

УДК 543.544.45

## ЭФФЕКТЫ ДИНАМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ НЕПОДВИЖНЫХ ФАЗ СОРБАТАМИ В ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ. О ВОЗМОЖНОСТИ РАЗДЕЛЕНИЯ ЭНАНТИОМЕРОВ В АХИРАЛЬНЫХ СИСТЕМАХ

© 2016 г. И. Г. Зенкевич, А. А. Павловский

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии

E-mail: izenkevich@mail15.com

Поступила в редакцию 19.12.2015 г.

Показано, что газохроматографическое разделение энантиомеров на колонках с ахиральными неполярными неподвижными фазами принципиально возможно в результате динамической модификации неподвижных фаз анализируемыми сорбатами. Установлено, что такому разделению присущ ряд принципиальных особенностей: оно может быть только частичным, проявляется не для всех хроматографических колонок, наблюдается не для всех соединений и только в узких диапазонах количеств сорбатов, близких к границам массовой перегрузки хроматографических систем. Перечисленные особенности проиллюстрированы примерами разделения (1*R*,5*R*)-(+)- и (1*S*,5*S*)-(-)- $\alpha$ -пиненов на WCOГ-колонке с фазой RTX-5.

Главная особенность разделения энантиомеров в результате динамической модификации неподвижных фаз – несоответствие пиков на хроматограммах двум индивидуальным энантиомерам, как в других методах и способах их разделения; первый по порядку элюирования пик принадлежит преобладающему в смеси энантиомеру вне зависимости от его конфигурации, тогда как второй соответствует рацемической смеси энантиомеров, т.е. соотношение площадей пиков на хроматограммах не соответствует реальному соотношению количеств энантиомеров в анализируемых образцах и сильно искажено за счет их неполного разделения. Сделан вывод, что разделение рацемических смесей в ахиральных системах принципиально невозможно ни при каких условиях – один из главных критериев корректности рассматриваемой концепции в целом.

*Ключевые слова:* газовая хроматография, неполярные неподвижные фазы, динамическая модификация сорбатами, энантиомеры, частичное разделение.

DOI: 10.7868/S0044453716100320

Индексы удерживания (RI) – важнейшие хроматографические инварианты, используемые для идентификации компонентов сложных смесей [1]. Однозначность идентификации зависит от межлабораторной воспроизводимости указанных параметров. Это определяет актуальность выявления, характеристики и, по возможности, минимизации влияния всех факторов, влияющих на воспроизводимость индексов. К главным причинам их вариаций относят подробно охарактеризованную температурную зависимость RI(*T*) [1–3] и реже принимаемое во внимание влияние относительных количеств характеризующих и реперных компонентов [4–6]. Кроме того, для минимальных количеств сорбатов, близких к пределам их детектирования и границам инертности хроматографических систем [7], значимы эффекты их сорбции на границах раздела фаз [8, 9].

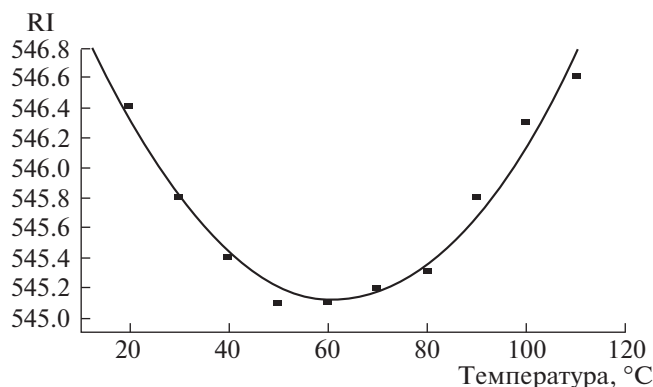
Несмотря на, казалось бы, всестороннюю характеристику этих факторов, в особенности, зависимостей RI(*T*), в 1990 – начале 2000-х гг. были выявлены примеры не монотонных, а аномаль-

ных (имеют экстремумы, чаще всего минимумы) температурных зависимостей индексов удерживания [10–15]. Для некоторых полярных соединений на неполярных фазах понижение температуры сначала закономерно проявляется в уменьшении RI (соответствует условию  $\beta > 0$ ), но после достижения некоторого значения *T* температурные коэффициенты  $\beta = dRI/dT$  меняют знак. В результате на зависимостях RI(*T*) появляются минимумы (рис. 1).

Попытки теоретической интерпретации наблюдаемых эффектов [10–15] длительное время оставались безуспешными, только для аппроксимации нелинейных зависимостей RI(*T*) вместо обычно используемого линейного соотношения

$$RI(T) = RI(T_0) + dRI/dT(T - T_0), \quad (1)$$

где  $\beta = dRI/dT \approx [RI(T_2) - RI(T_1)] / (T_2 - T_1)$  – температурный коэффициент индексов удерживания, *T* – температура определения RI, *T*<sub>0</sub> – некоторая условно стандартная температура, к которой приводят определяемые величины RI, значения



**Рис. 1.** Зависимость индексов удерживания пропионитрила  $C_2H_5CN$  на неполярной фазе HP-1 (WCOT-колонка, толщина пленки фазы 0.5 мкм) от температуры по данным [13].

$RI(T_0)$  и  $\beta$  вычисляют методом наименьших квадратов, была предложена более сложная гиперболически-логарифмическая функция [11]:

$$RI(T) = A + B/T + C \ln T. \quad (2)$$

Значения  $A$ ,  $B$  и  $C$  вычисляют методом наименьших квадратов.

Только в 2014 г. было показано [16], что вид зависимостей  $RI(T)$  (возрастающие, убывающие или имеющие экстремумы) даже для одних и тех же сорбатов сильно зависит от их количеств, дозируемых в хроматографическую колонку. Специальные эксперименты позволили установить, что аномалии  $RI(T)$  (появление экстремумов) не связаны с массовой перегрузкой хроматографических систем [17, 18], а обусловлены эффектами динамической модификации неподвижных фаз полярными сорбатами. Базирующаяся на этих посылах физико-химическая модель [19] позволила объяснить все аномалии зависимостей  $RI(T)$ .

Проявления динамической модификации неподвижных фаз в газовой хроматографии достаточно разнообразны и известны под разными названиями, в том числе “эффект растворителя”, свойства бинарных фаз переменного состава и др. Одно из них, представляющееся наиболее интересным, заслуживает специального обсуждения. Речь идет о возможности разделения энантиомеров с использованием ахиральных хроматографических систем. Теоретическая невозможность по-

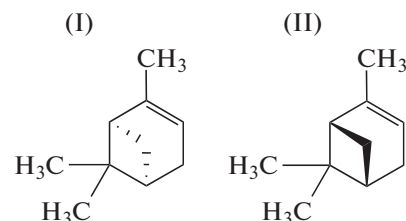
**Таблица 1.** Угол вращения, измеренный ( $\varphi$ ) и с учетом поправки на растворитель ( $\varphi_1$ ), град

| Образец              | $\varphi$          | $\varphi_1$        | $[\alpha]_D^{20}$ |
|----------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| (+)- $\alpha$ -Пинен | $+0.339 \pm 0.008$ | $+0.303 \pm 0.009$ | +35.2             |
| (-)- $\alpha$ -Пинен | $-0.350 \pm 0.001$ | $-0.386 \pm 0.005$ | -44.9             |
| 2-Пропанол           | $+0.036 \pm 0.005$ | —                  | —                 |

добного разделения в общем случае общепризнана. Тем не менее, известны “неожиданные” примеры такого разделения, которые можно объяснить именно динамической модификацией неподвижных фаз. Настоящая работа посвящена рассмотрению таких эффектов в газовой хроматографии с использованием капиллярных колонок WCOT со стандартными неполярными полидиметилсилоксановыми неподвижными фазами.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объектов для характеристики эффектов динамической модификации неподвижной фазы газохроматографической колонки на разделение энантиомеров выбраны препараты (Sigma-Aldrich) полярного спирта и неполярного углеводорода: *S*-(+)-2-бутанол (CAS № 4221-99-2, энантиомерная чистота 99%), *R*-(-)-2-бутанол (CAS № 14898-74-9, 99%), и (1*R*,5*R*)-(+)- $\alpha$ -пинен (CAS № 7785-70-8, энантиомерная чистота по разным данным 87–97%) (I) и (1*S*,5*S*)-(-)- $\alpha$ -пинен (CAS № 7785-26-4,  $\geq 97\%$ ) (II):



Проверку удельного оптического вращения (+)- и (-)- $\alpha$ -пиненов для оценки их индивидуальности проводили на поляриметре PolAAG 3005 (Optical Activity, Великобритания) для растворов в 2-пропанолу с концентрациями 100 мкл/10 мл (0.86 г/100 мл) в кювете длиной 10 см при комнатной температуре для длины волны 589.4 нм. Получены следующие значения, подтверждающие, что, в соответствии с данными Sigma-Aldrich, энантиомерная чистота образца (+)- $\alpha$ -пинена существенно меньше, чем (-)- $\alpha$ -пинена (табл. 1).

Величину  $+0.036 \pm 0.005$ , по-видимому, следует воспринимать не как оптическое вращение 2-пропанола, а как некоторую приборную поправку, на значение которой исправлены измеренные углы вращения (см. второй столбец табл. 1).

Для оценки справочных величин  $[\alpha]_D^{20}$  энантиомеров были использованы не менее  $N = 20$  значений из Интернета, характеризующихся значительным разбросом (табл. 2).

Тем не менее, максимальные по абсолютным величинам значения  $[\alpha]_D^{20}$  для каждого из энантиомеров хорошо согласуются друг с другом и, следовательно, могут быть выбраны в качестве справочных данных. Если принять такое предположение, то энантиомерная чистота препаратов  $\alpha$ -пинена

несколько отличается от паспортных данных и составляет ~68% для (+)- и ~87% для (–)-изомеров.

Для газохроматографического анализа характеризующие соединения (от 20 до 60 мкл) смешивали с 50–100 мкл 2-пропанола и добавляли 100 мкл смеси реперных *n*-алканов C<sub>8</sub>–C<sub>11</sub>. Для хромато-масс-спектрометрического анализа образцы готовили смешением 1 – 10 мл 2-пропанола с 100 мкл реперных *n*-алканов и 0.5–2.0 мкл (+)- и/или (–)- $\alpha$ -пинена. Выбор растворителя обусловлен его небольшим индексом удерживания на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах ( $486 \pm 9$ ; не мешает регистрации пика 2-бутанола, RI 600  $\pm$  13) в сочетании с достаточно высокой температурой кипения ( $T_{\text{кип}} = 82.4^\circ\text{C}$  и значительной удельной теплотой парообразования<sup>1</sup>. Концентрации компонентов растворов пересчитывали в массо-объемные единицы (мкг/мкл) с учетом их относительных плотностей при комнатной температуре.

Газохроматографический анализ образцов проводили на газовом хроматографе Хроматэк-Кристалл 5000.2 с пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой из плавленного кварца длиной 10 м, внутренним диаметром 0.53 мм со стандартной неполярной полидиметилсилоксановой неподвижной фазой ВРХ-1 (толщина пленки фазы 2.65 мкм) в изотермических условиях при температуре 120°C. Объемная скорость газа-носителя (азот) 5.1 мл/мин (линейная скорость 48.5 см/с), деление потока 6.4 : 1, температура испарителя 150°C, температура детектора 180°C. Дозируемые количества всех образцов 0.5 мкл.

Хромато-масс-спектрометрический анализ проводили на хромато-масс-спектрометре Shimadzu QP 2010 в режиме ионизации электронами, температуры интерфейса и источника ионов 200°C. Колонка RTX-5 MS длиной 30 м, внутренним диаметром 0.32 мм, толщина пленки неподвижной фазы 0.25 мкм. Режим анализа изотермический, температура 100°C, газ-носитель гелий, объемная скорость 1.83 мл/мин, сброс 1 : 10, температура испарителя 200°C, объем дозируемых проб 0.5 мкл.

Для определения логарифмических индексов удерживания (Ковача) целевых компонентов в образцы добавляли 0.5 мкл смеси реперных *n*-алканов C<sub>8</sub>–C<sub>11</sub>; при вычислении индексов использовали программу QBasic. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Origin (версии 4.1 и 8.1).

<sup>1</sup> Удельная теплота испарения 2-пропанола составляет 0.76 кДж/г, что в 2 раза больше, чем для *n*-гексана или диэтилового эфира (0.37 кДж/г) [20]. Это позволяет минимизировать искажения состава анализируемых растворов за счет испарения растворителя в процессе работы с ними.

**Таблица 2.** Диапазон значений  $\varphi$ , среднее значение ( $\varphi_{\text{ср}}$ )  $\pm$  стандартное отклонение ( $\delta$ ) и максимальное и минимальное значения  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$

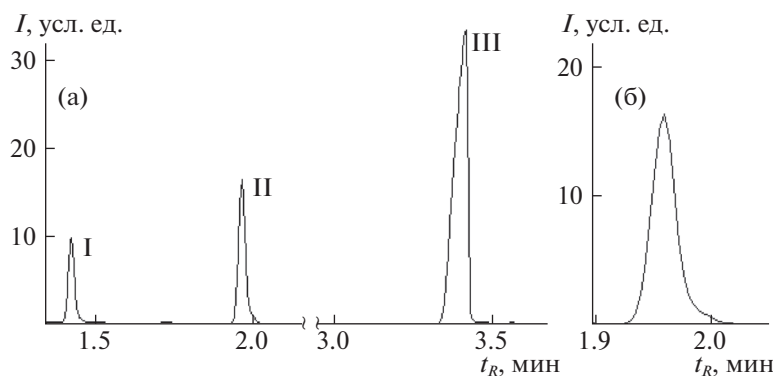
| Образец              | $\varphi$ , град | $\varphi_{\text{ср}} \pm \delta$ , град ( <i>N</i> ) | $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ |
|----------------------|------------------|--|----------------------------|
| (+)- $\alpha$ -Пинен | +15...+ 51.8     | 34.2 $\pm$ 9.3 (21)                                  | +51.8                      |
| (–)- $\alpha$ -Пинен | –51.5...–10      | –36.0 $\pm$ 11.3 (23)                                | –50.4 $\pm$ 0.7 (5)        |

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рассматривая проблему хроматографического разделения энантиомеров, необходимо специально подчеркнуть, что положение о теоретической невозможности решения этой задачи с использованием ахиральных хроматографических систем в настоящее время можно считать общепризнанным. Такое разделение эквивалентно возникновению оптической активности ахиральных сред, что невероятно. Тем не менее, регулярно появляются публикации, в той или иной степени затрагивающие проблему разделения энантиомеров в ахиральных хроматографических системах или же “самопроизвольных” вариаций хиральных свойств веществ [21–23]. Однако при более детальном рассмотрении большинство из подобных публикаций закономерно оказываются ошибочными.

Между тем, если допустить, что разделяемые образцы в той или иной степени могут модифицировать неподвижные фазы, то разделение энантиомеров (за исключением их рацемических смесей) становится принципиально возможным. Приведенное же выше общее ограничение должно быть уточнено следующим образом: с использованием ахиральных хроматографических систем принципиально невозможно разделение рацемических смесей. Если же анализируемые образцы содержат неэквивалентные количества энантиомеров и, следовательно, хиральны, то динамическая модификация неподвижных фаз компонентами таких смесей приводит к появлению их “виртуальной” хиральности и, следовательно, способности к разделению энантиомеров.

Эффект динамической модификации неподвижных фаз (сорбентов) и основанные на этом экспериментальные приемы вариаций параметров удерживания сорбатов (в том числе энантиомеров) широко применяют в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [24–27]. Второй способ, получивший наибольшее распространение в газовой хроматографии, предполагает использование хиральных неподвижных фаз [28]. При этом эффекты, обусловленные динамической модификацией неподвижных фаз в газовой хроматографии, известны, достаточно разнообразны, но рассматривают и применяют их существенно реже. На них основано, например, использование химически активных газ-носителей, таких, как NH<sub>3</sub> [29] или CO<sub>2</sub>. Еще од-



**Рис. 2.** Фрагмент хроматограммы рацемической (1 : 1) смеси (+)- и (-)- $\alpha$ -пиненов (пик II) (а) и отдельно области пика II в более крупном масштабе по оси времени (б). Суммарное количество изомеров в хроматографической зоне — 75 нг. Пики I и III — реперные  $n$ -алканы  $C_8$  и  $n$ - $C_{11}$  соответственно.

ним примером является так называемый “эффект растворителя” или, иначе, свойства бинарных фаз переменной емкости [30–32], заключающиеся в вариациях времен удерживания и параметров хроматографических пиков летучих сорбатов, выходящих из колонки после интенсивных сигналов растворителей.

Специальные сообщения о газохроматографическом разделении энантиомеров в результате динамической модификации неподвижных фаз до настоящего времени неизвестны. Тем не менее, практика создания одним из авторов (И.З.) базы данных [33], охватывающей более 12 тысяч литературных источников, свидетельствует о существовании нескольких примеров аномального “раздвоения” хроматографических пиков потенциально энантиомерных соединений на WCOT-колонках со стандартными неполярными полидиметилсилоксановыми неподвижными фазами. В частности, это относится к такому компоненту эфирных масел растений как  $\alpha$ -пинен (монотерпеновый углеводород  $C_{10}H_{16}$ ; 2,6,6-триметилбicyclo[3.1.1]гепт-2-ен). К сожалению, целенаправленное выявление подобных фактов, не отраженных ни в ключевых словах, ни в текстах статей, невозможно с использованием современных компьютерных поисковых систем и фактически требует просмотра данных всех оригинальных публикаций вручную.

Таким образом, возможности разделения энантиомеров обусловлены эффектами динамической модификации неподвижных фаз. В публикациях [10–17], посвященных рассмотрению аномалий температурной зависимости газохроматографических индексов удерживания полярных сорбатов на неполярных фазах, неоднократно были отмечены сложности предсказания, для каких именно соединений и на каких колонках они будут наблюдаться. Учитывая это, в настоящей работе мы выбрали две колонки, различающиеся толщиной пленок фаз на порядок (0.25 и 2.65 мкм), и энантиомеры двух сорбатов: полярного 2-бутанола и неполярного  $\alpha$ -пинена.

Пик 2-бутанола ( $RI\ 600 \pm 13$ ) невозможно зарегистрировать на хромато-масс-спектрометре из-за необходимости “отсечения” растворителя, поэтому для этого соединения был проведен только газохроматографический анализ с использованием капиллярной колонки с толстой пленкой неподвижной фазы (2.65 мкм). Сразу же можно отметить, что в таких условиях 2-бутанол оказался примером соединений, для которых никаких признаков разделения энантиомеров не было зарегистрировано. Возможно, причиной этого является большая летучесть 2-бутанола по сравнению с  $\alpha$ -пиненом, проявляющаяся в меньших временах удерживания и, следовательно, меньших концентрациях этого соединения в пленке неподвижной фазы.

Учитывая особую важность вывода о возможности частичного разделения энантиомеров в ахиральных газохроматографических системах, следует упомянуть условия его проверки и контроля. Во-первых, все образцы помимо энантиомерных  $\alpha$ -пиненов содержали другие компоненты (реперные  $n$ -алканы, примеси растворителя). Частичное разделение их пиков свидетельствовало бы о проблемах дозирования, но никаких признаков их искажений не было выявлено. Во-вторых, к частичному разделению энантиомеров теоретически могло бы привести загрязнение вкладыша испарителя (так называемого лайнера) хроматографа следами предыдущих проб, содержащих нелетучие хиральные компоненты. Для исключения этого фактора было документально проверено, что в течение двух месяцев перед нашими экспериментами никаких проб, содержащих хиральные компоненты, на используемой колонке не анализировали, а хроматографическую систему с целями очистки периодически прогревали до температур 280–300°C.

Энантиомерная чистота изомеров  $\alpha$ -пинена по данным компании Sigma-Aldrich составляет

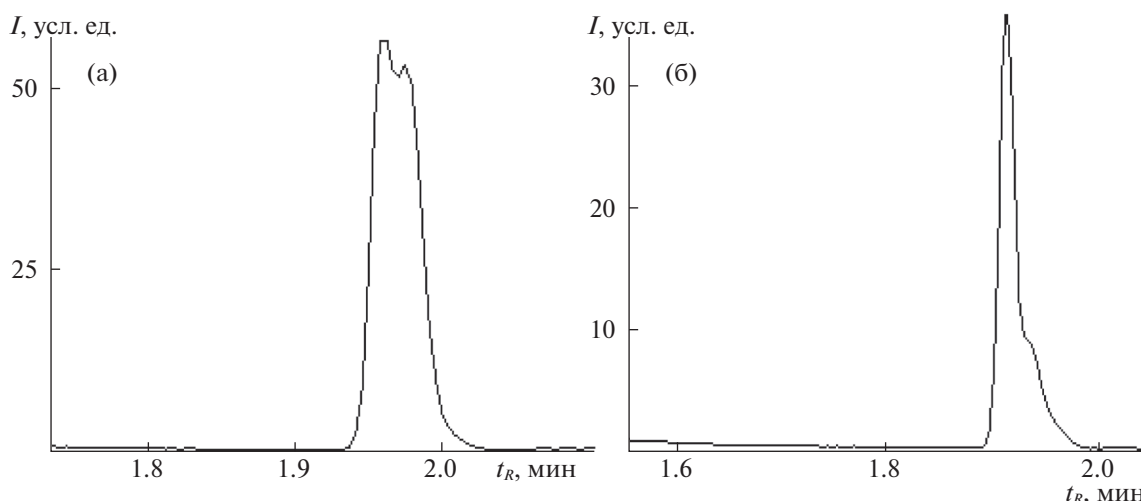


Рис. 3. Фрагменты хроматограмм смеси (+)- и (-)- $\alpha$ -пиненов в соотношении 1 : 3; суммарные количества энантиомеров в хроматографических зонах 33 (а) и 65 нг (б).

~97%, но для (+)- $\alpha$ -пинена по результатам определения  $[\alpha]_D^{20}$  она может быть меньшей. Тем не менее, их комбинация в массовом или объемном (плотности энантиомеров одинаковы) соотношении 1 : 1 удовлетворительно моделирует оптически неактивную рацемическую смесь. На рис. 2 представлен фрагмент хроматограммы такой смеси (а) и отдельно области пика (-)- $\alpha$ -пинена, относящегося к смеси (+)- и (-)-энантиомеров в более крупном масштабе по оси времени, что позволяет визуально оценить его симметрию. Никаких признаков даже частичного разделения не наблюдается, что полностью соответствует сформулированному выше общему принципу невозможности разделения рацемических смесей в ахиральных хроматографических системах. Общее среднее значение RI составляет в среднем  $956 \pm 5$ , что согласуется с индексами удерживания  $\alpha$ -пинена на полидиметилсилоксановых фазах, содержащих 5% фенильных групп [33].

Если же изменить соотношение энантиомеров с эквимольного до 3(-) : 1(+), то форма сигнала  $\alpha$ -пинена в тех же самых условиях хроматографического разделения существенно меняется (рис. 3). Вместо симметричного сигнала регистрируются два частично разделенных пика. К сожалению, точное измерение соотношения площадей пиков невозможно, так как их полное разделение в указанных условиях принципиально недостижимо. Для смеси энантиомеров 3(+):1(-) признаков разделения не выявлено, вероятно, по причине того, что энантиомерная чистота имеющегося в нашем распоряжении образца (+)- $\alpha$ -пинена существенно меньше, чем (-)- $\alpha$ -пинена.

Доказательство принадлежности обеих составляющих частично разделенного хроматографического пика одному и тому же соединению

( $\alpha$ -пинену) базируется на сравнении их масс-спектров, приведенных на рис. 4 (а, б). Каждый из этих спектров записан с максимально возможной компенсацией мешающего влияния соседнего сигнала. Результаты этого подтверждают, что, во-первых, масс-спектры обеих составляющих частично разделенного пика абсолютно идентичны, а, во-вторых, оба спектра полностью соответствуют масс-спектру  $\alpha$ -пинена. На это указывает, в частности, один характерный признак: в масс-спектре  $\alpha$ -пинена интенсивность сигнала с  $m/z = 92$  ( $I_{\text{отн}} = 29 \pm 3\%$ ), как и в нашем случае, несколько превышает интенсивность сигнала с  $m/z = 91$  ( $I_{\text{отн}} = 24 \pm 5\%$ ). Для более надежного сравнения использованы не масс-спектры базы [33], а статистически обработанные данные, приведенные в приложении к монографии [34]. У всех остальных монотерпеновых углеводородов  $C_{10}H_{16}$  с близкими индексами удерживания (борнилен,  $\alpha$ -туйен, камфен, сабинен,  $\beta$ -пинен и др.), которые могли бы присутствовать в качестве примесей в препаратах  $\alpha$ -пинена, соотношение интенсивностей указанных сигналов обратное:  $I_{\text{отн}}(m/z = 92) < I_{\text{отн}}(m/z = 91)$ .

Если WCOT-колонка со стандартной неполярной полидиметилсилоксановой неподвижной фазой RTX-5 обеспечивает частичное разделение энантиомеров  $\alpha$ -пинена, то можно полагать, что такое же разделение будет и для исходных препаратов. Указанное предположение иллюстрирует рис. 5(а, б), на котором приведены фрагменты хроматограмм образцов (+)- и (-)- $\alpha$ -пиненов, содержащие частично разделенные пики. Соотношение интенсивностей составляющих таких неразделенных пиков визуально отличается от соотношения интенсивностей на рис. 3 и более

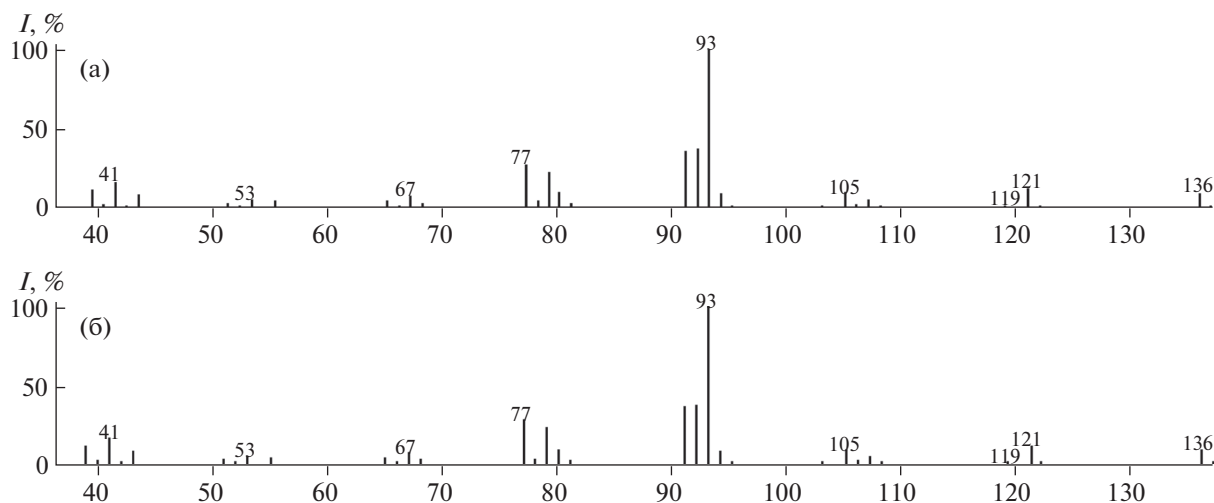


Рис. 4. Масс-спектры двух составляющих частично разделенного хроматографического пика  $\alpha$ -пинена: с меньшим (а) и с большим временами удерживания (б).

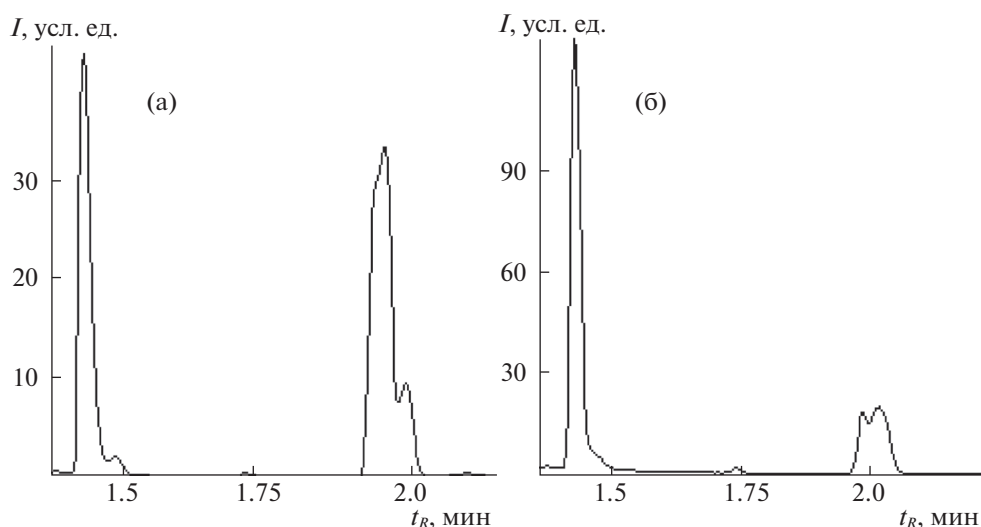


Рис. 5. Фрагменты хроматограмм образцов (+)- $\alpha$ -пинена (количество вещества в хроматографической зоне 33 нг) (а) и (-)- $\alpha$ -пинена (35 нг) (б). Компонент со временем удерживания 1.45 мин – реперный  $n$ -алкан  $C_8$ .

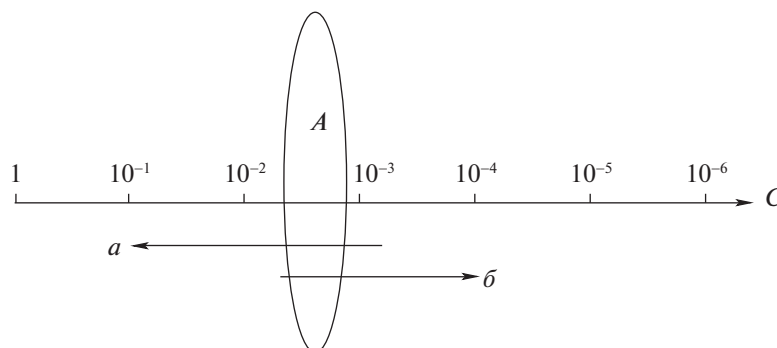
соответствует исходным соединениям, содержащим меньшие количества других энантиомеров.

При обсуждении рассматриваемого эффекта необходимо особо подчеркнуть, что он наблюдается для относительно больших количеств дозируемых в колонки сорбатов, достаточно близких к границам массовой перегрузки хроматографических систем ( $m_{\text{пред}}$ ). Для оценки такой границы в случае используемой в настоящей работе WСОТ-колонки с фазой RTX-5 (параметры приведены в экспериментальной части) целесообразно воспользоваться полученными ранее оценками для *megabore* колонки ВРХ-1 ( $L = 10$  м,  $d = 0.53$  мм,  $d_f = 2.65$  мкм,  $m_{\text{пред}} = 17 \pm 4$  мкг) [19] и формулой пересчета для колонок иных размерностей [35]:

$$m_{\text{пред}} \approx kd_f d^{3/2} L^{1/2}, \quad (3)$$

где  $d$  – внутренний диаметр колонки,  $d_f$  – толщина пленки неподвижной фазы,  $L$  – длина колонки, величина размерного коэффициента  $k$  зависит от природы как сорбатов, так и неподвижных фаз.

Подобный пересчет для колонки RTX-5 дает величину  $m_{\text{пред}} \approx 83 \pm 20$  нг, что сравнимо с количествами сорбатов в хроматографических зонах, указанных в подписях к рис. 2, 3 и 5 (от 33 до 65–75 нг). Подобная “близость” эффектов динамической модификации неподвижных фаз в газовой хроматографии к границам массовой перегрузки колонок объясняет то, что даже небольшие изменения условий анализа могут привести к ухудшению разделения энантиомеров или даже к его полному отсутствию. Такое влияние может оказывать тип хроматографической колонки (толщина пленки



**Рис. 6.** Схематическое изображение диапазона масс, соответствующего возможному частичному разделению энантиомеров (эллипс *A*) в ахиральных газохроматографических системах; ухудшение разделения: *a* — за счет уширения пиков при приближении к границам массовой перегрузки колонки [17, 18], *б* — за счет уменьшения динамической модификации неподвижных фаз при уменьшении количеств сорбатов в хроматографической зоне (*c*) [19].

неподвижной фазы), температура разделения и, прежде всего, вариации дозируемых количеств анализируемых соединений. Степень модификации неподвижной фазы сорбатами определяется как их количествами в зоне, так и температурой, влияющей на их коэффициенты распределения [19]. Разности параметров удерживания частично разделенных пиков энантиомеров должны быть прямо пропорциональны количеству сорбатов в хроматографических зонах и, следовательно, размерам дозируемых проб. Так, например, рис. 3 иллюстрирует, что увеличение количества сорбата вдвое (от 33 (*a*) до 65 (*б*) нг) существенно ухудшает их разделение. Следовательно, разделение энантиомеров в ахиральных газохроматографических системах должно наблюдаться в ограниченной с двух сторон достаточно “узкой” области количеств аналитов, приблизительно так, как это изображено на рис. 6. Со стороны больших количеств сорбатов эта область ограничена закономерным уширением их хроматографических зон при приближении к границам массовой перегрузки колонки [17, 18]. При уменьшении же количеств сорбатов становятся все менее выраженными проявления эффектов динамической модификации неподвижных фаз. Более того, можно представить себе существование хроматографических колонок, для которых левая и правая границы области возможного разделения энантиомеров на рис. 6 перекрываются, в результате чего подобные эффекты перестают наблюдаться. Вполне возможно, таких колонок большинство, что объясняет относительную редкость сообщений о разделении энантиомеров в ахиральных хроматографических системах. В нашем случае частичное разделение энантиомеров оказалось возможным для колонки с толщиной пленки фазы 0.25 мкм, но не выявлено для взятой для сравнения так называемой *megabore* колонки с толщиной пленки фазы 2.65 мкм.

Схематическое изображение области разделения энантиомеров на ахиральных неподвижных

фазах (рис. 6) полностью подтверждается экспериментальными данными. На рис. 7 сопоставлены фрагменты хроматограмм, иллюстрирующие разделение (-) и (+)-энантиомеров  $\alpha$ -пинена в одинаковых условиях, но для разных суммарных количеств сорбатов в хроматографических зонах (от 71 (*a*) до 5 (*г*) нг). При их минимальных количествах (5 (*г*) и 15 (*в*) нг), недостаточных для результирующей динамической модификации неподвижной фазы, регистрируются вполне симметричные хроматографические пики. Увеличение количества сорбатов до 33 нг (*б*) приводит одновременно как к уширению пиков (первые признаки проявления эффектов перегрузки), так и к частичному разделению энантиомеров. И, наконец, дальнейшее увеличение проб до 71 нг (*a*) влечет за собой прогрессирующее уширение пиков, сопровождающееся *ухудшением разделения* энантиомеров. Тем самым подтверждается, что области их разделения соответствуют лишь крайне незначительным диапазонам шкал масс анализируемых соединений.

Индексы удерживания двух частично разделенных энантиомеров  $\alpha$ -пинена равны  $955 \pm 2$  и  $959 \pm 4$ , а отношения их времен удерживания составляют в среднем  $1.012 \pm 0.006$ . Эта величина значительно меньше, чем требуется для полного разделения пиков [28]. Кроме того, стандартное отклонение этого отношения (*s*) подтверждает высокую вариабельность этого фактора; его вариации в пределах  $\pm 2s$  (доверительная вероятность 0.95) составляют 1.000–1.024, т.е. перекрываются с единицей, что соответствует отсутствию разделения энантиомеров.

Наблюдаемые особенности проявления частичного разделения компонентов не представляются сколько-нибудь необычными для газовой хроматографии. Это положение можно проиллюстрировать на примере простейших углеводородов. Известно, например, что изомерные *n*- ( $T_{\text{кип}} = 138.4^\circ\text{C}$ ) и *m*-ксилолы ( $T_{\text{кип}} = 139.1^\circ\text{C}$ ) можно разделить только с использованием колонок с

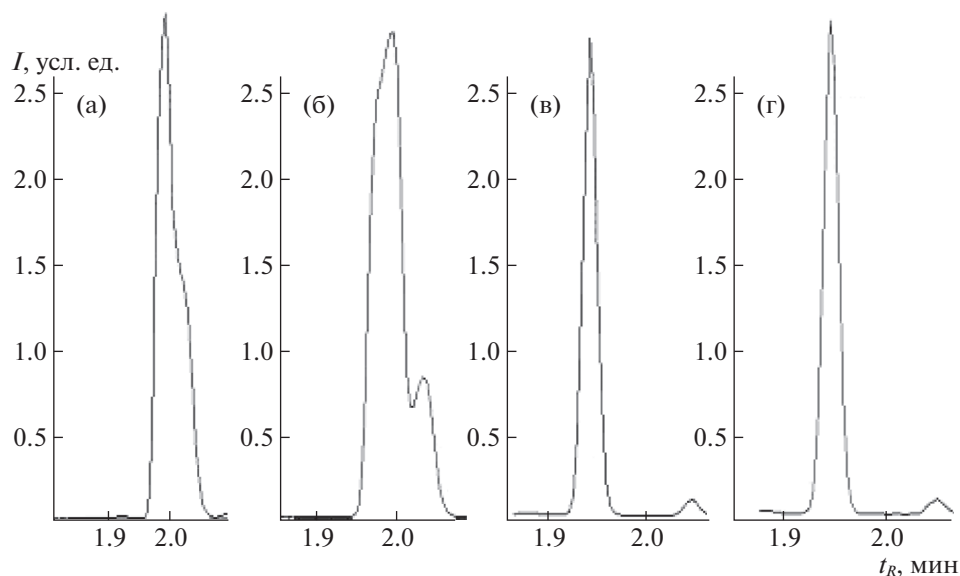


Рис. 7. Фрагменты хроматограмм, иллюстрирующие разделение (–)- и (+)-энантимеров  $\alpha$ -пинена на WCOT-колонке RTX-5 для разных суммарных количеств сорбатов в хроматографических зонах: а – 71, б – 33, в – 15, г – 5 нг.

эффективностью не менее 100 тыс. теоретических тарелок. Поскольку большая часть наиболее употребительных газохроматографических колонок имеет меньшую эффективность, эти изомеры обычно регистрируют в виде неразделенных пиков, но иногда (при отсутствии перегрузки колонок и других факторов, способствующих уширению пиков) наблюдается частичное разделение. Это объясняет достаточно разнородные и невоспроизводимые данные для указанной пары изомеров, но, поскольку их причина хорошо известна, они не вызывают особого удивления. Можно полагать, что поведение энантиомеров некоторых соединений на ахиральных неподвижных фазах представляет собой подобный, но гораздо реже встречающийся пример объективной невоспроизводимости результатов хроматографического разделения.

Особого обсуждения заслуживает порядок хроматографического элюирования энантиомеров в результате динамической модификации неподвижных фаз в газохроматографическом варианте их разделения. Особенности происходящих при этом процессов существенно отличаются от природы как разделения с использованием хиральных неподвижных фаз, так и разделения в случае добавок хиральных модификаторов в элюенты (ВЭЖХ). В обоих указанных случаях каждый из хроматографических пиков принадлежит одному из индивидуальных энантиомеров. Это позволяет использовать “традиционные” способы интерпретации хроматограмм, поскольку соотношение площадей пиков непосредственно соответствует массовым долям энантиомеров, и позволяет рассматривать, например, такую задачу как предсказание последовательностей элюи-

рования энантиомеров [36]. Для иллюстрации же рассматриваемого в настоящей работе случая целесообразно сопоставить результаты разделения смеси энантиомеров в соотношении 3(–) : 1(+) (рис. 3а) и индивидуального (+)- $\alpha$ -пинена, оптическая чистота которого, как указано выше, меньше 100% (рис. 5а). На рис. 3а первый по порядку элюирования пик можно соотнести с (–)- $\alpha$ -пиненом, тогда как на рис. 5а преобладающий первый по порядку элюирования пик принадлежит (+)- $\alpha$ -пинену. В таком случае второй пик также не может относиться к какому-либо индивидуальному энантиомеру, а скорее всего, соответствует их рацемической смеси. Важно отметить, что при таком разделении соотношение интенсивностей пиков на хроматограммах не соответствует соотношению количеств энантиомеров в образцах. Следует также учесть, что динамическая модификация неподвижных фаз в газовой хроматографии принципиально не может привести к полному разделению энантиомеров (всегда будет наблюдаться только их частичное разделение), а оценки площадей неразделенных пиков возможны лишь с невысокой точностью.

Подобная интерпретация данных достаточно необычна для хроматографии, но полностью согласуется с наблюдаемыми особенностями разделения. Для индивидуальных (–)- и (+)- $\alpha$ -пиненов, содержащих заметные количества других энантиомеров, закономерно наблюдается их частичное разделение (рис. 5), тогда как для их рацемической смеси ( $\sim 1 : 1$ ) (рис. 2) никакого разделения нет. Пики с минимальными параметрами удерживания могут принадлежать любому преобладающему в образце энантиомеру.



Таким образом, полученные результаты позволяют признать, что газохроматографическое разделение энантиомеров на ахиральных колонках принципиально возможно, но оно всегда будет только частичным, наблюдается для колонок не всех типов и только для отдельных соединений, причем для их количеств, близких к границам массовой перегрузки хроматографических систем. Тем не менее, можно полагать, что такое сложное сочетание условий в некоторых случаях может быть реализовано, что объясняет ранее упоминавшиеся в литературе и, казалось бы, невероятные примеры хроматографического разделения энантиомеров в ахиральных хроматографических системах.

Авторы признательны проф. Л.А. Онучак (Самарский государственный университет) за любезное предоставление образцов (+)- и (-)- $\alpha$ -пиненов, ст.н.сотр. А.И. Уколову (НИИ ГПЭЧ, Кузьмолово, Ленинградская обл.) за препараты (+)- и (-)-2-бутанолов и студентке V курса Института химии Санкт-Петербургского государственного университета А.А. Васильевой за содействие при выполнении поляриметрических измерений, а также профессору СПбГУ Р.Р. Костикову за полезную дискуссию. Работа проведена с использованием оборудования ресурсного центра по направлению "Химия" при Институте химии Санкт-Петербургского государственного университета. Авторы благодарят сотрудников центра за обеспечение возможностей ее выполнения.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Zenkevich I.G. // Encyclopedia of Chromatography. 3<sup>rd</sup> Edn. Ed. by J. Cazes. Boca Raton: CRC Press, 2010. P. 1304.
- Mitra G.D., Saha N.C. // Chromatographia. 1973. V. 6. № 1. P. 93.
- Bangjie C., Shaoyi P. // Ibid. 1988. V. 25. № 8. P. 731.
- Zenkevich I.G., Ukolova E.S. // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 1. С. 47. DOI: 10.1134/S1061934811010175
- Zenkevich I.G., Ukolova E.S. // Там же. 2012. Т. 67. № 3. С. 282. doi 10.1134/S1061934812010200
- Zenkevich I.G., Ukolova E.S. // J. Chromatogr. A. 2012. V. 1265. P. 133. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.09.07610.1016/j
- Zenkevich I.G., Морозова Т.Е., Кларк-Карская Ю.Ф. // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69. № 12. С. 1242. DOI: 10.1134/S1061934814120156
- Березкин В.Г., Никитина Н.С., Фатеева В.М. // Докл. АН СССР. 1973. Т. 22. № 6. С. 1179.
- Березкин В.Г., Айвазов Б.В., Лебединская Л.Ф. // Журн. аналит. химии. 1983. Т. 38. № 8. С. 1475.
- Hennig P., Engewald W. // Chromatographia. 1994. V. 38. № 1/2. P. 93.
- Heberger K., Gordenyi M., Kowalska T. // J. Chromatogr. A. 2002. V. 973. P. 135.
- Ciazynska-Halarewicz K., Borucka E., Kowalska T. // Acta Chromatographica. 2002. V. 12. P. 65.
- Gordenyi M., Heberger K. // J. Chromatogr. 2003. V. 985. P. 11.
- Kowalska T., Heberger K., Gordenyi M. // Acta Chromatographica. 2003. V. 13. P. 60.
- Ciazynska-Halarewicz K., Kowalska T. // Ibid. 2003. V. 13. P. 69.
- Зенкевич И.Г., Павловский А.А. // Аналитика и контроль. 2014. Т. 18. № 2. С. 171.
- Зенкевич И.Г., Павловский А.А. // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70. № 9. С. 984. DOI: 10.1134/S1061934815090191
- Zenkevich I.G., Pavlovskii A.A. // J. Sep. Sci. 2015. V. 38. P. 2848. DOI: 10.1002/jssc.201401471
- Зенкевич И.Г., Павловский А.А. // Журн. физ. химии. 2016. Т. 90. № 5. С. 1074. DOI: 10.1134/S0036024416040336.
- [http://www.fptl.ru/spravo4nik/teplota\\_ispareniya.html](http://www.fptl.ru/spravo4nik/teplota_ispareniya.html) (дата обращения: декабрь 2015 г.)
- Русанов А.И., Некрасов А.Г. // Докл. РАН. 2010. Т. 434. № 4. С. 496.
- Polanski J., Sajewicz M., Knas M., Zywocinski A., Weloe M., Kowalska T. // Вестн. СПбГУ. Сер. физ.-хим. 2013. Вып. 2. С. 106.
- Гуськов В.Ю., Гайнуллина Ю.Ю., Кудашева Ф.Х. // Аналитика и контроль. 2014. Т. 18. № 2. С. 178.
- Takeuchi T., Mina T. // Chromatographia. 1992. V. 34. P. 386.
- Davankov V.A. // J. Chromatogr. A. 1994. V. 666. P. 55.
- Schmid M.G., Schreiner K., Reisinger D., Gubite G. // J. Sep. Sci. 2006. V. 29. P. 1470. DOI: 10.1002/jssc.200600102
- Subramanian S. Chiral Separation Techniques: A Practical Approach. New York: J. Wiley & Sons, 2008. 641 p.
- Алленмарк С. Хроматографическое разделение энантиомеров. Пер. с англ. М.: Мир, 1991. 270 с.
- Berezkin V.G., Alishoev V.R., Korolev A.A., Malyukova I.V. // J. Chromatogr. A. 2001. V. 918. P. 423. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)00765-8
- Dietz E.A. // J. High Resol. Chromatogr. 1996. V. 19. P. 485.
- Berezkin V.G., Lapin A.B., Lipsky J.B. // J. Chromatogr. A. 2005. V. 1084. P. 18. DOI: 10.1016/chroma.2005.08.074
- Крылов В.А., Митин А.В., Чернова О.Ю. // Вестн. Нижегородск. гос. ун-та. Сер. химия. 2009. № 3. С. 95.
- The NIST 14 Mass Spectral Library (NIST14/2014/EPA/NIH). Software/Data Version (NIST14); NIST Standard Reference Database, Number 69, 2014. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899; <http://webbook.nist.gov> (дата обращения: декабрь 2015).
- Исидоров В.А., Зенкевич И.Г. Хромато-масс-спектрометрическое определение следов органических веществ в атмосфере. Л.: Химия, 1982. 136 с.
- Poole C.F. The Essence of Chromatography. Amsterdam: Elsevier, 2003, 925 p.
- Зенкевич И.Г., Костиков Р.Р. // Журн. орган. химии. 2003. Т. 39. Вып. 8. С. 1127. DOI: 10.1023/B:RUJO.0000010170.81727.ac