1981, v. 214, p. 229.

110. Sango C. J. Liquid Chromatogr., 1980, v. 3, p. 971.
111. Kormos L., Sandridge R., Keller J. Anal. Chem., 1981, v. 53, p. 1122.
112. Bagon D., Purnell C. J. Chromatogr., 1980, v. 190, p. 175.
113. Goldberg P., Walker R., Hardy H. Ibid., 1981, v. 212, p. 93.
114. Warwick C., Bagon D. Analyst, 1981, v. 106, p. 676.
115. Meyer S., Tallman D. Anal. Chim. Acta, 1983, v. 146, p. 227.
116. Sango C. J. Liquid Chromatogr., 1979, v. 2, p. 763.
117. Verma K., Dubey S. Talanta, 1981, v. 28, p. 485.
118. Каминская Э. Г. В сб.: IV Всесоюзн. конф. по аналитической химии органических соединений. М.: Наука, 1980, с. 31.
119. Каминский А. Д. Там же, с. 216.
120. Bieganońska M., Soczewinski E. J. Chromatogr., 1981, v. 205, p. 451.
121. Newman H. Arch. Kriminol., 1982, B. 169, S. 65.
122. Newton D. Environ. Sci. Technol., 1982, v. 16, p. 216.
123. Settlage J., Gielsdorg W., Jaeger H. J. High Resol. Chrom. and Chromatogr. Commun., 1983, v. 6, p. 68.
124. Bartos J., Perez M. Pure Appl. Chem., 1979, v. 51, p. 1803.
125. Frei R. Planta Medica, 1980, v. 38, p. 1.
126. Король А. Н. Ж. аналит. химии, 1981, т. 36, с. 763.
127. Кузнецова Е. В., Тараненко С. А., Моржакова Т. М., Милькина Т. М., Кудинова Л. М., Баталин О. Е. Там же, 1982, т. 37, с. 1292.
128. Van Langenhove H., Acker M. Analyst, 1983, v. 108, p. 329.
129. Piendl A., Westner H. Brauwissenschaft, 1981, B. 34, S. 117.
130. Johnson L., Josefsson B., Marstorp P. Int. J. Environ. Anal. Chem., 1981, v. 9, p. 7.
131. Creech G., Johnson R., Stoffer J. J. Chromatogr. Sci., 1982, v. 20, p. 67.
132. Reindi B., Stan H. J. Chromatogr., 1982, v. 235, p. 481.
133. Lipari F., Swarín S. Ibid., 1982, v. 247, p. 297.
134. Levine S., Harvey T., Waeghe T., Shapiro R. Anal. Chem., 1981, v. 53, p. 805.
135. Jupille T. J. Chromatogr., 1979, v. 17, p. 160.
136. James D., Alcock N. Int. J. Mass. Spectrom Ion Phys., 1983, v. 46, p. 181.
137. Rendine A., Cleland W. Anal. Biochem. 1981, v. 117, p. 213.
138. Development in Food Analysis Techniques II/Ed. by R. King. London: Appl. Sci. Publ. 1980, p. 10.
139. Hayashi T., Tsuchiya H., Naruse H. J. Chromatogr., 1983, v. 273, p. 245.
140. Moree-Testa P., Saint-Jalm V. Ibid., 1981, v. 217, p. 197.
141. Vesundhara T., Parihar D. Ibid., 1979, v. 176, p. 225.
142. Дрегваль Г. Ф., Кузнецова В. Н. В сб.: IV Всесоюзн. конф. по аналитической химии органических соединений. М.: Наука, 1980, с. 194.
143. Nakamura H., Tamura Z. J. Chromatogr., 1979, v. 168, p. 481.
144. Okamoto M., Ohtsuka K., Imai J. Ibid. 1981, v. 219, p. 175.
145. Potesil T., Potesilova H. Ibid., 1982, v. 249, p. 131.
146. Burtscher E., Binder H. Ibid., 1982, v. 252, p. 167.
147. Ghahasambardan T., Freiser H. Anal. Chem., 1981, v. 53, p. 909.
148. Klough T. Ibid., 1982, v. 54, p. 2540.
149. Roorda J., Gonnet C., Rocca J. Analysis, 1982, v. 10, p. 409.
150. Gattavecchia E., Tonelli D. J. Chromatogr., 1983, v. 260, p. 517.
151. Distler W. Ibid., 1980, v. 192, p. 240.
152. Kamada S., Maeda M., Tsuji A. Ibid., 1983, v. 272, p. 29.
153. Шаршунова М., Шварц В., Михаил И. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. М.: Мир, 1980, с. 519.
154. Roggero J., Coen S. J. Liquid Chromatogr., 1981, v. 4, p. 1817.
155. Takayama K. Ibid., 1980, v. 3, p. 61.
156. Hullett D., Eisenreich S. Anal. Chem., 1979, v. 51, p. 1953.
157. Buslig B., Wilson C., Shaw P. J. Agric. Food Chem., 1982, v. 30, p. 342.
158. Wood R., Lee T. J. Chromatogr., 1983, v. 254, p. 237.
159. Patience R., Thomas J. Ibid., 1982, v. 249, p. 183.
160. Hulgunset J., Lund E. J. Chromatogr., 1982, v. 237, p. 496.
161. Tsuchiya H., Hayashi T., Nasure H. Ibid., 1982, v. 234, p. 121.
162. Voelter W., Hubert R., Zech K. Ibid., 1981, v. 217, p. 491.
163. Guebitz G. Ibid., 1980, v. 187, p. 208.
164. Corte W. Ibid., 1982, v. 243, p. 153.
165. Алексеев С. М., Помойницкий В. Д., Сарычева И. К., Евстигнеева Р. П. Хим.-фарм. ж., 1981, № 11, с. 115.
166. Алексеев С. М., Конкин Е. Е., Сарычева И. К., Помойницкий В. Д., Золотухин С. В., Евстигнеева Р. П. Там же, 1983, № 5, с. 619.
167. Duenges W., Seiler N. J. Chromatogr., 1978, v. 145, p. 483.
168. Lloyd J. Ibid., 1979, v. 178, p. 249.
169. Matthees D. Anal. Chim. Acta, 1979, v. 109, p. 61.
170. Nimura N., Kinoshita T. Anal. Letters, 1980, v. 13A, p. 191.
171. Brkker S., Monti J., Christian S. Anal. Biochem., 1980, v. 107, p. 116.
172. Imaoka S., Funae Y. Ibid., 1983, v. 128, p. 459.
173. Korte W. J. Chromatogr., 1982, v. 243, p. 153.
174. Ikeda M., Shimada K. Ibid., 1983, v. 272, p. 251.
175. Ikenoya S., Hiroshima O. Chem. Pharm. Bull., 1980, v. 28, p. 2941.
176. Лисняк И. Л. Укр. биохим. ж., 1981, № 1, с. 111.
177. Poole C., Zlatkis A. J. Chromatogr., 1980, v. 184, p. 99.

178. *Kwapniewski Z., Cichon R.* Microchem. J., 1979, v. 24, p. 298.
179. *Rathore H., Prakash A., Sharma S.* Ann. Chim., 1980, v. 70, p. 425.
180. *Жоробекова Ш. Ж., Блешинский С. В.* Изв. АН КиргССР, 1981, № 3, с. 68.
181. *Gaberc-Porekar V.* J. Chromatogr., 1979, v. 178, p. 307.
182. *Schwarzenbach R.* Ibid., 1982, v. 251, p. 339.
183. *Mahoney E. J.* Biol. Chem., 1980, v. 255, p. 4910.
184. *Schimmel H. J.* High Resol. Chromatogr. and Chromatogr. Commun., 1981, v. 4, p. 537.
185. *Гаркуша В. С., Рудаков Е. С., Рудакова Р. И., Мироненко Н. И.* Укр. хим. ж., 1982, т. 48, с. 978.
186. *Hinze W., Armstrong D.* Anal. Letters, 1982, v. 15A, p. 1093.
187. *Chen Sheng-Chin.* J. Chromatogr., 1982, v. 238, p. 480.
188. *Ray W., Katon J., Krause P.* Ibid., 1979, v. 178, p. 307.
189. *Jones P., Wellington C.* Ibid., 1981, v. 213, p. 357.
190. *Niesson B., Samuelson O.* Ibid., 1981, v. 212, p. 1.
191. *Hanai T., Trau K., Hubert J.* Ibid., 1982, v. 239, p. 325.
192. *Naleway J., Hoffman N. J.* Liquid Chromatogr., 1981, v. 4, p. 1323.
193. *Vera-Avila L., Cande M., Rosset R.* Analisis, 1982, v. 10, p. 43.
194. *Averdano M., Van Rollins M. J.* Lipid Res., 1983, v. 24, p. 83.
195. *Rotsch T., Pietrzyk D. J.* Chromatogr. Sci., 1981, v. 19, p. 88.
196. *Guinchard C., Masson J., Truong T. J.* Liquid Chromatography., 1982, v. 5, p. 1123.
197. *Reges F., Wrolstad R., Cornwell J. J.* Assoc. Offic. Anal. Chem., 1982, v. 65, p. 126.
198. *Kozukae N. J.* Food Sci., 1981, v. 46, p. 156.
199. *Marsili R., Ostapenko H., Green D.* Ibid., 1981, v. 46, p. 52.
200. *Otto J., De Hernandez C. J.* Chromatogr., 1982, v. 247, p. 91.
201. *Green J.* Ibid., 1981, v. 209, p. 211.
202. *Vrathy P., Mines O., Strop P., Couper J.* Ibid., 1983, v. 257, p. 23.
203. *Rajakyla E.* Ibid., 1981, v. 218, p. 695.
204. *Henke H. J.* High Res. Chromatogr. and Chromatogr. Commun., 1980, v. 3, p. 69.
205. *Svensson N., Sispontes L., Nyborg G.* Lipids, 1982, v. 17, p. 50.
206. *Battaglia R.* Chromatographia, 1980, v. 13, p. 428.
207. *Ozcidmer M. J.* Chromatogr., 1980, v. 187, p. 307.
208. *Payhl-Wane K., Spencer G., Platner R.* Ibid., 1981, v. 209, p. 61.
209. *Voyksner R., Hass J., Bursey M.* Anal. Letters, 1982, v. 15A, p. 1.
210. *Grafer J., Lindstedt S.* Adv. Mass. Spectrom., 1980, v. 8B, p. 1362.
211. *Костюковский Я. Л.* Ж. аналит. химии, 1970, т. 25, с. 2228.
212. *Funk M., Keller M., Levison B.* Anal. Chem., 1980, v. 52, p. 771.
213. *Oliveri-Vigh S. J.* Pharm. Sci., 1978, v. 67, p. 1035.
214. *Cornish L., Ferrie R. J.* Chromatogr. Sci., 1981, v. 19, p. 85.
215. *Hara S.* Chem. Pharm. Bull., 1980, v. 28, p. 1641.
216. *Борисова М. А., Шапилов О. Д., Костюковский Я. Л.* Ж. орган. химии, 1974, т. 10, с. 932.
217. *Willett J., Brody E., Knigh M. J.* Amer. Oil Chem. Soc., 1982, v. 59, p. 273.
218. *Perisic-Janjic N. Z.* Anal. Chem., 1979, B. 295, S. 263.
219. *Qureshi N., Takayama K., Shnoes H. J.* Liquid Chromatogr., 1981, v. 4, p. 1207.
220. *Lawrence J., Frei R.* Chemical Derivatisation in Liquid Chromatography. Amsterdam: Elsevier, 1976.
221. *Winson J.* Anal. Chem., 1977, v. 49, p. 163.
222. *Обтеплеранская С. И., Наусн Ким Кан.* Ж. аналит. химии, 1974, т. 29, с. 942.
223. *Wintersteiger R. J.* Liquid Chromatogr., 1982, v. 5, p. 897.
224. *Wintersteiger R. Z.* Anal. Chem., 1981, B. 309, S. 201.
225. *Wintersteiger R., Winninger G. J.* Chromatogr., 1982, v. 237, p. 399.
226. *Messina A., Corradini D.* Ibid., 1981, v. 207, p. 152.
227. *Pool C., Singhwangche S. J.* High Resol. Chromatogr. and Chromatogr. Commun., 1976, v. 1, p. 96.
228. *Sliwiok J.* Chromatographia, 1981, v. 14, p. 197.
229. *Ganasambandan T.* Anal. Chem., 1982, v. 54, p. 1282.
230. *Wasik S., Miller M., Tewari V.* Residue Rev., 1983, v. 85, p. 29.
231. *Barth T., Tjessem K., Aaberg A. J.* Chromatogr., 1981, v. 214, p. 83.
232. *Ujimoto R., Kurihara H.* Ibid., 1981, v. 208, p. 183.
233. *Gandelman M., Birks J.* Ibid., 1982, v. 242, p. 21.
234. *Костюковский Я. Л., Меламед Д. Б.* Ж. аналит. химии, 1981, т. 36, с. 134.
235. *Berbaek H., Eichinger R.* Monatshefte Chem., 1980, B. 111, S. 529.
236. *Kuwata K., Uebori M.* Anal. Chem., 1981, v. 53, p. 1531.
237. *Baitochi C., Campi E., Genoro M.* Chromatographia, 1982, v. 15, p. 600.
238. *Danch A., Machnicka M.* Chem. Anal. Wars., 1981, v. 26, p. 87.
239. *Knox J., Doue J.* High Performance Liquid Chromatography. Edinburg: Univers, Press, 1979, p. 135.
240. *Jakovljevic J. J.* Chromatogr., 1980, v. 192, p. 425.
241. *Kumar H., Sharma A.* Ibid., 1982, v. 245, p. 126.
242. *Lichtenhaler H.* Ibid., 1982, v. 242, p. 196.
243. *Lepri L., Desiderio P., Heimler D.* Ibid., 1982, v. 248, p. 308.
244. *Чмиль В. Д.* Ж. аналит. химии, 1981, т. 36, с. 729.
245. *Sarbu C., Persa D.* Rev. Chim., 1982, v. 33, p. 271.
246. *Цендрровская В. А., Шевченко А. М.* Гигиена и санитария, 1982, № 2, с. 75.
247. *Тимофеева С. С., Стом Д. И.* Ж. аналит. химии, 1976, т. 31, с. 198.

248. Thielemann H. Sci. Pharm., 1980, v. 48, p. 389.
249. Bajaj K., Arora V. J. Chromatogr., 1980, v. 196, p. 309.
250. Villeneuve F., Abravanel G. Ibid., 1982, v. 234, p. 131.
251. Roumeliotis P., Liebald W. Int. J. Environ. Anal. Chem., 1981, v. 9, p. 27.
252. Revillon A. Spectra 2000, 1981, v. 9, p. 11.
253. Pel H., Takeuchi T. J. High. Resol. Chromatogr. and Chromatogr. Commun., 1982, v. 5, p. 434.
254. Realini P. J. Chromatogr. Sci., 1981, v. 19, p. 124.
255. Chao G., Suatoni J. Ibid., 1982, v. 20, p. 436.
256. Shoup R., Mayer G. Anal. Chem., 1982, v. 54, p. 1164.
257. Ogan K., Katz E. Ibid., 1981, v. 53, p. 160.
258. Schabron J., Hurtubise R., Silver H. Ibid., 1979, v. 51, p. 1426.
259. Hurtubise R., Hussain A., Silver H. Ibid., 1981, v. 53, p. 1993.
260. Shawan G., Jezorak J. J. Chromatogr., 1983, v. 256, p. 39.
261. Стадник А. С., Лурье Ю. Ю., Дедков Ю. И. Труды ВНИИ Вод. гео., 1978, № 71, с. 63.
262. Lichtenhaled H. J., Chromatogr., 1982, v. 242, p. 196.
263. Prenzel U., Lichtenhaled H. Ibid., 1982, v. 242, p. 9.
264. Kuwata K. Anal. Chem., 1982, v. 54, p. 1082.
265. Lankmayr E., Budna K., Mueller K. Z. Anal. Chem., 1979, B. 295, S. 371.
266. Kosower N., Kosower E., Zipser Y., Faltin Z. Biochim. et Biophys. Acta, 1981, v. 640, p. 748.
267. Newton G., Dorian R., Fahey R. Anal. Biochem., 1981, v. 114, p. 383.
268. Fahey R., Newton G., Dorian R., Kosower E. Ibid., 1981, v. 111, p. 357.
269. Yamamoto K., Okamoto Y. Ibid., 1978, v. 84, p. 313.
270. Takahashi K., Nara V., Meguko H., Tuzimura K. Agric. Biol. Chem., 1979, v. 43, p. 1439.
271. Imai K., Toyooka T., Watanabe Y. Anal. Biochem., 1983, v. 128, p. 471.
272. Matsunaga A., Kusayanagi S. J. Japan. Petr. Inst., 1981, v. 24, p. 298.
273. Ashworth M. The Determination of Sulphur Containing Groups London: 1977, v. 3, p. 82.
274. Ito S., Fujita K. J. Chromatogr., 1980, v. 187, p. 418.
275. Tesler A., Rovin B. Biochim. et Biophys. Acta, 1980, v. 624, p. 363.
276. Prasad B., Kawale C., Padalikar S. Science and Culture, 1980, v. 46, p. 275.
277. Verma B., Chauhan S., Singh M. Natl. Acad. Sci. Letters, 1982, v. 5, p. 131.
278. King W., Kissinger P. Clin. Chem., 1980, v. 26, p. 1484.
279. Ingebretsen O., Farstad M. J. Chromatogr., 1981, v. 210, p. 522.
280. Frank J. Chimia, 1981, B. 35, S. 24.
281. Nakamura H., Tamura Z. Anal. Letters, 1982, v. 15A, p. 1393.
282. Nakamura H., Tamura Z. Anal. Chem., 1982, v. 54, p. 1951.
283. Studebaker J. J. Chromatogr., 1979, v. 185, p. 497.
284. Wronski M. Ibid., 1982, v. 248, p. 363.
285. Joyce W., Uden P. Anal. Chem., 1983, v. 55, p. 540.
286. Tressl R., Silwar R. J. Agric. Food. Chem., 1981, v. 29, p. 1078.
287. Mann A., Hucklesby D., Hewitt E. Anal. Biochim., 1979, v. 96, p. 6.
288. Krohn J. Z. Anal. Chem., 1980, B. 301, S. 431.
289. Thomas L. The Identification of Functional Groups in Organophosphorus Compounds. London: Acad. Press, 1974, p. 12.
290. Murty A., Christopher K. J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 1980, v. 63, p. 756.
291. Scharbon J., Bradfield D. Anal. Chim. Acta, 1981, v. 129, p. 243.
292. Tittarelli P., Mascherpa A. Anal. Chem., 1981, v. 53, p. 1466.
293. Yeh P. J. Chromatogr. Sci., 1981, v. 19, p. 27.
294. Chester T., Lewis E., Benedict J. J. Chromatogr., 1981, v. 225, p. 17.
295. Методы определения микроколичеств пестицидов. М.: Колос, 1977, с. 75.
296. Bales J. Pure Appl. Chem., 1982, v. 54, p. 1361.

Институт питания АМН СССР,  
Москва