

95 ЛЕТ СО ДНЯ ОТКРЫТИЯ ХРОМАТОГРАФИИ

21 марта 1903 г. приват-доцент, сверхштатный лаборант Варшавского университета Михаил Семенович Цвет на заседании биологического отделения Варшавского общества естествоиспытателей сделал свой исторический доклад «О новой категории адсорбционных явлений и о применении их к биохимическому анализу» [1,2]. Это было первое сообщение о новом методе разделения веществ, который в 1906 г. был назван М.С.Цветом *хроматографией*.

Известный ученый физикохимик и хроматографист проф. А.А.Жуховицкий писал: «Открытие хроматографии по значению можно сравнить с созданием микроскопа. Благодаря ей открылся новый, неведомый ранее мир многих компонентов, примесей и микропримесей». «Блестящая, не понятая и не оцененная многими его современниками идея М.С.Цвета оказалась окном в будущее» [3]. На одном из семинаров проф. Л.Эттре заметил, что прогресс человечества в 50-е и последующие годы определяли три «С»: Computer, Cory- и Chromatography. Это меткое замечание относительно роли хроматографии в прогрессе развития человечества совершенно справедливо. В настоящее время невозможно себе представить практически ни одну область человеческой деятельности, прямо или косвенно не связанную с хроматографией.

Благодаря своим разделительным возможностям, хроматография позволила быстро и просто выделять вещества из сложных смесей и получать их в чистом виде. Это дало возможность, с одной стороны, использовать ее для препаративного получения чистых и сверхчистых веществ, а с другой – использование этих возможностей в сочетании с самыми разными физическими, химическими и физико-химическими методами определения дало мощный толчок развитию аналитической хроматографии.

Аналитическая хроматография в настоящее время стала практически единственным методом анализа сложных смесей, особенно органической природы.

Интересно проследить историю открытия хроматографии. М.С.Цвет открыл хроматографию не в результате случайного «озарения», но в итоге

* © Ларионов О.Г., Сенченкова Е.М., 1999

систематического подхода к решению стоящих перед ним задач. Уже в 1898 г., занимаясь проблемой фотосинтеза в зеленых листьях, М.С.Цвет отмечает: «Участие зеленых пигментов в разложении углекислоты кажется не химическое, а физическое. Для более глубокого понимания ассимиляционного процесса требуется полное выяснение структуры и физико-химических свойств хлорофильного зерна, т.е. того аппарата, в котором происходит явление [4]». Понимая важность эксперимента для точной трактовки наблюдаемых явлений, Цвет впоследствии напишет: «Существенным условием всякого плодотворного исследования является обладание пригодной методикой. **Всякий научный прогресс есть прогресс в методе**, – сказал даже кто-то. К сожалению, методика является нередко самой слабой стороной научных исследований. Каждое поколение в своей главной массе **ученически наследует приемы предыдущего** и, не подвергая их основательной критике, довольствуясь тем, что они «общеприняты», применяет их для добывания новых результатов, которые получают права гражданства у современников, впоследствии же нередко теряют всякое значение.» [5].

Для выяснения природы сил, удерживающих пигменты в зеленом листе, он проводит остроумные опыты.

К тому времени было известно, что различные пигменты, экстрагированные из листьев с помощью спирта, ацетона или эфира, т.е., как мы теперь говорим, полярными растворителями, растворимы после экстракции также в неполярных растворителях – бензине и легроине. Однако из свежих или сухих листьев бензин и легроин способны экстрагировать лишь следы пигментов. В то время существовали различные трактовки этого явления. Одни считали, что пигменты просто недоступны для этих растворителей, другие считали, что пигмент просто не растворим в легроине, а после извлечения спиртом пигмент изменяется и становится растворимым в легроине. Цвет приходит к выводу, что пигменты в листе удерживаются адсорбционными силами. Он пишет: «Экспериментальное расследование вопроса привело меня к следующему результату. Нерастворимость большей части хлорофилловых пигментов из листьев в бензине и легроине обуславливается не их нерастворимостью в этих жидкостях, а задерживающим действием молекулярных сил субстрата, т.е. адсорбционным поглощением» [1,2]. Для доказательства своей правоты М.С.Цвет проводит изящный эксперимент.

«Первые мои опыты в этом направлении (1901) были проведены следующим образом. Петролейно-эфирно-спиртовые вытяжки хлорофилла наливались в колбу, в них бросались полоски фильтровальной бумаги, и растворитель отгонялся *in vacuo*, причем весь пигмент поглощался бумагой. Сухая зеленая бумага ведет себя по отношению к растворителям совершенно так же, как зеленый лист, и петролейный эфир извлекает из нее один

лишь каротин, прибавление же спирта приводит к немедленному обесцвечиванию бумаги» [1,2]. Это свидетельствовало о том, что пигменты действительно удерживаются молекулярными, адсорбционными силами и не претерпевают химических изменений при адсорбции и десорбции, чего он постоянно добивался.

Цвет предположил, что и другие вещества способны адсорбировать пигменты и провел обширные исследования. Поражает объем проведенных им экспериментов. В качестве адсорбентов были взяты более 100 веществ. Изучение адсорбции проводилось как статическим, так и динамическим методами. Наиболее подробно рассмотрены опыты с инулином, удельная поверхность которого по расчетам Цвета составляла $2,22 \text{ м}^2/\text{г}$ при среднем размере частиц 2 мкм. Цвет отмечает преимущества динамического метода: «Особенно поучительно наблюдение адсорбционных явлений при фильтрации через порошок. Из нижнего конца воронки вытекает сначала бесцветная, потом желтая (каротин) жидкость, между тем как в поверхностных слоях инулинового столба образуется интенсивное зеленое кольцо, на нижнем конце которого скоро дифференцируется желтая кайма. При последующем пропускании через инулиновый столб чистого легроина оба кольца, зеленое и желтое, значительно расширяются и распространяются вниз... В самой зеленой полосе тоже происходит дифференциация, а именно на синезеленую нижнюю и желто-зеленую верхнюю зоны... **На основе всего предыдущего выясняется возможность выработать новый метод физического отделения различнейших в органических жидкостях веществ»** [1, 2].

Цвет энергично принимается за разработку предложенного метода. Уже в 1906 г. он публикует на немецком языке две работы [4, 7, 8], в которых подробно описывает адсорбционный метод, который впервые называет хроматографическим, подробно описывает установку для получения хроматограмм, приводит необходимые условия для получения качественных хроматограмм. Цвет поразительно тонко понимает особенности разработанного метода. Вот некоторые рекомендации Цвета:

«...вещества, образующие с примененным порошком заметно диссоциирующие адсорбционные соединения, медленно спускаются вниз в виде колец и могут быть уловлены у концевой отверствия трубки, каждое отдельно от других.

...Тонкость адсорбционного порошка очень важна; при грубозернистом материале получают размытые хроматограммы, т.к. в нем интерферируют адсорбция и диффузия в чересчур широких капиллярах.

...Весьма важно достичь гомогенного уплотнения адсорбирующего столбика, иначе адсорбционные зоны выявляются в виде неправильных образований...

...Насыщенный одним пигментом адсорбент может воспринять и удерживать некоторое количество другого. При этом возможны, однако, и замены...

...Существует определенный адсорбционный ряд, по которому вещества могут замещать друг друга. Из этой закономерности вытекает следующее важное следствие. Если петролейно-эфирный раствор хлорофилла профильтровать через столбик адсорбента (я применяю для этого, главным образом, углекислый кальций, плотно набитый в узкие стеклянные трубки), то пигменты по расположению их в адсорбционном ряду отлагаются отдельными окрашенными зонами по столбику сверху вниз, благодаря тому, что пигменты с более сильно выраженной адсорбцией вытесняют книзу слабее удерживаемые. Это разделение становится практически совершенным, если после пропускания вытяжки пигментов сквозь столбик адсорбента его промывать струей чистого растворителя. Как лучи света в спектре, в столбике углекислого кальция закономерно располагаются различные компоненты смеси пигментов, давая возможность своего качественного и количественного определения. Получаемый таким образом препарат я называю *хроматограммой*, а предлагаемую методику – *хроматографической*. ...Методика эта и по принципу своему, и по необыкновенной применимости и производительности ничего общего не имеет с так называемым капиллярным анализом.

Само собой разумеется, описанные явления адсорбции присущи не только хлорофильным пигментам; ясно, что самые разнообразные окрашенные или бесцветные химические соединения подлежат тем же закономерностям» [2, 7].

Из приведенных цитат видно, что Цвет ясно понимал важность как равновесных, так и кинетических факторов, влияющих на хроматографическое разделение. Выдержки из работы Цвета удивительно точно передают те требования к хроматографическому эксперименту, которыми и по сей день руководствуются хроматографисты.

В 1910 г. М.С.Цвет публикует монографию «Хромофиллы в растительном и животном мире» [5], в которой не только описывает результаты исследования пигментов, но и рассматривает теоретические основы адсорбционной хроматографии. Для понимания того, насколько глубоко Цвет рассматривал основы предложенного им метода, достаточно только перечислить заголовки рассматриваемых им в главе III «Адсорбционный анализ» вопросов: явление адсорбции растворенных веществ; среды адсорбции (растворители); адсорбенты (поглотители); адсорбируемые вещества; законы адсорбции; быстрота поглощения; формула равновесия; зависимость величины адсорбции от природы адсорбента; зависимость величины адсорбции от природы растворенного вещества; зависимость величины адсорбции от природы растворителя; адсорбция из смешанных растворов; явления адсорбционного замещения; адсорбция растворителя; тепловой эффект адсорбции; теория адсорбции. В главе IV «Адсорбционный анализ» Цвет рас-

смаатривает два случая динамики адсорбции: перемещение по колонке сильно адсорбирующихся веществ (недиссоциирующих адсорбционных соединений) и их взаимное вытеснение при движении по колонке, то, что мы теперь называем вытеснительной хроматографией, и случай, когда соединение адсорбируется не полностью (диссоциирующие адсорбционные соединения). «Этот случай особенно важен и заслуживает подробного разбора», — пишет Цвет. В результате его рассмотрения Цвет приходит к следующему заключению: «... так как вообще различные тела будут обладать различными постоянными (Цвет имеет в виду константы уравнения Фрейдлиха, которое он использовал для описания изотермы адсорбции); то при пропускании соответствующего растворителя через столб адсорбента, насыщенного в верхней части несколькими веществами, последние будут, помимо явлений вытеснения, передвигаться с различной скоростью и потому *постепенно отделяться в виде самостоятельных адсорбционных зон*».

Таким образом, М.С.Цвет не только открыл метод хроматографии, но и дал теоретическое обоснование его основных вариантов: фронтального, вытеснительного и элютивного, указал на необходимость для разделения различия в адсорбируемости разделяемых веществ.

Представляет интерес оценка метода хроматографии и полученных с его помощью результатов, данная самим Цветом в его докторской диссертации [5].

«В предлагаемой монографии сосредоточены и строго координированы с литературными данными результаты многолетних моих исследований над коренным в физиологии вопросом о природе и свойствах фотосинтетических пигментов. *Выработанный мною аналитический метод, зачаток которого находится в моем русском сочинении от 1901 г., дал возможность более точного расследования упомянутого вопроса, приводящего к коренному изменению наших о нем представлений.*»

Интересна и судьба открытия М.С.Цвета. Метод хроматографии, вопреки существующему мнению, был достаточно хорошо известен современникам Цвета и многими из них был использован. Однако в период I мировой войны и революции Цвет был вынужден практически прекратить свои исследования. В то же время негативное, предвзятое отношение к ней Р.Вильштеттера и его школы, а также К.А.Тимирязева, обладавших в то время большим научным авторитетом, оказали отрицательное влияние на развитие хроматографии. Только в 30-е годы метод хроматографии был реабилитирован и начал быстро развиваться.

Библиографический список

1. Цвет М.С. Труды Варшавского общества естествоиспытателей. Отд. биологии. Т. 14. С. 1-20.

2. Цвет М.С. Хроматографический адсорбционный анализ. Избранные работы. М.: Изд-во Академии наук СССР, 1946. 270 с.
3. Жуховицкий А.А. // Прикладная хроматография. М.: Наука, 1984. С. 17.
4. Цвет М.С. Известия Спб биологической лаборатории. Спб., 1898. Т. 2. Вып. 3. С. 61-65.
5. Цвет М.С. Хромофиллы в растительном и животном мире. Варшава, 1910.
6. Tswett M. Ber. Dtsch.bot.Ges. Bd 24. S. 316-323.
7. Tswett M. Ber. Dtsch.bot.Ges. Bd 24. S. 384-393.
8. Сенченкова Е.М. М.С.Цвет – создатель хроматографии. М.: Янус-К, 1997. 439 с.

*Я.И.ЯШИН, А.Я.ЯШИН**
ОАО «Цвет», г.Дзержинск Нижегородской области

ОСНОВНЫЕ ИТОГИ РАЗВИТИЯ ХРОМАТОГРАФИИ ЗА 95 ЛЕТ (1903-1998 гг.)

В преддверии 100-летия со дня открытия хроматография представляет собой:

1) самостоятельное научное направление, физико-химический метод исследования и измерения; 2) десятки разных методов разделения; 3) совершенный метод анализа сложных многокомпонентных смесей; 4) препаративный и промышленный метод выделения веществ в чистом виде; 5) мощную отрасль производства (сотни фирм во всем мире выпускают хроматографическую аппаратуру на несколько миллиардов долларов США).

Хроматография – это научная дисциплина, с помощью которой изучают термодинамику состояния газ-жидкость, жидкость-жидкость, твердое тело-жидкость, жидкокристаллическое состояние, исследуют межмолекулярные взаимодействия сорбент-сорбат, кинетику сорбции, процессы внутреннего и внешнего массообмена, комплексообразование, соединения включения и многие другие процессы.

Хроматография – это около сотни разных методов. Среди основных самых распространенных аналитических методов хроматографии – газовая, колоночная высокоэффективная жидкостная, ионная, сверхкритическая флюидная, тонкослойная, капиллярный электрофорез и методы электрохроматографии.

Методы хроматографии классифицируются по агрегатному состоянию подвижных и неподвижных фаз, по механизму взаимодействия анализируемых веществ, а также по своему назначению.

* © Яшин Я.И., Яшин А.Я., 1999