

# Актуальные области применения методов высокоэффективной жидкостной хроматографии

В. А. Даванков, д. х. н.<sup>1</sup>, А. Я. Яшин, к. х. н.<sup>2</sup>, Я. И. Яшин, д. х. н.<sup>2</sup>

УДК 543.544.5.068.7

Описаны современные методы ВЭЖХ и их применение в жизненно важных областях: метаболомике, фармакокинетике, допинг-контроле, судебной химии, определении микробиома, диагностике опасных болезней по маркерам. Приведен перечень новых тенденций в ВЭЖХ. Таким образом, методы ВЭЖХ находятся на страже здоровья человека, качества продуктов питания, лекарств и безопасности окружающей среды.

**Ключевые слова:** новые методы ВЭЖХ, медицина, фармацевтика, контроль пищи, маркеры заболеваний, метаболомика, фармакокинетика, допинг-контроль

## Введение

Хроматография – выдающееся изобретение, она входит в число двадцати открытий двадцатого века, которые в наибольшей степени преобразовали жизнь человечества [1–11]. М. С. Цвет – основатель хроматографии – входит в список сотни выдающихся химиков всех времен и народов. Ни один аналитический метод не сравнится с хроматографией по эффективности разделения сложных смесей, универсальности и широте применения. Без использования хроматографических методов и аппаратуры нельзя себе представить ни одно современное производство, ни одну аналитическую или исследовательскую лабораторию, занимающуюся физико-химическими исследованиями или выделением веществ в чистом виде.

Успехи хроматографии связаны еще и с тем, что она, как ни один другой метод, органически и своевременно использовала в процессе своего развития все научные достижения химии, физики, микроэлектроники, точной механики, вычислительной техники, участвовала в создании новых процессов и материалов.

Жидкостная хроматография прошла длительную эволюцию, прежде чем через 70 лет после открытия она стала современным аналитическим

методом – высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) [12, 13]. Начиная с 1970 годов, ВЭЖХ развивается невиданными темпами во всех важнейших направлениях: в разработке сорбентов и аппаратуры, а также создании актуальных применений. К концу двадцатого и в начале двадцать первого века был предложен и развит целый ряд новых методов [13, 14]: УльтраВЭЖХ [15], гидрофильная [16], высокоскоростная [17], высокотемпературная [18], капиллярная ВЭЖХ [19], нано-ВЭЖХ [20], ВЭЖХ на монолитных колонках [21], двумерная и многомерная ВЭЖХ [22]. Увеличена экспрессность и эффективность хиральной, эксклюзионной, противоточной хроматографии [23–26]. Разработан вариант высокоэффективной ионообменной хроматографии – ионная хроматография [27].

Метод ВЭЖХ применяют также для определения сапонинов [28], стероидов [29], пептидов [30].

## Перечень новых тенденций в ВЭЖХ

В ВЭЖХ широко применяются наноматериалы, они используются в качестве сорбентов [31] и для концентрирования [32]. Ярко выраженная тенденция – это миниатюризация приборов в ВЭЖХ: основы и платформы миниатюризации [33–35], капиллярная ВЭЖХ [19], нано-ВЭЖХ [20], ВЭЖХ на чипах [36, 37]. Важные комбинации ВЭЖХ-ГХ [38] и ВЭЖХ-ЯМР [39]. Новые детектирующие системы, разработанные для ВЭЖХ: хемилюминесцентные [40],

<sup>1</sup> ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, Москва.

<sup>2</sup> Группа компаний «Сайтерга», yashin@scietegra.com.

лазерные флуориметрические [41], по светорассеиванию [42], аэрозольные [43], аэрозольные с зарядом [44], амперометрические [45] и биоспецифические [46]. Важные области применения: определение аллергенов [47], кортизола-маркера стресса в слюне [48], аминокислот, пептидов и белков [49], аминокислот в метеоритах [50], связь структуры анализируемых молекул с их удерживанием [51, 52], липидный профиль [53] и допинг-контроль [54], определение метаболома [55].

## Гидрофильная хроматография

Гидрофильная хроматография (ГФХ) предложена в 1990 году [56], однако, широко применяться метод стал только через 10 лет [16]. Автором метода было предложено и с тех пор широко используется словосочетание Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC), хотя многие авторы предлагают называть этот метод полярной хроматографией, поскольку и сорбент, и элюент – полярные фазы. Тем не менее, словосочетание HILIC верно отражает ту основную черту данного метода, что важнейшую роль в разделении аналитов играет их взаимодействие с гидратированными группами сорбента и молекулами воды, распределяющейся между обеими полярными фазами хроматографической системы. Отличительная особенность ГФХ – применение элюента с большим содержанием органического компонента в элюенте, чаще всего ацетонитрила (60–95%). В градиентном варианте ГФХ содержание последнего в элюенте понижается. Гидрофильная хроматография расширила возможности разделения и анализа высокополярных соединений. В определенном смысле она встала в один ряд с обращенно-фазовой хроматографией (ОФХ) и нормально-фазовой хроматографией (НФХ), взяв у первой полярные элюенты и у второй полярные сорбенты. ОФХ – распространенный метод анализа (50–70% всех применений) – не удобен для разделения сильнополярных соединений, поскольку они не склонны к гидрофобным взаимодействиям с сорбентом, элюируются быстро и плохо разделяются. Для преодоления этого недостатка ОФХ предложены альтернативные методы: ион-парная, мицеллярная хроматография, применение (embedded) сорбентов с полярными вставками в алкильную цепь, дериватизация аналитов, но все они имели свои недостатки и не получили широкого признания.

ГФХ в течение 30 лет [16] прошла большой путь развития, превратившись в один из самых востребованных методов хроматографии для разделения и анализа полярных соединений [57–59], а также ионных

соединений, склонных к гидратации заряженных групп. Большие успехи ГФХ показала в решении ряда важнейших задач в медицине, биологии и фармацевтике. Показана перспективность ГФХ в двумерных вариантах хроматографии.

## УльтраВЭЖХ

Основной способ повышения эффективности колонок – это уменьшение диффузионного пути молекул аналита внутри частиц сорбента, например, уменьшением диаметра зерен сорбента. В начале 21 века вместо традиционных 5 и 3 мкм перешли к частицам менее 2 мкм, обычно 1,7 мкм [15, 60]. Режим работы на таких колонках назвали УльтраВЭЖХ (УВЭЖХ), так как он позволил достигнуть эффективности 400 тыс. теоретических тарелок на метр длины колонки [15]. За счет увеличения линейной скорости потока элюента возросла и скорость разделения. Однако такой режим работы колонки требует высокого входного давления элюента – свыше 1000 атм. Фирма Waters впервые создала такие тонкодисперсные сорбенты и жидкостные хроматографы с насосами высокого давления. УльтраВЭЖХ нашла широкое применение в фармацевтической промышленности. Однако достичь равномерного заполнения колонок такими мелкими частицами достаточно сложно. Кроме того, при больших скоростях потока и высоком сопротивлении среды в колонке неконтролируемо выделяется «фрикционная теплота», приводящая к градиентам температуры и вязкости элюента и ухудшающая эффективность колонки в целом. Срок службы таких колонок ограничен.

Многие потребители стали искать альтернативу УВЭЖХ, удачным оказалось применение пористо-поверхностных сорбентов [61]. В 2006–2007 годах появились первые коммерческие пористо-поверхностные сорбенты для ВЭЖХ, хотя преимущества такого подхода были показаны еще в 1963 году [62] и в 1967–1969 годах [63, 64]. Колонки с сорбентами Poroshell и Kinetex наполнены силикагельными частицами 2,7 мкм, в центре частицы сохраняется инертное непористое ядро, вокруг которого располагается пористый слой толщиной всего 0,25–0,5 мкм. Оказалось, что эффективность таких колонок сопоставима с эффективностью колонок с частицами 1,7 мкм, но входное давление элюента значительно снизилось, что позволило использовать уже существующую аппаратуру для ВЭЖХ [15]. Несмотря на некоторые недостатки, УВЭЖХ применяется для быстрого разделения сложных смесей, особенно с масс-спектрометрическими детекторами [65].

## Высокотемпературная хроматография (ВТЖХ)

Температура – еще один важный фактор, влияющий на скорость диффузии аналитов и эффективность колонок (естественно, она влияет и на удерживание и селективность разделения). Долгое время в ВЭЖХ разделение проводили, в основном, при комнатной температуре. Хотя ВТЖХ была известна ранее [66], однако стала широко применяться в 2000-х годах [67]. Основные преимущества ВТЖХ: значительное сокращение времени разделения, снижение сопротивления и повышение эффективности колонок, возможность применения чистой воды в качестве элюента [68] в сочетании с пламенно-ионизационным детектором [69]. Разделение проводят при температурах до 150–200 °С. Разработаны и серийно выпускаются жидкостные хроматографы с термостатированием до 200 °С. Перспективен и режим программирования температуры в ВЭЖХ [70]. Однако ассортимент пригодных колонок пока ограничен.

## Высокоскоростная жидкостная хроматография (ВСЖХ)

Высокоскоростная жидкостная хроматография позволяет выполнять большее число анализов сложных проб за ограниченное время, сделать процесс разделения более производительным, сократить стоимость анализа [17]. Основные пути сокращения времени анализа: это применение УВЭЖХ, хроматографии на поверхностно-пористых сорбентах, высокотемпературной хроматографии и хроматографии на современных монолитных колонках [71]. Основные области применения ВСЖХ: фармакокинетика, метаболомика, судебная химия, допинг-контроль, экология, фармацевтика, промышленный контроль быстрых процессов и др. [71].

Исключительно важна разработка 3D-аналитических систем с 2D-детекторами: масс-спектрометрическим, диодноматричным, кулонометрическим с линейкой электродов. 3D-комплексы позволяют проводить не только количественный, но и качественный анализ сложных смесей. Примерами основных достижений современной ВЭЖХ могут служить: эффективность до 1 млн теоретических тарелок на метр длины, экспрессность – десятки пиков за одну минуту [72], пределы детектирования  $1 \cdot 10^{-15}$ – $1 \cdot 10^{-18}$  г, то есть фемто- [73, 74] и аттограмм [74] вещества.

Все эти достижения позволили успешно решать новые аналитические вызовы:

- в метаболомике [75, 76];
- в протеомике [77, 78];
- в фармакокинетике лекарств в организме [79];
- в анализе содержимого одной клетки [80];
- в ранней диагностике заболеваний по определению маркеров в биологических жидкостях [81–84];
- в определении соотношений D/L форм оптических изомеров аминокислот для диагностики болезней и старения [85];
- в определении загрязнителей в пищевых продуктах: гетероциклических ароматических аминов [86], акриламидов [87], ветеринарных лекарств [88], нитрозаминов [89], микотоксинов [90] и полициклических ароматических углеводородов [91];
- в контроле загрязнителей окружающей среды: хлорфенолы в водах [92], бисфенола в воде [93], 1,1-диметилгидразина в почве [94].
- в анализе полифенолов-антиоксидантов в растениях, пищевых продуктах [95, 96];
- в определении онкомаркеров [97–100];
- в определении наркотиков [101, 102];
- в определении маркеров окислительного стресса [103, 104].

Таким образом, ВЭЖХ находится на страже здоровья человека, чистоты пищи, лекарств и окружающей среды, повышая качество жизни людей. В качестве примеров ниже приведен перечень прорывных исследований сложных смесей загрязнителей в окружающей среде и пище (табл. 1).

В заключение приведем ссылки на последние наиболее актуальные работы по применению метода ВЭЖХ: последние достижения и применения метода ВЭЖХ-МС [115], в капиллярной хроматографии [116], в кинетически селективной жидкостной хроматографии [117], в противоточной хроматографии [118], в мицеллярной ВЭЖХ [119], в мембранной хроматографии [120], в промышленной хроматографии [121], в био-аффинной хроматографии [122], последние достижения в разработке новых лекарств [123], определение примесей в лекарствах [124], достижения в хроматографии для фармацевтического анализа [125], выделение антиоксидантов быстрой противоточной хроматографией [24], определение антиоксидантов в функциональной пище [126], достижения в переключении колонок [127], валидации метода ВЭЖХ [128], применения различных вариантов ВЭЖХ в аналитических лабораториях [129], перспективы трехмерной ВЭЖХ [130].

Таблица 1. Наиболее сложные прорывные исследования

Название работы	Ссылка
Определение 295 бактерий и метаболитов, включая и микотоксины в пищевых матрицах	105
Определение 400 приоритетных загрязнителей в водных средах	106
Определение 150 метаболитов пестицидов в поверхностных и грунтовых водах	107
Определение 100 фармпрепаратов и продуктов их разложения в воде	108
Определение более 300 пестицидов двумерной ВЭЖХ в пищевых продуктах	109
Определение 136 фармпрепаратов и гормональных стероидов в сточных водах	110
Определение 72 микропримесей в водных пробах	111
Определение 88 полярных соединений в поверхностных, грунтовых и сточных водах	112
Определение более 100 ветеринарных лекарств в мясе	113
Определение остаточных количеств 100 пестицидов методом ЖХ-МС	114

## Литература / References

- Ettre L. S. Chromatography.** The separation technique of the 20 th century. *Chromatographia* 2000; 51: 7-17.
- Яшин Я. И., Яшин А. Я.** Основные достижения хроматографии в XX столетии. Приборы. 2003; 29: 6-9.  
**Yashin Ya. I., Yashin A. Ya.** The main achievements of chromatography in the twentieth century. *Pribory - Instrumentation*. 2003; 29: 6-9 (in Russian).
- Zhu Bo, Chen Ying.** Development and Application of Liquid Chromatography in Life Sciences. *Journal of Chromatography & Separation Techniques*. 2017;8: 358-365.
- Lingeman, H.** Chromatographia: Its Position in the Fast Changing World of Analytical Sciences. *Chromatographia*, 2017; 80: 3-4.
- Chromatography Century of discovery 1900-2000* (Eds. C. W. Gehrke, R. L. Wixom, E. BAYER). Elsevier. Amsterdam, 2001. 709 p.
- H. J. Icsag. *A century of separation*. Marsel Dekker. New York, 2002.
- 100 лет хроматографии.** Ред. Б. А. Руденко. М.: Наука, 2003. 739 с.  
*Centenary of chromatography*, Ed. by B. A. Rudenko. Moscow, Nauka Publ., 2003. 739 p.
- 75 years of chromatography. A historical dialogue.** Eds. L. S. Ettre, A. Zlatkis. Amsterdam. Elsevier, 1979. 502 p.
- Ларионов О. Г., Сенченкова Е. М.** 100 лет хроматографии – история развития. Зав.лаб. 2003; 69: 3-9.  
**Larionov O. G., Senchenkova E. M.** 100 years of chromatography – the history of development. *Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov – Factory Laboratory. Diagnostics of Materials*. 2003; 69: 3-9.
- Даванков В. А., Яшин Я. И.** Сто лет хроматографии. Вестник РАН 2003; 73: 637-646.  
**Davankov V. A., Yashin Ya. I.** One hundred years of chromatography. *Vestnik RAN – Bulletin of the Russian Academy of Sciences*. 2003; 73: 637-646.
- Яшин Я. И.** Основные достижения хроматографии в XX столетии. Лабор. журнал 2002; 1: 8-9.  
**Yashin Ya. I.** The main achievements of chromatography in the twentieth century. *Laboratorynyi zhurnal – Laboratory Journal*. 2002; 1: 8-9.
- Яшин А. Я., Яшин Я. И.** Эволюция жидкостной хроматографии 1903-2022 гг // Сорбц. хромат. процессы. 2022. 22(3): 228-234.  
**Yashin A. Ya., Yashin Ya. I.** The evolution of liquid chromatography from 1903 to 2022. *Sorption and Chromatography Processes*. 2022. 22(3): 228-234.
- Яшин А. Я., Веденин А. Н., Яшин Я. И.** 50 лет ВЭЖХ. Основные этапы развития и новые тенденции. Лаб. про-во. 2018; 1: 72-80.  
**Yashin A. Ya., Vedenin A. N., Yashin Ya. I.** 50 years of HPLC. Main stages of development and new trends. *Laboratory and Production*. 2018; 1: 72-80.
- Arnaud, Celia.** 50 years of HPLC. *Sc&EN Global Enterprise*. 2016; 94: 28-33.
- Яшин Я. И., Веденин А. Н., Яшин А. Я.** ВЭЖХ и Ультра ВЭЖХ: состояние и перспективы. АНАЛИТИКА. 2015; 2: 70-86.  
**Yashin Ya. I., Vedenin A. N., Yashin A. Ya.** HPLC and ULTRA-HPLC: a state and prospects. *Analitics*. 2015; 2: 70-86.
- Яшин А. Я., Яшин Я. И.** 30 лет гидрофильной хроматографии. Сорбц. Хромат. Процессы. 2021;21: 708-716.  
**Yashin A. Ya., Yashin Ya. I.** 30 years of hydrophilic chromatography. *Sorption and Chromatography Processes*. 2021;21: 708-716.
- Яшин Я. И., Яшин А. Я.** Высокоскоростная ВЭЖХ (краткий обзор). Сорбционные и хроматографические процессы. 2022; 22(1): 6-11.  
**Yashin A. Ya., Yashin Ya. I.** HIGH-SPEED HPLC (brief review). *Sorption and Chromatography Processes*. 2022; 22(1): 6-11.
- Яшин А. Я., Яшин Я. И., Родченкова В. В.** Высокотемпературная ВЭЖХ. Краткий обзор. АНАЛИТИКА. 2021; 11(4): 316-322.  
**Yashin A. Ya., Yashin Ya. I., Rodchenkova V. V.** High temperature high performance liquid chromatography. Short review. *Analitics*. 2021; 11(4): 316-322.

19. **Fanali C., Dugo A., Dugo P., Mondello L.** Capillary-liquid chromatography and nano-LC in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2013; 52: 226–238.
20. **Fanali C.** Nano-liquid chromatography applied to enantiomers separation. *J. Chrom. A*. 2017; 1486: 20–34.
21. **Яшин А. Я., Яшин Я. И.** Сорбенты для ВЭЖХ. Состояние и новые направления развития. Обзор. *Сорбц. хромат. Процессы*. 2021; 21: 235–245.
- Yashin A. Ya., Yashin Ya. I.** Sorbents for HPLC. Current state and new directions of development (overview). *Sorption and chromatography processes*. 2021; 21(2): 235–245.
22. **Ahmad I.A.H., Blasko A., Clarke A. et al.** Two-Dimensional Liquid Chromatography (2D-LC) in Pharmaceutical Analysis: Applications Beyond Increasing Peak Capacity. *Chromatographia*. 2018; 81: 401–418.
23. **Barhate C. L., Joyce L. A., Makarov A. A. et al.** Ultrafast chiral separation for high throughput enantiopurity analysis. *Chem. Commun*. 2017; 53: 509–512.
24. **Wang K. B., Liu Z. H., Huang Z. H. et al.** Preparative isolation and purification of theaflavins and catechins by high-speed counter-current. *J. Chrom. B*. 2008; 867: 282–286.
25. **Hatsis P., Lucy C. A.** Ultrafast HPLC separation of common anions using monolithic stationary phase. *Analyst*. 2002; 127: 451–454.
26. **Xiang P., Yang Y., Zhao Z. et al.** Ultrafast gradient separation with narrow/open tubular liquid chromatography. *Anal. Chem*. 2019; 91: 10738–10743.
27. **Small H., Slevens T. S. and Bauman W. C.** Novel ion exchange chromatographic method using conductometric detection. *Anal. Chem*. 1975; 47: 1801–1806.
28. **Guo X., Zhang K., Guo Z. et al.** Hydrophilic interaction chromatography for selective separation of isomers saponins. *J. Chrom. A*. 2014; 1325: 121–128.
29. **Hameedat F., Hawamdeh S., Alnobulsi S. et al.** HPLC with fluorescence detection for quantification of steroids in clinical, pharmaceutical and environmental samples. A review. *Molecules*. 2022; 27: 1807–1815.
30. **Novakova L., Vaast A., Stassen C. et al.** High-resolution peptide separation using nano-LC at ultra-high pressure. *J. Sep. Sci.* 2013; 36: 1192–1199.
31. **Gonzalez-Salamo J., Socas-Rodriguez B. et al.** Nanomaterials as sorbent for food sample analysis. *Trends Anal. Chem*. 2016; 85: 203–220.
32. **Tian J., Xu J., Zhu F. et al.** Application of nanomaterials in sample preparation. *J. Chrom. A*. 2013; 1300: 2–16.
33. **Desmet G., Eeltink S.** Fundamentals for LC miniaturization. *Anal. Chem*. 2012; 16: 543–556.
34. **Sestak J., Moraveola D., Kohle V.** Instrument platforms for nano liquid chromatography. *J. Chrom. A*. 2013; 1421: 2–17.
35. **Яшин А. Я., Веденин А. Н., Яшин Я. И.** Портативные жидкостные хроматографы. *Сорбц. хромат. Процессы*. 2019; 19: 362–366.
- Yashin A. Ya., Vedenin A. N., Yashin Ya. I.** Portable liquid chromatographs. *Sorption and Chromatography Processes*. 2019; 19(2): 362–366.
36. **Faure K.** Liquid chromatography on chip. *Electrophoresis*. 2010; 31: 2499–2511.
37. **Grinias J. P., Kennedy R. T.** Advances in and prospects of microchip liquid chromatography. *Trends Anal. Chem*. 2016; 81: 110–117.
38. **Purcaro G., Moret S., Conte L.** Hyphenated liquid chromatography – gas chromatography technique. Recent evolution and application. *J. Chrom. A*. 2013; 1255: 100–111.
39. **Sturm S., Segar C.** LC-NMR coupling as alternative to LS-MS hyphenations curious option or powerful and complementary routine tool. *J. Chrom. A*. 2013; 1259: 50–61.
40. **Huertas-Perez J. F., Moreno-Gonzalez D. et al.** Advances in the application of chemiluminescence detection in liquid chromatography. *Trends Anal. Chem*. 2016; 75: 35–48.
41. **Fang X. X. et al.** A hand-held laser – induced fluorescence detector for multiple application. *Talanta*. 2016; 150: 135–141.
42. **Bui D. A., Hauser P. C.** Analytical devices based on light-emitting diodes – a review of the state-of-the-art. *Anal. Chim. Acta*. 2015; 853: 46–58.
43. **Magnussen L. E., Risley D. S., Koropchan J. A.** Aerosol-based detectors for liquid chromatography. *Chromatography*. 2015; 2: 68–81.
44. **Russell J. J., Heaton J. C. et al.** Performance of charged aerosol detection with hydrophilic interaction. *J. Chrom. A*. 2015; 1405: 72–84.
45. **Яшин А. Я., Веденин А. Н., Яшин Я. И.** ВЭЖХ с амперометрическим детектированием. М.: ТрансЛит, 2018. 196 с.
- Yashin A. Ya., Vedenin A. N., Yashin Ya. I.** HPLC with amperometric detection. Moscow, TransLit Publ., 2018. 196 p.
46. **Emmens J., Marko-Varga G.** Biospecific detection in HPLC. *J. Chrom.* 1995; 703: 191–243.
47. **Feste C. K., Ronning H. T., Christianns U. et al.** Liquid chromatography and mass spectrometry in food allergen detection. *J. Food Protection*. 2011; 74: 316–345.
48. **Vieira J. G., Nakamura O. H., Carvalho V. M.** Determination of cortisol and cortisone in human saliva by a LC-MS/MS. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014; 58: 844–850.
49. **Periat A., Krull I. S., Guilleme D.** Applications HILIC to amino acids, peptides and proteins. *J. Sep. Sci.* 2015; 38: 357–367.
50. **Callahan M. P., Marton M. G., Burton A. S. et al.** Amino acid analysis in micrograms of meteorite sample by nanoliquid chromatography – high resolution MS. *J. Chrom. A*. 2014; 1335: 30–34.
51. **Kaliskan R.** Structure and retention in chromatography. A chemometric approach. Harwood Academic. Amsterdam. 1997.
52. **Heberger K.** Quantitative structure – (chromatographic) retention relationship. *J. Chrom. A*. 2007; 1158: 273–305.
53. **Weberhofer B. P., Knithelfelder O. L.** A versatile ultra-high performance LC-MS method for lipid profiling. *J. Chrom. B*. 2017; 31: 20–25.
54. **Deventer K., Pozo O. J., Verstroete A. G., van Eenoo P.** Dilute and shoot-liquid chromatography-mass spectrometry for urine analysis in doping control and analytical toxicology. *Trends Anal. Chem*. 2014; 55: 1–13.
55. **Russel W. R., Duncan S. H.** Advanced analytical methodologies to study the microbial metabolome of the human gut. *Trends Anal. Chem*. 2013; 52: 54–60.
56. **Alpert A. J.** Hydrophilic interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds. *J. Chrom.* 1990; 499: 177–196.
57. **Дейнека В. И., Саенко И. И., Блинова И. П.** Гидрофильная хроматография как альтернатива обращенно-фазовой ВЭЖХ для определения антоцианов и бетацианинов. *Ж. аналит. химии*. 2016; 71: 310–314.
- Deineka V. I., Saenko I. I., Blinova I. P.** Hydrophilic interaction chromatography as an alternative to reversed-phase HPLC in determining anthocyanins and betacyanins. *Journal of Analytical Chemistry*. 2016; 71(3): 297–301.
58. **Чернобровкина А. В., Смоленков А. Д., Шпигун О. А.** Гидрофильная хроматография – перспективный метод анализа полярных веществ. *Лаб. пр-во*. 2018; 4: 79–92.
- Chernobrovkina A. V., Smolenkov A. D., Shpigun O. A.** Hydrophilic chromatography is a promising method for the analysis of polar substances. *Laboratory and Production*. 2018; 4: 79–92.
59. **Карцова Л. А., Бессонова Е. А., Сомова В. Д.** Гидрофильная хроматография. *Ж. аналит. химии*. 2019; 74(5): 323–334.
- Kartsova L. A., Bessonova E. A., Somova V. D.** Hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Analytical Chemistry*. 2019; 74(5): 415–424.
60. **Walter T. H., Andrews R. W.** Recent innovations in UHPLC columns and instrumentation. *Trends Anal. Chem*. 2014; 63: 14–20.
61. **Guiochon G., Gritti F.** Shell particles, trials, tribulations and triumphs. *J. Chrom. A*. 2011; 1218: 1915–1938.

62. **Жданов С. П., Киселев А. В., Яшин Я. И.** Применение в газовой хроматографии гранулированных стекол с пористой пленкой на поверхности. *Ж. физ. химии*. 1963; 37: 1432–1434.  
**Zhdanov S. P., Kiselev A. V., Yashin Ya. I.** Application of granular glasses with a porous film on the surface in gas chromatography. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 1963; 37: 1432–1434.
63. **Kirkland J. J., Langlois T., De Stefano J.** Fused core particles for HPLC columns. *Am. Lab.* 2007; 39: 18–21.
64. **Fekete S., Fekete J., Ganzler K.** Shell and small particles evaluation of new technology. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2009; 49: 64–71.
65. **Martinez-Huelamo M., Tulipani S., Jauregui O. et al.** Sensitive and rapid UHPLC–MS/MS for the analysis of tomato phenolics in human biological samples. *Molecules*. 2015; 20: 20409–20425.
66. **Yashin Ya. I.** Selectivity of liquid-adsorption chromatography on hydroxylated silica gel with non-polar and polar eluents. *Chromatographia*. 1982; 16: 368–371.
67. **Агеев А. Н., Яшин Я. И.** Высокотемпературная жидкостная хроматография. *Ж. физ. химии*. 1994; 68: 1749–1751.  
**Ageev A. N., Yashin Ya. I.** High temperature liquid chromatography. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 1994; 68: 1749–1751.
68. **Hartonen K., Riekkola M. L.** Liquid chromatography at elevated temperature with pure water as the mobile phase. *Trends Anal. Chem.* 2008; 27: 1–14.
69. **Miller D. J., Hawthorne S. B.** Subcritical water chromatography with flame ionization detection. *Anal. Chem.* 1997; 69: 623–627.
70. **Агеев А. Н., Орлов В. И., Яшин Я. И.** Программирование температуры в жидкостной хроматографии. *Ж. физ. химии*. 1994; 68: 1873–1876.  
**Ageev A. N., Orlov V. I., Yashin Ya. I.** Temperature programming in liquid chromatography. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 1994; 68: 1873–1876.
71. **Alhazmi A. H., Moraya D. A., Alahdal E. et. al.** Ultrafast monolithic HPLC method for simultaneous quantification of the anticancer agents, imatinib and sorafenib: Application to tablet dosage forms. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2018; 17: 1127–1134.
72. **Manz A., Simon W.** Injectors for open-tubular column liquid chromatography with million theoretical plates at retention times in the minute range. *Journal of Chromatography A*. 1987; 387: 187–196.
73. **Revelo I. A., Piedate J. A. P., Oliveira-Brett A. M.** Development of an HPLC method with electrochemical detection of femtomoles of 8-oxo-7,8-dihydroguanine and 8-oxo-7,8-dihydroguanosine in the presence of uric acid. *Talanta*. 2004; 63: 323–331.
74. **Reinhnd N. J., Brouwer H. J., Van Valkenburg C. F. M.** Attomole detection limits in micro HPLC-ECD. *Antec Leyden*. 220–001. No. 4.
75. **Álvarez-Sánchez B., Priego-Capote F., Luque de Castro M. D.** Study of sample preparation for metabolomic profiling of human saliva by liquid chromatography–time of flight/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2012; 1248: 178–181.
76. **Calderón-Santiago M., Priego-Capote F., Jurado-Gámez B., Luque de Castro M. D.** Optimization study for metabolomics analysis of human sweat by liquid chromatography–tandem mass spectrometry in high resolution mode. *Journal of Chromatography A*. 2014; 1333: 70–78.
77. **Schuster S. A., Boyes B. E., Wagner B. M., Kirkland J. J.** Fast high performance liquid chromatography separations for proteomic applications using Fused-Core(R) silica particles. *J Chromatogr A*. 2012; 1228: 232–41.
78. **Iwasaki M., Sugiyama N., Tanaka N., Ishihama Y.** Human proteome analysis by using reversed phase monolithic silica capillary columns with enhanced sensitivity. *J Chromatogr A*. 2012; 1228: 292–7.
79. **Magdy R., El-Khatib A. H., Hemdan A., Elaziz O. A., Farouk M., Linscheid M. W.** Comparative pharmacokinetics of trandolapril, its active metabolite, and verapamil in human plasma of Egyptian population using HPLC–MS/MS. *Drug Test Anal.* 2018; 10: 1158–1167.
80. **Xia F., Jin W., Yin X., Fang Z.** Single-cell analysis by electrochemical detection with a microfluidic device. *Journal of Chromatography A*. 2005; 1063: 227–233.
81. **Ashfag S., Abramson J. L., Jones D. P., Rhodes S. D. et al.** Üe relationship between plasma levels of oxidized and reduced thiols and early atherosclerosis in healthy adults. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 47: 1005–1007.
82. **Kałużna-Czaplińska J., Jóźwik J.** Current applications of chromatographic methods for diagnosis and identification of potential biomarkers in cancer. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2014; 56: 1–12.
83. **Yashin A. Ya., Yashin Ya. I., Titov V. N., Mihajlova T. A.** Chromatographic System for Detecting Biomarkers of Dangerous Human Diseases. *Biomedical Engineering*. 2012; 46: 141–144.
84. **Яшин Я. И., Яшин А. Я.** Определение маркеров в биологических жидкостях и выдыхаемом воздухе человека хроматографическими методами для ранней диагностики заболеваний. В книге: «Химический анализ в медицинской диагностике» (из серии «Проблемы аналитической химии» т. 11) / Под ред. Г. К. Будникова. М.: Наука, 2010. С. 369–403.  
**Yashin Ya. I., Yashin A. Ya.** Determination of markers in human biological fluids and exhaled air by chromatographic methods for early diagnosis of diseases. In the book: *Chemical analysis in medical diagnostics*. Ed. by G. K. Budnikov. Moscow, Nauka Publ., 2010. pp. 369–403.
85. **Kalikova K., Slechtova T., Tesarova E.** Enantiomeric ratio of amino acids as a tool for determination of aging and disease diagnostics by chromatographic measurement. *Separation*. 2016; 3: 30–35.
86. **Van Dyck M. M. C., Rollmann B., De Meester C.** Quantitative estimation of heterocyclic aromatic amines by ion-exchange chromatography and electrochemical detection. *Journal of Chromatography A*. 1995; 697: 377–382.
87. **Casella I. G., Pierri M., Contursi M.** Determination of acrylamide and acrylic acid by isocratic liquid chromatography with pulsed electrochemical detection. *Journal of Chromatography A*. 2006; 1107: 198–203.
88. **Cao G., Zhan J., Shi X. et al.** Analysis of 140 Veterinary Drugs and Other Contaminants in Poultry Muscle by Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Chromatography*. 2018; 81: 707–718.
89. **Boyd J. M., Hrudehy S. E., Li X.-F., Richardson S. D.** Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography mass spectrometry analysis of nitrosamines in treated drinking water and wastewater. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2011; 30:9: 1410–1421.
90. **Romera D., Mateo E. M., Mateo-Castro R., Gómez J. V., Gimeno-Adelantado J. V., Jiménez M.** Determination of multiple mycotoxins in feedstuffs by combined use of UPLC–MS/MS and UPLC–QTOF–MS. *Food Chem.* 2018; 267: 140–148.
91. **Bansal V., Kumar P., Kwon E. E., Kim K. H.** Review of the quantification techniques for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food products. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2017; 57(15):3297–3312.
92. МП УВК 1.30-2014. Методика измерений массовой концентрации хлорфенолов в питьевых и природных водах методом ВЭЖХ с амперометрическим детектором.  
MP UVK 1.30-2014. Method of measuring the mass concentration of chlorophenols in drinking and natural waters by HPLC with an amperometric detector.
93. **Gamache P., Asworth I.** Determination of bisphenols using HPLC-ECD. Thermo Scientific. Application Brief 161.

94. МВИ № 81-05. Методика измерений массовой доли суммарных форм 1,1-диметилгидразина в почве методом ионной хроматографии с амперометрическим детектированием (ФР 1.31.2008.04406). MVI 81-05. Method of measuring the mass fraction of total forms of 1,1-dimethylhydrazine in soil by ion chromatography with amperometric detection. (FR 1.31.2008.04406).
95. **Gazdik Z., Reznicek V., Adam V.** Use of LC-ECD for the determination of antioxidants in fruits. *Molecules*. 2008; 13: 2823–2836.
96. **Gamache P., Acworth I.** Measurement of dietary carotenoid isomers using HPLC-ECD. Application brief 162. Thermo Scientific.
97. **Struck W., Siluk D., Yumba-Mpanga A., Markuszewski M., Kaliszan R., Markuszewski M. J.** Liquid chromatography tandem mass spectrometry study of urinary nucleosides as potential cancer markers. *J Chromatogr A*. 2013; 1283: 122–31.
98. **Kałużna-Czaplińska J., Józwiak J.** Current applications of chromatographic methods for diagnosis and identification of potential biomarkers in cancer. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2014; 56: 1–12.
99. **D’Herbomez M., Fozzy G., Bauter C. et al.** An analysis of biochemical diagnosis of 66 pheochromocytomas. *Eur. J. Endocrinol.* 2007; 156: 569–575.
100. **Hartleb J., Arndt R.** Cysteine and indole derivatives as markers for malignant melanoma. *Journal of Chromatography B*. 2001; 764: 409–443.
101. **Schwartz R. S., David K. O.** Liquid Chromatography of Opium Alkaloids, Heroin, Cocaine, and Related Compounds Using Electrochemical Detection. *Anal. Chem.* 1985; 57: 1362–1366.
102. **Zuway K. Y., Smith J. P., Foster C. W.** Detection and quantification of new psychoactive substances using HPLC – amperometric detection. *Analyst*. 2015; 140: 6283–6294.
103. **Яшин А. Я., Яшин Я. И.** Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) маркеров окислительного стресса. *АНАЛИТИКА*. 2011; 1: 34–43. **Yashin A. Ya., Yashin Ya. I.** High performance liquid chromatography (HPLC) markers of oxidative stress. *Analitics*. 2011; 1: 34–43.
104. **Hellhammer D. H., Wust S., Kudielka B. M.** Salivary cortisol as biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology*. 2009; 43: 163–171.
105. **Malachova A., Sulyok M., Beltran E., Berthiller F., Krska R.** Optimization and validation of a quantitative liquid chromatography-tandem mass spectrometric method covering 295 bacterial and fungal metabolites including all regulated mycotoxins in four model food matrices. *J Chromatogr A*. 2014; 1362: 145–56.
106. **Robles-Molina J., Lara-Ortega F. J., Gilbert-López B., García-Reyes J. F., Molina-Díaz A.** Multi-residue method for the determination of over 400 priority and emerging pollutants in water and wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2014; 1350: 30–43.
107. **Reemtsma T., Alder L., Banasiak U.** A multimethod for the determination of 150 pesticide metabolites in surface water and groundwater using direct injection liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2013; 1271(1): 95–104.
108. **Ferrer I., Thurman E. M.** Analysis of 100 pharmaceuticals and their degradates in water samples by liquid chromatography / quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2012; 1259: 148–157.
109. **Kittlaus S., Schimanke J., Kempe G., Speer K.** Development and validation of an efficient automated method for the analysis of 300 pesticides in foods using two-dimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2013; 1283: 98–109.
110. **Peysson W., Vulliet E.** Determination of 136 pharmaceuticals and hormones in sewage sludge using quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction followed by analysis with liquid chromatography-time-of-flight-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2013; 1290: 46–61.
111. **Wode F., Reilich C., van Baar P., Dünbier U., Jekel M., Reemtsma T.** Multiresidue analytical method for the simultaneous determination of 72 micropollutants in aqueous samples with ultrahigh performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2012; 1270: 118–126.
112. **Huntscha S., Singer H. P., McArdell C. S., Frank C. E., Hollender J.** Multiresidue analysis of 88 polar organic micropollutants in ground, surface and wastewater using online mixed-bed multilayer solid-phase extraction coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2012; 1268: 74–83.
113. **Geis-Asteggianti L., Lehotay S. J., Lightfield A. R., Dutko T., Ng C., Bluhm L.** Ruggedness testing and validation of a practical analytical method for >100 veterinary drug residues in bovine muscle by ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2012; 1258: 43–54.
114. **Núñez O., Gallart-Ayala H., Ferrer I., Moyano E., Galceran M. T.** Strategies for the multi-residue analysis of 100 pesticides by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2012; 1249: 164–180.
115. **Fast liquid chromatography-mass spectrometry methods in food and environmental analysis.** Eds. Nunes O., Gallart-Ayala H., Martins C. P. B., Lucci P. 2015.
116. **Lam S. C., Rodriguez E. S., Haddad P. R., Paull B.** Recent advances in open tubular capillary liquid chromatography. *Analyst*. 2019; 144: 3464–3488.
117. **Нестеренко П. Н.** Кинетически селективная жидкостная хроматография. Лаб. пр-во. 2022; 1–2: 92–100. **Nesterenko P. N.** Kinetically selective liquid chromatography. *Laboratory and Production*. 2022; 1–2: 92–100.
118. **Hu R., Pan Y.** Recent trends in counter-current chromatography. *Trends Anal. Chem.* 2012; 40: 15–27.
119. **Micellar liquid chromatography – Recent advances and applications.** Eds. Cardo-Broch S., Esteve-Romero J., Rambla-Allgre M. et al. 89 p.
120. **Ghosh R.** Ultrahigh-speed, ultra-resolution preparative separation of protein biopharmaceuticals using membrane chromatography. *J. Sep. Sci.* 2022; 45: 2024–2033.
121. **Gomis D. B., Nunez N. S., Alvarez M. D. C.** High speed liquid chromatography in process control. *J. Liq. Chrom.* 2006; 29: 931–948.
122. **Guo J., Lin H., Wang J. et al.** Recent advances in bio-affinity chromatography for screening bioactive components from natural products. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.* 2019; 165: 182–197.
123. **Lee M. S., Kerns E. H.** LC-MS applications in drug developments. *Mass Spectrom. Rev.* 1999; 18: 187–279.
124. **Olsen B. A.** Advances in HPLC technology for the determination of drug impurities. *Trends Anal. Chem.* 25: 796–805.
125. **D’Atri V., Fekete S., Clarke A. et al.** Recent advances in chromatography for pharmaceutical analysis. *Anal. Chem.* 2019; 91: 210–239.
126. **Kalogiouri N. P., Samaniden V. F.** Advances in optimization of chromatographic conditions for the separation of antioxidants in functional foods. *Reviews in separation science*. 2019; 1: 17–39.
127. **Cruz J. C., de Souza I. D., Grecco C. F. et al.** Recent advances in column switching HPLC for bioanalysis. *Sustainable chemistry pharmacy*. 2021; 22: 100431.
128. **Singh R.** HPLC method development and validation. On overview. *J. Pharm Educ. Res.* 2013; 4: 26–33.
129. **Samanidou V. F.** HPLC the workhorse in analytical laboratory. *Int. J. Anal Techniques*. 2015; 1: 2–10.
130. **Abdulhussain N., Nawada S., Schoenmakers P.** Latest trends of the future of three-dimensional separations in chromatography. *Chem. Rev.* 2021; 19: 12016–12034.

Статья получена 15.10.2022

Принята к публикации 10.11.2022