

Towards the Spectrochrom automation with ADC & omics-oriented DSP analysis

Orehov F.C. et al.

Ex- Biophys. Instrum. Group.

ВВЕДЕНИЕ

Ускорившийся прогресс инструментальной базы спектрохроматографии последних десятилетий обусловлен, по большей части, не изменением принципов детектирования аналитического сигнала, а внедрением многоканальных компьютеризованных систем, с использованием которых реализуется цифровая обработка данных / сигнала (DSP) [^{1,2}]. С 1960-х по начало 1980-х гг. инструментальный прогресс в данной области относился, преимущественно, к оптическому тракту и флюидике спектрохроматографов (примером чего является оптимизация кюветного отделения и дизайна проточных кювет [³]). Затем был осуществлён переход к позиционно-чувствительному анализу сигнала (в сечениях, отражающих гетерогенность фракционирования аналитов или к двумерному варианту в тонкослойной {спектро}хроматографии), обеспечивавшемся использованием диодных матриц [^{4,5}], в частности – ПЗС-матриц, с использованием регрессионного анализа (PLS – Partial Least Square), в частности – PRESS (Prediction {Residual} Error Sum of Squares), позволяющего в ходе PLS-калибровки эффективно разрешать перекрывающиеся пики, используя трёхмерные (A, λ , t) матрицы данных, включающие в себя время, длины волн, коэффициенты поглощения / экстинкции данной зоны или фракции [^{6,7}]. Хемометрикой, обеспечивавшей объективный количественный анализ, был подготовлен плацдарм для перехода к автоматизированной идентификации (фингерпринтинга либо футпринтинга) целевых веществ, в том числе – в сложных смесях и нативных аналитах; так, например, для фотосинтетических пигментов фотоавтотрофов спектрохроматографический метод фингерпринтинга был апробирован и внедрён ещё в начале 1990-х (наиболее полная, с концептуальных позиций, первичная публикация – 1996 г. [⁸]). Для проточных вариантов

¹ Kalambet Y. A., Kozmin Y. P., Perelroysen M. P. Computer spectrochromatography: Principles and practice of multi-channel chromatographic data processing // Journal of Chromatography A. – 1991. – Т. 542. – С. 247-261.

² Dinç E., Bükер E., Ertekin Z. C. Three-way Resolution of the Overlapping Ultrahigh-performance Liquid Spectrochromatograms for the Analysis of a Quaternary Mixture Using Parallel Factor Analysis // Analytical Letters. – 2018. – Т. 51. – №. 5. – С. 742-759.

³ Franc J., Pour J. Spectrochromatography. II. Application of a new cuvette design for the identification of by-products of the direct synthesis of phenylchlorosilanes // Collection of Czechoslovak Chemical Communications. – 1966. – Т. 31. – №. 12. – С. 4534-4538.

⁴ Vidal J.M., Parrilla P., Galera M.M., Frenich A. G. Cross-sections of spectrochromatograms for the resolution of folpet, procymidone and triazophos pesticides in high-performance liquid chromatography with diode-array detection // Analyst. – 1996. – Т. 121. – №. 10. – С. 1367-1372.

⁵ Galera M.M., Frenich A.G., Vidal J.M., Vázquez P.P. Resolution of imidacloprid pesticide and its metabolite 6-chloronicotinic acid using cross-sections of spectrochromatograms obtained by high-performance liquid chromatography with diode-array detection // Journal of Chromatography A. – 1998. – Т. 799. – №. 1-2. – С. 149-154.

⁶ Garcia M.G., Frenich A.G., Vidal J.M., Galera M.M., De La Peña A.M., Salinas F. Resolution of overlapping peaks in HPLC with diode array detection by application of partial least squares calibration to cross-sections of spectrochromatograms // Analytica chimica acta. – 1997. – Т. 348. – №. 1-3. – С. 177-185.

⁷ Frenich A.G., Marti J.L., Parrilla P., Marti M. Resolution of folpet, procymidone and triazophos in high-performance liquid chromatography-diode array detection by using partial least squares calibration to cross-sections of spectrochromatograms // Journal of Chromatography A. – 1997. – Т. 778. – №. 1-2. – С. 183-192.

⁸ Frigaard N. U., Larsen K. L., Cox R. P. Spectrochromatography of photosynthetic pigments as a fingerprinting technique for microbial phototrophs // FEMS Microbiology Ecology. – 1996. – Т. 20. – №. 2. – С. 69-77.

дизайна кювет с капиллярными (микрофлюидными / мезофлюидными) потоками можно практически пренебречь пространственной гетерогенностью в поперечном сечении, так как при стационарном детекторе сам факт протекания жидкости является в физическом смысле «сканированием» по единственной допустимой оси. Поэтому, при сохранении и развитии математико-алгоритмических принципов хемометрического анализа, которые, как было указано выше, были имплементированы ещё в 1990-х гг., применение любых, независимо от модели, спектральных / спектрофотометрических детекторов, в которых обеспечивается ламинарное протекание жидкости в капилляре, может быть оправдано, а модель с трёхмерной матрицей данных (исключая её многомерное пространственное расширение, возникающее при работе с сечениями), включающей в себя время, длины волн и коэффициенты поглощения / экстинкции, может быть легко экстраполирована на такие случаи.

По существу, «редукция размерности» в случаях подобных капиллярных схем есть ни что иное, чем переход к микрофлюидной хроматографии. Упрощённые схемы из 80-х гг. опередили на поколение развитие аналитической техники, предвосхитив новейшие достижения в области хроматографии на чипе и смежных технических дисциплин. Если в последней четверти XX века это виделось лишь упрощающим средством, делающим более удобным, локальным и экономичным процесс анализа, то в начале XXI столетия, параллельно с прогрессом в области химии поверхности и размерных эффектов, то же, но иначе осмысленное / интерпретированное техническое решение стало качественно новой техникой с дополнительными возможностями развития – не обнаруживавшимися в первичной его версии, несмотря на их физическое наличие, в силу более аддитивных подходов к инжинирингу и анализу данных раннего периода. В настоящее время целый комплекс методов микрофлюидной хроматографии, исключая спектрохроматографию с теми же микрогидродинамическими принципами распределения аналитов, разработан / внедрён в практику и производство: от обычной с твердофазными «микрофлюидными» колонками [⁹] (или, что тождественно, заменяющими их структурами, выполненными на чипе [¹⁰]) и очевидных для полимерных материалов изготавливаемых чипов технологий размерно-эксклюзионной хроматографии низкого давления [¹¹] до экзотических методов векторной хроматографии [^{12, 13}], мицеллярной электрокинетической хроматографии [¹⁴], хроматографии самовзаимодействия [¹⁵] (Self-Interaction Chromatography – SIC – метод, применяемый наиболее эффективно в протеомике, использующий специфичность белок-белковых взаимодействий, общую для белковых агрегатов, позволяющую проводить быстрый скрининг добавок белкового состава в качестве физических стабилизаторов, против агрегации, а также идентифицировать конкретные сайты взаимодействия и определять их относительную релевантность для самоассоциации [¹⁶]), аффинной [^{17, 18}], в том числе – парадоксальной, с

⁹ Huft J., Haynes C. A., Hansen C. L. Fabrication of high-quality microfluidic solid-phase chromatography columns //Analytical chemistry. – 2013. – Т. 85. – №. 3. – С. 1797-1802.

¹⁰ Taylor L. C., Lavrik N. V., Sepaniak M. J. High-aspect-ratio, silicon oxide-enclosed pillar structures in microfluidic liquid chromatography //Analytical chemistry. – 2010. – Т. 82. – №. 22. – С. 9549-9556.

¹¹ Chirica G., Lachmann J., Chan J. Size exclusion chromatography of microliter volumes for on-line use in low-pressure microfluidic systems //Analytical chemistry. – 2006. – Т. 78. – №. 15. – С. 5362-5368.

¹² Bernate J. A., Drazer G. Partition-induced vector chromatography in microfluidic devices //Journal of colloid and interface science. – 2011. – Т. 356. – №. 1. – С. 341-351.

¹³ Grimm A., Graeser O. Obstacle design for pressure-driven vector chromatography in microfluidic devices //EPL (Europhysics Letters). – 2010. – Т. 92. – №. 2. – С. 24001

¹⁴ Ramsey J. D., Collins G. E. Integrated microfluidic device for solid-phase extraction coupled to micellar electrokinetic chromatography separation //Analytical chemistry. – 2005. – Т. 77. – №. 20. – С. 6664-6670.

¹⁵ Martin C., Lenhoff A. M. Self-interaction chromatography of proteins on a microfluidic monolith // Biochemical engineering journal. – 2011. – Т. 53. – №. 2. – С. 216-222.

¹⁶ Patro S. Y., Przybycien T. M. Self-interaction chromatography: a tool for the study of protein–protein interactions in bioprocessing environments //Biotechnology and bioengineering. – 1996. – Т. 52. – №. 2. – С. 193-203.

позиций неавтоматизированной аналитики, мультипараметрической аффинной в одном микрофлюидном канале / капилляре [¹⁹] (что применимо и в спектрохроматографии, при мультиплексировании анализа по разным длинам волн), а также т.н. иммуно-аффинной хроматографии [²⁰]. Методы микрофлюидной хроматографии используются обычно для биологических образцов [²¹], в частности, в анализе протеома и скрининге биомаркеров [²²] (речь идёт не только о биожидкостях: микрофлюидная газовая хроматография уже в течение нескольких лет активно используется в биоаналитике [²³]), однако технологиям спектрохроматографического «тандемного» мультиплексирования предпочитают более современные хромато-масс-спектрометрические методы. Отсюда возникает проблема, с которой был начат настоящий обзор: проблема мультиплексирования и размерностей матриц данных.

Микрофлюидная интеграция параллельных микрохроматографических процессов [²⁴] в твердофазной жидкостной хроматографии на чипе как синхронизация и детерминирование параметров когерентности процессов сепарации на чипе (например – см. работу [²⁵]), являясь неизбежным пререквизитом мультиплексирования анализа, не может быть осуществлена при несоответствии параметров детекторов и сигнала, равно как и при взаимной несогласованности детекторов, с помощью кросс-аналитики сигналов с которых осуществляется выявление тех или иных дескрипторов образца или аналита. Сам процесс разделения при этом будет идти столь же эффективно, сколь и в системе, «случайно» имплементировавшей микрофлюидные принципы сепарации в 1970-1980-х гг., поскольку в физике хроматографического процесса ничего не меняется, но, в то же время, информационная ценность немультимплексируемого анализа (или эвристическая ценность его интерпретации) не будет достигать «современного» уровня, отличаемого, в соответствии с позиционированным в начале статьи тезисом, DSP-анализом сигнала и результатами его корреляционной обработки, фингерпринтинга и идентификации при использовании мультипараметрических баз данных (KDD). С другой стороны, техникой, имплементировавшей микрофлюидную хроматографию (или мезофлюидную, что также активно используется в настоящее время в химической или биоаналитической практике [²⁶, ²⁷]) в 1970-1980-х гг., но не имевшей в то время систем мультиплексирования сбора / обработки сигнала, при внедрении последних, можно обеспечить достаточно корректно

¹⁷ Li P., Gao Y., Pappas D. Negative enrichment of target cells by microfluidic affinity chromatography // *Analytical chemistry*. – 2011. – Т. 83. – №. 20. – С. 7863-7869.

¹⁸ Li P., Tian Y., Pappas D. Comparison of inlet geometry in microfluidic cell affinity chromatography // *Analytical chemistry*. – 2011. – Т. 83. – №. 3. – С. 774-781.

¹⁹ Li P., Gao Y., Pappas D. Multiparameter cell affinity chromatography: separation and analysis in a single microfluidic channel // *Analytical chemistry*. – 2012. – Т. 84. – №. 19. – С. 8140-8148.

²⁰ Peoples M. C., Phillips T. M., Karnes H. T. A capillary-based microfluidic instrument suitable for immunoaffinity chromatography // *Journal of Chromatography B*. – 2007. – Т. 848. – №. 2. – С. 200-207.

²¹ Pruim P., Schoenmakers P. J., Kok W. T. Microfluidic pressure driven liquid chromatography of biologically relevant samples // *Chromatographia*. – 2012. – Т. 75. – №. 21-22. – С. 1225-1234.

²² Lazar I. M., Trisiripisal P., Sarvaiya H. A. Microfluidic liquid chromatography system for proteomic applications and biomarker screening // *Analytical chemistry*. – 2006. – Т. 78. – №. 15. – С. 5513-5524.

²³ Pease B., Dreyer B., Pauls R. E. Detailed Compositional Analysis of Vegetable Oil Metathesis Products Using Microfluidic Switching Multidimensional Gas Chromatography // *Journal of the American Oil Chemists' Society*. – 2016. – Т. 93. – №. 8. – С. 1025-1036.

²⁴ Lakshminarayanan K. Microchromatography // *Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section B*. – 1954. – Т. 40. – №. 6. – С. 167-172.

²⁵ Huft J., Haynes C. A., Hansen C. L. Microfluidic integration of parallel solid-phase liquid chromatography // *Analytical chemistry*. – 2013. – Т. 85. – №. 5. – С. 2999-3005.

²⁶ Miró M. On-chip microsolid-phase extraction in a disposable sorbent format using mesofluidic platforms // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2014. – Т. 62. – С. 154-161.

²⁷ Hu L., Zuo P., Ye B. C. Multicomponent mesofluidic system for the detection of veterinary drug residues based on competitive immunoassay // *Analytical biochemistry*. – 2010. – Т. 405. – №. 1. – С. 89-95.

интерпретируемые и полные данные, в том числе – для многоканальных, кооперативных [28, 29] (в том числе – по аффинности связывания [30, 31]) и конкурентных (по аффинности связывания [32, 33], в том числе – в гель-фильтрации [34, 35]) процессов разделения.

В хемометрике размерность матрицы данных зависит от используемого детектора, физика которого может допускать или не допускать мультиплексирование анализа. Так, в случае микрофлюидной хроматографии анионов с использованием ионоселективных электродов мультиплексируемость определяется количеством и номенклатурой данных электродов, а также возможной интерференцией их показаний при наличии в растворах ионов, воздействующих одновременно на несколько электродов [36]; селективность таких измерений может быть существенно повышена за счёт использования техники атомной абсорбции [37], однако атомно-абсорбционная спектрометрия в качестве приоритетного детектора, измеряя спектры конкретных элементов – в противовес атомно-эмиссионной – в принципе не может столь же эффективно параллельно мультиплексировать анализ, как многоканальный набор или матрица ионоселективных электродов. Хороший способ, редуцирующий потребность в увеличении числа параллельных детекторов – фиксация собственных показаний системы, таких как хемилюминесценция, биолюминесценция на чипе [38]; однако это – пассивный метод, приводящий к «высвечиванию» в конкретных и не изменяемых спектральных окнах, поэтому, даже если не учитывать тот объективный факт, что хемилюминесцентному детектированию не подвергается подавляющее число аналитов, возможность селективного дифференциального анализа нативных образцов, не обработанных соответствующими реагентами (как в CLIA), мультиплексируемость в слабоселективных и монодетекторных методах аналитики на базе хемилюминесценции без пробоподготовки является предельно низкой. Оптически-опосредованные техники, имплементируемые в хроматографии на PDMS-чипах [39], являются эффективными при использовании спектрозонального или мультиспектрального подхода. Суперконтинуум, не являясь спектро-селективным источником, если не использовать монохроматоры, не является столь же хорошим источником для спектрально-мультиплексного анализа, как

²⁸ Okada, S., Husimi, Y., Tanabe, S., & Wada, A. (1975). Cooperative elution of oligoadenylic acid in poly U immobilized chromatography // *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*. – 1975. – Т. 14. – №. 1. – С. 33-49.

²⁹ Chunfa L., Yunfen J., Qiu Dingfan X. J. Separating of Thulium, Ytterbium, Lutetium by Cooperative Extraction Chromatography with Cyanex272-P~ 5~ 0~ 7 Impregnated Resin // *Journal – Chinese Rare Earth Society (Chinese Edition)*. – 2007. – Т. 25. – №. 2. – С. 249.

³⁰ Husimi Y. Analysis of the peak trajectory in cooperative elution of ligand in affinity chromatography // *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*. – 1979. – Т. 18. – №. 4. – С. 1023-1026.

³¹ Sukenaga Y., Akanuma H., Suekane C., Yamasaki M. Ligand Bindings of Bovine Carboxypeptidase B: II. Affinity Chromatography and Cooperative Ligations // *The Journal of Biochemistry*. – 1980. – Т. 87. – №. 3. – С. 695-707.

³² Dunn B. M., Chaiken I. M. Quantitative affinity chromatography. Determination of binding constants by elution with competitive inhibitors // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1974. – Т. 71. – №. 6. – С. 2382-2385.

³³ Steinmann L., Thormann W. Characterization of competitive binding, fluorescent drug immunoassays based on micellar electrokinetic capillary chromatography // *Electrophoresis*. – 1996. – Т. 17. – №. 8. – С. 1348-1356.

³⁴ Murphy B. E. P. 'Sephadex' column chromatography as an adjunct to competitive protein binding assays of steroids // *Nature New Biology*. – 1971. – Т. 232. – №. 27. – С. 21.

³⁵ Murphy B. E. P. Methodological problems in competitive protein-binding techniques; the use of Sephadex column chromatography to separate steroids // *Acta endocrinologica*. – 1970. – Т. 65. – №. 1 Suppl. – С. S37-S60.

³⁶ Tossanaitada B., Masadome T., Imato T. Simultaneous determination of inorganic anions by sequential injection chromatography system constructed from a monolithic column and a microfluidic polymer chip with an embedded ion-selective electrode // *Anal. Methods*. – 2012. – Т. 29. – №. 2. – С. 89-94.

³⁷ Nagy A., Baranyai E., Gaspar A. Interfacing microfluidic chip-based chromatography with flame atomic absorption spectrometry for the determination of chromium (VI) // *Microchemical Journal*. – 2014. – Т. 114. – С. 216-222.

³⁸ Al Lawati H. A. J., Kadavilpparampu A. M., Suliman F. E. O. Combination of capillary micellar liquid chromatography with on-chip microfluidic chemiluminescence detection for direct analysis of buspirone in human plasma // *Talanta*. – 2014. – Т. 127. – С. 230-238.

³⁹ Terray A., Arnold J., Hart S. J. Enhanced optical chromatography in a PDMS microfluidic system // *Optics Express*. – 2005. – Т. 13. – №. 25. – С. 10406-10415.

матрица лазерных диодов или DPSS-источников. TDLS-методы хорошо работают лишь с оговоркой, что мультиплексирование реализуется с десинхронизацией во времени – с целью обеспечения перестройки длин волн, в том числе – при несменном детекторе, но тогда подразумевается линейность отклика детектора во всём диапазоне перестройки / линейность калибровки (вспомним PLS / PRESS методы, рассматривавшиеся в начале статьи). Наиболее эффективным источником мультиплексирования с разверткой может считаться масс-спектрометрия на выходе микрофлюидного хроматографического чипа, в том числе – тандемная и времяпролётная [⁴⁰, ⁴¹]. В современных условиях, когда масс-спектрометры выпускаются промышленно фирмами-монополистами, а выпуск чипов не является более штучной прерогативой разработавших их лабораторий, будучи целью и источником дохода коммерческих малых фирм и крупных корпораций [⁴²], кастомизация и мультиплексирование зависят всё более не от целесообразности проведения работы, а от финансовых возможностей заказчика, делая практически невозможным серьёзные кастомизированные мультиплексные аналитические работы для развивающихся или находящихся под санкциями стран. Поэтому очевидные, но высокбюджетные методы, по необходимости, уступают место более простым, но дешевым методам, так как, если говорить об альтернативах, то ими являются только работы более низкого уровня (типа простых измерений уровня 1980-х гг.) на имеющемся оборудовании либо отсутствие их. В этих условиях возможность извлечения качественно новых дескрипторов измерений, получаемых со старого оборудования при его автоматизации и освоении штатом новых методов (обработки сигнала, анализа данных и KDD-интерпретации), позволяющих вне рамок увеличения бюджета исследований существенно поднять уровень работ, с точки зрения внутренней (не зависящей от модных трендов импакта и коммерциализующейся науки) логики исследовательского процесса, выглядит довольно привлекательно.

ТЕХНИКА

Нами предлагается использовать для этого данные, снимаемые со спектрального / спектрофотометрического детектора типа «Gilson Spectrochrom M». Капиллярный ввод, используемый большинством пользователей без перестройки тракта, по уровню потока совместим с микрофлюидными помпами и смесителями для хроматографии на чипе [⁴³] (а также с соответствующими микрофлюидно-хроматографическими интерфейсами для совмещения микроэкстракции и жидкостной хроматографии [⁴⁴]). Детекторы этой марки, преимущественно, без конструктивных изменений, широко использовались (с 1960-х гг. по 2010-е гг.) в гель-хроматографии [⁴⁵, ⁴⁶], обращено-фазовой белковой хроматографии (в том числе – FPLC-типа), препаративной и полупрепаративной хроматографии разной

⁴⁰ Lin S. L., Lin T. Y., Fuh M. R. Microfluidic chip-based liquid chromatography coupled to mass spectrometry for determination of small molecules in bioanalytical applications: A n update // *Electrophoresis*. – 2014. – Т. 35. – №. 9. – С. 1275-1284.

⁴¹ Park J. M., Han N. Y., Lee H. Using High Performance Liquid Chromatography on a Microfluidic Chip and Time-of-Flight Mass Spectrometry for Identification of Native N-linked Glycan Structures from Monoclonal Antibody // *한국당과학회 학술대회*. – 2012. – С. 46-47.

⁴² Bouwes D. iX-factory GmbH: development of a microfluidic chromatography chip // *Green Processing and Synthesis*. – 2014. – Т. 3. – №. 6. – С. 489-490.

⁴³ Ianovska M. A., Mulder P. P. M. F. A., Verpoorte E. Development of small-volume, microfluidic chaotic mixers for future application in two-dimensional liquid chromatography // *RSC Advances*. – 2017. – Т. 7. – №. 15. – С. 9090-9099.

⁴⁴ 최기환, 김지혜. A digital microfluidic interface between solid-phase microextraction and liquid chromatography // *한국분석과학회 학술대회*. – 2016. – С. 85-85.

⁴⁵ Determann H. *Praxis der Gelchromatographie* // *Gelchromatographie*. – Springer, Berlin, Heidelberg, 1967. – С. 14-66.

⁴⁶ Determann H. *Gel Chromatography Gel Filtration· Gel Permeation· Molecular Sieves: A Laboratory Handbook*. – Springer Science & Business Media, 2012.

градации уровня давления а значит – производительности, эффективности [^{47, 48}] (почти до сверхкритической хроматографии [⁴⁹]). Более того, в некотором смысле, протоколом, известным как “ELISA-in-tubes”, ставшим впервые реализуемым именно на базе «Gilson Spectrochrom M» [⁵⁰] (“...prototype of automatized Enzyme-Linked Immunosorbent Assay”) в 1970-е гг. был подготовлен базис для последующего внедрения идеи «лаборатории на трубке» / «лаборатории в трубке» («lab-on-a-tube» / «lab-in-a-tube») [^{51, 52}] как одного из ответвлений от тренда флюидных лабораторий на чипе. Диапазон применимости этого прибора был чрезвычайно широк – от препаративной MPLC для органической химии [⁵³] до синтетической геномики [⁵⁴] и нанохимии функционализированных фуллеренов [^{55, 56}] и их производных [⁵⁷] (как правило, совместно с колонками «Bucky Clutcher» и насосами для ВЭЖХ типа «контрон»). Основными объектами, исследовавшимися с применением «Gilson Spectrochrom M» и смежных конструкций (также под маркой «Spectrochrom»), по данным литературного анализа, в биохимических суботраслях являлись:

- I. Бионеорганические / биометаллорганические структуры белкового характера (в том числе белки, связывающие эссенциальные элементы / микроэлементы и ультрамикроэлементы; пример – белковое связывание меди и цинка [⁵⁸]). В ряде случаев к таким же структурам можно отнести естественные пигменты – хлорофилл (содержит Mg, координируемый атомами азота тетрапиррольного макроцикла) [⁵⁹] и его аналоги [⁶⁰], в частности – животный гемоцианин (также

⁴⁷ Grün J. R., Kossmann B., Reinhardt R. Discontinuous reversed-phase high performance liquid chromatography increases load capacity of analytical columns. Separation of ribosomal proteins from the archaebacterium *Sulfolobus acidocaldarius* // *Chromatographia*. – 1988. – Т. 25. – №. 3. – С. 189-198.

⁴⁸ Godbille E., Devaux P. Use of an 18-mm ID column for analytical-and semi-preparative-scale high-pressure liquid chromatography // *Journal of Chromatography A*. – 1976. – Т. 122. – С. 317-329.

⁴⁹ Orekhov F. K., Gradov O. V. Computer-assisted spim-like methods (spim, mspim, muvispim & piv/ ldv/ lda/ ldf based on spim-like setups) as novel tools for dynamic analysis of supercritical fluid fluxes and oriented complex fluids with soft matter structures // *Comput. nanotech.* — 2018. — № 4. — С. 17–24.

⁵⁰ Carlier Y., Bout D., Capron A. Automation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) // *Journal of immunological methods*. – 1979. – Т. 31. – №. 3-4. – С. 237-246.

⁵¹ Harazim, S. M., Quiñones, V. A. B., Kiravittaya, S., Sanchez, S., & Schmidt, O. G. Lab-in-a-tube: on-chip integration of glass optofluidic ring resonators for label-free sensing applications // *Lab on a Chip*. – 2012. – Т. 12. – №. 15. – С. 2649-2655.

⁵² Li, C., Shutter, L. A., Wu, P. M., Ahn, C. H., & Narayan, R. K. Potential of a simple lab-on-a-tube for point-of-care measurements of multiple analytes // *Lab on a Chip*. – 2010. – Т. 10. – №. 11. – С. 1476-1479.

⁵³ Pietruszka J., Witt A., Frey W. Synthesis of “Garner” Aldehyde-Derived Cyclopropylboronic Esters // *European Journal of Organic Chemistry*. – 2003. – Т. 2003. – №. 16. – С. 3219-3229.

⁵⁴ Gait, M. J., Matthes, H. W., Singh, M., & Titmas, R. C. Synthesis of oligodeoxyribonucleotides by a continuous-flow, solid-phase method using phosphotriester intermediates // *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. – 1982. – №. 1. – С. 37-40.

⁵⁵ Ulmer L., Siedschlag C., Mattay J. Functionalization of [60] Fullerene and of [60] Fullerene Monoadducts by Photochemical Cycloaddition of 4-Methyl-1, 2, 4-triazoline-3, 5-dione // *European Journal of Organic Chemistry*. – 2003. – Т. 2003. – №. 19. – С. 3811-3817.

⁵⁶ Averdung J., Mattay J. Exohedral functionalization of [60] fullerene by [3+ 2] cycloadditions: syntheses and chemical properties of triazolino-[60] fullerenes and 1, 2-(3, 4-dihydro-2H-pyrrolo)-[60] fullerenes // *Tetrahedron*. – 1996. – Т. 52. – №. 15. – С. 5407-5420.

⁵⁷ Ulmer L., Mattay J. Preparation and Characterization of Sulfonyl-Azafulleroid and Sulfonylaziridino-Fullerene Derivatives // *European Journal of Organic Chemistry*. – 2003. – Т. 2003. – №. 15. – С. 2933-2940.

⁵⁸ Declair W., Vlaeminck A., Geladi P., Van Grieken R. Determination of protein-bound copper and zinc in some organs of the cuttlefish *Sepia officinalis* // *Comparative Biochemistry and Physiology B*. – 1978. – Т. 60. – С. 347-350.

⁵⁹ Liebezeit G. Chlorophyll a in marine phytoplankton: separation by HPLC and specific fluorimetric detection // *Journal of High Resolution Chromatography*. – 1980. – Т. 3. – №. 10. – С. 531-533.

⁶⁰ Fages F., Griebenow N., Griebenow K., Holzwarth A. R., Schaffner K. Characterization of light-harvesting pigments of *Chloroflexus aurantiacus*. Two new chlorophylls: oleyl (octadec-9-enyl) and cetyl (hexadecanyl) bacteriochlorophyllides-c // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. – 1990. – №. 10. – С. 2791-2797.

металлопротеин – медьсодержащий аналог гемоглобинов) [61]. Почти во всех случаях измерения ведутся на длинах волн от 254 нм до 280 нм.

- II. Функциональные белки, в частности – ферменты (энзимы) [62, 63]. Аналогично, по принципам супрамолекулярной химии «ключ-замок», «рецептор-субстрат» действуют гормоны, поэтому целесообразно указать на широкое внедрение в биохимическую эндокринологию методов с использованием «спектрохромов» [64, 65]. Почти что во всех случаях измерения ведутся на длинах волн от 254 нм до 280 нм.



Рис. 1: Передняя панель модуля управления и регистрации сигнала.

- III. Как правило, такое связывание происходит на поверхности мембран и других мембранных поверхностей / раздела компартментализованных фаз в клетках (так в последней цитированной работе взаимодействие стерола и липидных / фосфолипидных структур рассматривается в модельных мембранах). Анализ

⁶¹ Decler W., Richard A., Lemaire J., Wolf G. L'Hémocyanine et La Glande Branchiale de Sepia officinalis L.(mollusque cephalopode) // Annales Soc. r. Zool. Belg. — 1976. — T. 106 — №. 2-4 — C. 133-144.

⁶² Pietruszka J., Rieche A. C., Wilhelm T., Witt A. Kinetic enzymatic resolution of cyclopropane derivatives //Advanced Synthesis & Catalysis. — 2003. — T. 345. — №. 12. — C. 1273-1286.

⁶³ Hensel G., Trüper H. G. O-Acetylserine sulphydrylase and S-sulfocysteine synthase activities of Chromatium vinosum // Archives of Microbiology. — 1981. — T. 130. — №. 3. — C. 228-233.

⁶⁴ Lagueux M., Harry P., Hoffmann J. A. Ecdysteroids are bound to vitellin in newly laid eggs of Locusta //Molecular and cellular endocrinology. — 1981. — T. 24. — №. 3. — C. 325-338.

⁶⁵ Ranadive G. N., Lala A. K. Sterol-phospholipid interaction in model membranes: role of C5-C6 double bond in cholesterol //Biochemistry. — 1987. — T. 26. — №. 9. — C. 2426-2431.

путей метаболизирования организмом лекарственных препаратов проводят с учетом роли жирных кислот ^[66] (мониторинг при препаративной ВЭЖХ на 270 нм). Сывороточные липопротеины также классически входят в спектр анализов на данной платформе (по крайней мере, с 1976-го ^[67], 1977 года ^[68, 69] и далее; на 280 нм). Иногда (впрочем, скорее это верно для абсорбциометров модели Spectrochrom F254, чем для модели «М») анализируют взаимодействие каких-либо агентов не с аморфно-жидкими, с компартиментализованными жирными кислотами / липидами – в частности, в форме несущих содержимое липосом, независимо от количества слоёв, или фосфатидилхолиновых везикул ^[70].



Рис. 2: Задняя панель модуля управления и регистрации сигнала.

IV. Антибиотики ^[71] и продукты их клеточного взаимодействия (на длинах волн, более близких к 300 нм) ^[72]. Очевидно, что процесс этот носит выраженный и

⁶⁶ Dell H. D., Fielder J., Kamp R., Gau W., Kurz J., Weber B., Wuensche C. Etofenamate fatty acid esters. An example of a new route of drug metabolism //Drug Metabolism and Disposition. – 1982. – Т. 10. – №. 1. – С. 55-60.

⁶⁷ Chapman M. J., Goldstein S. Comparison of the serum low density lipoprotein and of its apoprotein in the pig, rhesus monkey and baboon with that in man //Atherosclerosis. – 1976. – Т. 25. – №. 2-3. – С. 267-291.

⁶⁸ Chapman M. J., Mills G. L. Characterization of the serum lipoproteins and their apoproteins in hypercholesterolaemic guinea pigs //Biochemical Journal. – 1977. – Т. 167. – №. 1. – С. 9-21.

⁶⁹ Mills G. L., Taylaur C. E., Chapman M. J., Forster G. R. Characterization of serum lipoproteins of the shark *Centrophorus squamosus* //Biochemical Journal. – 1977. – Т. 163. – №. 3. – С. 455-465.

⁷⁰ Hanssens I., Houthuys C., Herremans W., Van Cauwelaert F. H. Interaction of α -lactalbumin with dimyristoyl phosphatidylcholine vesicles. I. A microcalorimetric and fluorescence study // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes. – 1980. – Т. 602. – №. 3. – С. 539-557.

⁷¹ Tronchet J. M. J., Massoud M. A. M. Analogues de la lincomycine. I. Allongement de la chaîne du diisopropylidène-1, 2: 3, 4-O-galactohexodialdopyranose-1, 5 //Helvetica Chimica Acta. – 1979. – Т. 62. – №. 5. – С. 1632-1639.

физико-химически доказанный поверхностный характер. Проникновение же в клетку в большинстве ряде случаев опосредовано мембранами. По факту, то состояние, которое является фармакологически-эффективным для пациента, является токсикологическим для подавляемого микроорганизма. Аналогично, экзогенный токсин (например, змеи), взаимодействующий с мембранами (или аддитивно покровами) таргетируемого организма, опосредуется мембранами таргетируемого организма по механизму действия. Детекторы «Спектрохром-М» и предшествующие модификации «Спектрохром» использовались с 1960-х гг. для данных целей. Альфа-токсин (нейротоксин венома египетской кобры *Naja haje*) был очищен, исследован и секвенирован с использованием DEAE-целлюлозных колонок, бэкмановского «Спектрохрома» и «Электрофоратора» (Gilson), а также УФ-детекторов LKB (LKB «Uvicord») в 1960-х ^[73] – 1970-х гг. ^[74], также как и кардиотоксины ^[75, 76] того же венома и ряд связанных с ними ферментов, таких, как фосфолипаза А ^[77]. В тот период были исследованы, в частности, с использованием «Спектрохрома» модели 130 (и аналогичных), токсины венома CM-8, CM-11 and CM-13a *Naja haje* ^[78], δ-токсин *Naja haje* ^[79]. Активные исследования в этом направлении велись в рамках ассигнований, полученных от “Swedish Natural Science Research Council”, однако аппаратура специального назначения, в частности – «Спектрохром» (и иные детекторы), как правило, предоставлялась такими внешними фондами (к “Swedish Natural Science Research Council”), как “The Wallenberg Foundation”. Следует указать, что результат этих работ с использованием «Спектрохрома» являлся, вместе с тем, не только прикладным токсикометрическим и/или фармакологическим достижением, но и одним из первых полноценных аминокислотных сиквенсов в истории человечества ^[80] (причём – компаративно-биохимических по факту параллельного установления различий между токсинами ^[81, 82]), а также, что стало очевидным позже, одним из первых омиксных проектов («веном» здесь

⁷² Vester B., Garrett R. A. The importance of highly conserved nucleotides in the binding region of chloramphenicol at the peptidyl transfer centre of Escherichia coli 23S ribosomal RNA // The EMBO journal. – 1988. – Т. 7. – №. 11. – С. 3577-3587.

⁷³ Botes D. P., Strydom D. J. A Neurotoxin, Toxin α, from Egyptian Cobra (*Naja haje haje*) Venom I. Purification, properties, and complete amino acid sequence // Journal of Biological Chemistry. – 1969. – Т. 244. – №. 15. – С. 4147-4157.

⁷⁴ Halpert J., Eaker D. Amino acid sequence of a presynaptic neurotoxin from the venom of *Notechis scutatus scutatus* (Australian tiger snake) // Journal of Biological Chemistry. – 1975. – Т. 250. – №. 17. – С. 6990-6997.

⁷⁵ Fryklund L., Eaker D. Complete amino acid sequence of a cardiotoxin from the venom of *Naja Naja* (Cambodian cobra) // Biochemistry. – 1975. – Т. 14. – №. 13. – С. 2860-2865.

⁷⁶ Fryklund L., Eaker D. Complete covalent structure of a cardiotoxin from the venom of *Naja nigricollis* (African black-necked spitting cobra) // Biochemistry. – 1975. – Т. 14. – №. 13. – С. 2865-2871.

⁷⁷ Joubert F. J. Hemachatus haemachatus (Ringhals) Venom. Purification, Some Properties and Amino Acid Sequence of Phospholipase A (Fraction DE-I) // European journal of biochemistry. – 1975. – Т. 52. – №. 3. – С. 539-554.

⁷⁸ Joubert F. J. Snake Venom Toxins: The Amino Acid Sequences of Three Toxins (CM-8, CM-11 and CM-13a) from *Naja haje annulifera* (Egyptian cobra) Venom // European journal of biochemistry. – 1976. – Т. 64. – №. 1. – С. 219-232.

⁷⁹ Botes D.P., Strydom D.J., Anderson C.G., Christensen P.A. Snake Venom Toxins. Purification and properties of three toxins from *Naja nivea* (Linnaeus) (cape cobra) venom and the amino acid sequence of toxin δ // Journal of Biological Chemistry. – 1971. – Т. 246. – №. 10. – С. 3132-3139.

⁸⁰ Strydom A. J. C., Botes D. P. Snake venom toxins. Purification, properties, and complete amino acid sequence of two toxins from ringhals (*hemachatus haemachatus*) venom // Journal of Biological Chemistry. – 1971. – Т. 246. – №. 5. – С. 1341-1349.

⁸¹ Florkin M. Comparative biochemistry // Annu Rev Biochem. – 1952. – Т. 21. – С. 459-472.

⁸² Florkin M. [Various new perspectives of comparative biochemistry] // Bull Soc Chim Biol (Paris). – 1963. – Т. 45ю – С. 653-680.

может быть интерпретирован как *омиксный* кластер), реализованных без МС-измерений, но с привлечением спектрохроматографического детектирования и электрофореза конечных аминокислотных последовательностей-аналитов.



Рис. 3: Проточная часть, совместимая с мезофлюидными системами анализа.

- V. Синтетические аналоги биологических компонентов: синтетические пептиды в различных конформациях [⁸³], синтетические углеводороды (как правило – с использованием Gilson Spectrochrome M и HPL-хроматографических колонок до 25 мм в диаметре) [⁸⁴].
- VI. Фармакологические средства и их прекурсоры [^{85, 86}] (как правило – с какими-то дополнительными источниками комплементарных дескрипторов; пример – рефрактометрический детектор).
- VII. Гуминовые кислоты [⁸⁷] (с детектированием на 280 нм).
- VIII. Пероксиды; субстраты и продукты перекисного окисления, в частности – белки и пептиды [^{88, 89}] и лигнин [⁹⁰] (первые, преимущественно, на 280 нм, а второй на 409 нм).
- IX. Витамины [⁹¹].

⁸³ Brack A., Spach G. Multiconformational synthetic polypeptides //Journal of the American Chemical Society. – 1981. – Т. 103. – №. 21. – С. 6319-6323.

⁸⁴ Tronchet, J. M., Neeser, J. R., Charollais, E. J., & Gonzalez, L. Preparation d'Analogues de Sucres Phosphates par Addition Nucleophile Conjuguee //Journal of Carbohydrate Chemistry. – 1983. – Т. 2. – №. 1. – С. 19-40.

⁸⁵ Plumier E., Retzow A., Wiegerebe W. Hemmung der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase durch Dithranol-Ester //Pharmazeutische Zeitung. – 1982. – Т. 127. – №. 22. – С. 1199-1202.

⁸⁶ Ziller K. H., Rupprecht H. Control of Crystal Growth in Drug Suspensions: 1) Design of a Control Unit and Application to Acetaminophen Suspensions //Drug Development and Industrial Pharmacy. – 1988. – Т. 14. – №. 15-17. – С. 2341-2370.

⁸⁷ Piccolo A., Nardi S., Concheri G. Macromolecular changes of humic substances induced by interaction with organic acids //European Journal of Soil Science. – 1996. – Т. 47. – №. 3. – С. 319-328.

⁸⁸ González A., Tamés R. S., Rodríguez R. Ethylene in relation to protein, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rooting in hazelnut cotyledons //Physiologia Plantarum. – 1991. – Т. 83. – №. 4. – С. 611-620.

⁸⁹ Mieden O. J., Schuchmann M. N., von Sonntag C. Peptide peroxy radicals: base-induced superoxide radical ion elimination versus bimolecular decay. A pulse radiolysis and product study //The Journal of Physical Chemistry. – 1993. – Т. 97. – №. 15. – С. 3783-3790.

⁹⁰ Kern H. W. Improvement in the production of extracellular lignin peroxidases by Phanerochaete chrysosporium: effect of solid manganese (IV) oxide //Applied microbiology and biotechnology. – 1989. – Т. 32. – №. 2. – С. 223-234.

- X. Алкалоиды в методах микрохроматографии – за рубежом [^{92, 93}] и в СССР [⁹⁴].
- XI. Хиральные / энантиомерные вещества в соответствующей хроматографии (с различными длинами волн детектирования, например – с детектированием на 259 нм для эфиров [^{95, 96, 97}]) [^{98, 99, 100, 101, 102, 103}].
- XII. Продукты анодного окисления [¹⁰⁴] (с детектированием на 254 нм [^{105, 106}]).
- XIII. Аминокислоты, пептиды, белки, полипептиды [^{107, 108, 109, 110}] (особенно хочется подчеркнуть факты использования в исследованиях рибосомальных белков [^{108, 111, 112, 113}]).

⁹¹ Gorbach, G., Henke, J., & Hekal, I. The estimation of vitamin C content by microchromatography //Mikrochimica Acta. – 1968. – С. 886-893.

⁹² Munier R., Macheboeuf M., Cherrier N. Microchromatography of biological alkaloids and nitrogenous bases with previously salt treated paper. II. Improvement in the technic of solvent acid phases, utilization of paper impregnated with a salt whose anion is that of the acid which acidifies the solvent phase //Bulletin de la Societe de chimie biologique. – 1952. – Т. 34. – №. 1-2. – С. 204.

⁹³ Munier R., Macheboeuf M. Paper partition microchromatography of alkaloids and of various biological nitrogenous bases. III. Examples of the separation of various alkaloids by the acid solvent phase technic (atropine, cocaine, nicotine, sparteine, strychnine and corynanthine families) //Bulletin de la Societe de chimie biologique. – 1951. – Т. 33. – №. 7. – С. 846.

⁹⁴ Zakupra, V. A., Timoshenko, S. V., Gordash, Y. T., Zhenirovskaya, P. M., & Medvedeva, T. V. Determination of composition of alkylsalicylate additives for lube oils by liquid microchromatography //Chemistry and Technology of Fuels and Oils. – 1976. – Т. 12. – №. 5. – С. 399-403.

⁹⁵ Pietruszka J., Witt A. Enantiomerically pure cyclopropylboronic esters: auxiliary-versus substrate-control //Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1. – 2000. – №. 24. – С. 4293-4300.

⁹⁶ Luithle J. E. A., Pietruszka J. Synthesis of enantiomerically pure cis-cyclopropylboronic esters //European Journal of Organic Chemistry. – 2000. – Т. 2000. – №. 14. – С. 2557-2562.

⁹⁷ Luithle J. E. A., Pietruszka J. Synthesis of enantiomerically pure cyclopropyl boronic esters //Liebigs Annalen. – 1997. – Т. 1997. – №. 11. – С. 2297-2302.

⁹⁸ Braun, N. A., Klein, I., Spitzner, D., Vogler, B., Braun, S., Borrmann, H., & Simon, A. Cascade reactions with chiral Michael acceptors; synthesis of enantiomerically pure tricyclo [3.2. 1.02, 7] and bicyclo [3.2. 1] octanes //Liebigs Annalen. – 1995. – Т. 1995. – №. 12. – С. 2165-2169.

⁹⁹ Amann, R., Arnold, K., Spitzner, D., Snatzke, G., & Majer, Z. Reaction of Chiral Nucleophiles with Pyridinium Compounds. Total Synthesis of the Indole Alkaloids (–) Isovallesiachotamine and (+) Vallesiachotamine. *Liebigs Annalen*, 1996(3), 349-355. //Liebigs Annalen. – 1996. – Т. 1996. – №. 3. – С. 349-355.

¹⁰⁰ Eilbracht, P., Hittinger, C., Kufferath, K., Schmitz, A., & Gilsing, H. D. Carbonylierende Ringerweiterung, 5. Enantioselektive Synthese des Bicyclo [3.2. 1] oct-3-en-2, 8-dione-Systems durch doppelte Carbonylierung von α-Terpinen und anderen prochiralen Cyclohexadienen //Chemische Berichte. – 1990. – Т. 123. – №. 5. – С. 1089-1095.

¹⁰¹ Herzog, H., Koch, H., Scharf, H. D., & Runsink, A. J. Chiral induction in photochemical reactions: V. Regio- and diastereoselectivity in the photochemical [2+ 2] cycloaddition of chiral cyclenone-3-carboxylates with 1, 1'-diethoxyethene //Tetrahedron. – 1986. – Т. 42. – №. 13. – С. 3547-3558.

¹⁰² Pelzer, R., Scharf, H. D., Buschmann, H., & Runsink, J. *Chemische Berichte*, 122(6), 1187-1192. Pelzer R. et al. Chirale Induktion bei Photochemischen Reaktionen, XI. Derivate der (+)-Menthylglyoxylate in der Paternò-Büchi-Reaktion. Einfluß von Substituenten im Glyoxylsäurerest auf die Diastereoselektivität //Chemische Berichte. – 1989. – Т. 122. – №. 6. – С. 1187-1192.

¹⁰³ Eilbracht P., Winkels I. Stereospezifische Umwandlungen des (+)-2- und (+)-3-Carens in optisch aktive Siebenring-Systeme //Chemische Berichte. – 1991. – Т. 124. – №. 1. – С. 191-198.

¹⁰⁴ Engels R., Schäfer H. J., Steckhan E. Anodische Oxidation von Arylolefinen //Justus Liebigs Annalen der Chemie. – 1977. – Т. 1977. – №. 2. – С. 204-224.

¹⁰⁵ Baltes H., Stork L., Schäfer H. J. Anodische Oxidation organischer Verbindungen, 23 Anodische Addition von Harnstoffen und Ethylenglykol an konjugierte Diene //Liebigs Annalen der Chemie. – 1979. – Т. 1979. – №. 3. – С. 318-327.

¹⁰⁶ Baltes H., Stork L., Schäfer H. J. Anodische Hydroxylierung und Acetamidierung von konjugierten Dienem //Chemische Berichte. – 1979. – Т. 112. – №. 3. – С. 807-817.

- XIV. Изоляты и экстракты из различных биологических объектов [¹¹⁴, ¹¹⁵, ¹¹⁶].
- XV. Нейромедиаторы и нейротрансмиттеры [¹¹⁷, ¹¹⁸].
- XVI. Иммунохимические агенты / антигены и антитела [¹¹⁹], удовлетворяя старым нормам количественной микрохроматографии [¹²⁰].
- XVII. Атмосферные и водные поллютанты [¹²¹, ¹²²].
- XVIII. Конституенты тонких плёнок и мембраномиметиков [¹²³, ¹²⁴].
- XIX. Гемоглобины и их производные [¹²⁵, ¹²⁶, ¹²⁷, ¹²⁸, ¹²⁹, ¹³⁰, ¹³¹, ¹³², ¹³³, ¹³⁴, ¹³⁵, ¹³⁶, ¹³⁷, ¹³⁸].

¹⁰⁷ Roop W. E., Putnam F. W. Purification and properties of human transferrin C and a slow moving genetic variant //Journal of Biological Chemistry. – 1967. – Т. 242. – №. 10. – С. 2507-2513.

¹⁰⁸ Joubert F. J. Studies on the high-sulphur proteins of reduced mohair: the isolation and the amino acid sequence of protein SCMKB-M2. 6 //South African Journal of Chemistry. – 1975. – Т. 28. – №. 2. – С. 250-263.

¹⁰⁹ Kossmann B., Grün J. R., Reinhardt R. Separation of 50 S ribosomal proteins from sulfolobus acidocaldarius by discontinuous reversed-phase chromatography // Chromatographia. – 1988. – Т. 25. – №. 3. – С. 215-218.

¹¹⁰ Fulton, S., Murphy, S., Reich, J., Van Den Heuvel, Z., Sakowski, R., Smith, R., & Agee, S. A high-throughput microchromatography platform for quantitative analytical scale protein sample preparation //JALA: Journal of the Association for Laboratory Automation. – 2011. – Т. 16. – №. 6. – С. 457-467.

¹¹¹ Brosius J. Primary structure of Escherichia coli ribosomal protein L31 //Biochemistry. – 1978. – Т. 17. – №. 3. – С. 501-508.

¹¹² Brosius J., Arfsten U. Primary structure of protein L19 from the large subunit of Escherichia coli ribosomes //Biochemistry. – 1978. – Т. 17. – №. 3. – С. 508-516.

¹¹³ Georgalis Y., Giri L., Littlechild J. A. Physical studies on the ribosomal protein S2 from the Escherichia coli 30S subunit //Biochemistry. – 1981. – Т. 20. – №. 5. – С. 1061-1064.

¹¹⁴ Huebner F. R., Rothfus J. A., Wall J. S. Isolation and chemical comparison of different gamma-gliadins from hard red winter wheat flour //Cereal Chem. – 1967. – Т. 44. – №. 221. – С. 967l.

¹¹⁵ Devaux P., Godbille E., Viennet R. Quantitative Determination of Vincamine in Human Plasma by Gas Chromatography-Mass Spectrometry //Recent Developments in Mass Spectrometry in Biochemistry and Medicine. – Springer, Boston, MA, 1979. – С. 191-203.

¹¹⁶ Lau E. C., Ruch J. V. Glycosaminoglycans in embryonic mouse teeth and the dissociated dental constituents //Differentiation. – 1982. – Т. 23. – №. 1-3. – С. 234-242.

¹¹⁷ Zi-Mian W., Zhang J. I. N. An ultra-micromethod for determining γ -aminobutyric acid and taurine contents in caudatoputamen of mice with dansyl reaction-microchromatography on polyamide thin layer and fluorescence measurement [J] //Acta Physiological Sinica. – 1981. – Т. 1. – С. 016.

¹¹⁸ Osborne N. N., Neuhoﬀ V. Use of dansyl chloride and microchromatography to detect and study the metabolism of suspected transmitter substances and amino acids in single neurons // Biochemical Journal. – 1972. – Т. 128. – С. 82P.

¹¹⁹ Beban, M., Tang, N., van den Heuvel, Z., & Knorr, D. Antibody Purification with AssayMAP, a High Throughput Microchromatography Platform //Journal of Biomolecular Techniques: JBT. – 2012. – Т. 23. – №. Suppl. – С. S27.

¹²⁰ Ven Horst S. H., Jurkovich V., Carstens Y. Quantitative Aspects of Microchromatography //Analytical Chemistry. – 1957. – Т. 29. – №. 5. – С. 788-791.

¹²¹ Carre J., Popescu M., Barbulea C. Extraction and analysis of industrial solvents and pollutants of the atmosphere, trapped in activated carbon or analysed by microchromatography //Pollution Atmospherique. – 2000. – Т. 42. – №. 166. – С. 273-282.

¹²² Gersdorf J., Mattay J., Goerner H. Radical cations. 3. Photoreactions of biacetyl, benzophenone, and benzil with electron-rich alkenes //Journal of the American Chemical Society. – 1987. – Т. 109. – №. 4. – С. 1203-1209.

¹²³ Demole E. Recent progress of microchromatography on thin films //Journal of Chromatography. – 1961. – Т. 6. – С. 2-21.

¹²⁴ Přistoupil T. I., Fričová V., Hrubá A. Microchromatography of proteins on wedge-compressed nitrocellulose membranes //Journal of chromatography. – 1967. – Т. 28. – С. 89-93.

¹²⁵ Efremov, C. D., Huisman, T. H. J., Bowman, K., Wrightstone, R. N., & Shroeder, W. A. Microchromatography of hemoglobins. II. A rapid method for the determination of hemoglobin A2 //The Journal of laboratory and clinical medicine. – 1974. – Т. 83. – №. 4. – С. 657-664.

XX. Иные биорелевантные тетрапиррольные соединения (в противовес практике последнего десятилетия [¹³⁹]).

Эти возможности могут быть реализованы как в непрерывных хроматографических слоях [^{140, 141, 142, 143}], так и в дискретной микрофлюидике [^{144, 145, 146, 147}].

¹²⁶ Huisman, T. H. J., Schroeder, W. A., Brodie, A. N., Mayson, S. M., & Jakway, J. Microchromatography of hemoglobins. III. A simplified procedure for the determination of hemoglobin A2 //The Journal of laboratory and clinical medicine. – 1975. – Т. 86. – №. 4. – С. 700-702.

¹²⁷ Schroeder, W. A., Huisman, T. H. J., Powars, D., Evans, L., Abraham, E. C., & Lam, H. Microchromatography of hemoglobins. IV. An improved procedure for the detection of hemoglobins S and C at birth //Translational Research. – 1975. – Т. 86. – №. 3. – С. 528-532.

¹²⁸ Schroeder W. A., Nelson N. C. Microchromatography of hemoglobins: V. Thin-layer chromatography of some hemoglobins on CM-cellulose //Journal of Chromatography A. – 1975. – Т. 115. – №. 2. – С. 527-533.

¹²⁹ Galanello, R., Melis, M. A., Murioli, P., & Cao, A. Quantitation of Hb A2 with DE-52 Microchromatography in Whole Blood as Screening Test for β -Thalassemia Heterozygotes //Acta haematologica. – 1977. – Т. 57. – №. 1. – С. 32-36.

¹³⁰ Abraham, E. C., Huisman, T. H. J., Schroeder, W. A., Pace, L. A., & Grussing, L. Microchromatography of hemoglobins: VII. Detection of some uncommon hemoglobin variants and two rapid methods for the quantitation of Hb-A2 in the presence of Hb-C //Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications. – 1977. – Т. 143. – №. 1. – С. 57-63.

¹³¹ Schroeder W. A., Pace L. A., Huisman T. H. J. Microchromatography of hemoglobins: VIII. A general qualitative and quantitative method in plastic drinking straws and the quantitative analysis of Hb-F //Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications. – 1978. – Т. 145. – №. 2. – С. 203-212.

¹³² Fung C. H. K., Kim N. Permanent Records of Microchromatography of Hemoglobins //American journal of clinical pathology. – 1978. – Т. 70. – №. 6. – С. 924-925.

¹³³ Hamilton, S. R., Miller, M. E., Jessop, M., & Charache, S. Comparison of microchromatography and electrophoresis with elution for hemoglobin A2 (Hb A2) quantitation //American journal of clinical pathology. – 1979. – Т. 71. – №. 4. – С. 388-396.

¹³⁴ Henson, J. B., Carver, J. R., Wilson, J. B., & Huisman, T. H. J. Carboxymethyl-cellulose microchromatography for the quantitation of hemoglobin Bart's (γ_4) and its use in the detection of the α -thalassemia conditions //Journal of Chromatography A. – 1980. – Т. 198. – №. 4. – С. 443-448.

¹³⁵ Milone, G., Calaciura, A., Granata, P., & Sortino, G. HbA2 evaluation: comparison between microchromatography on a DEAE cellulose column and conventional cellulose acetate electrophoresis //Bollettino della Societa italiana di biologia sperimentale. – 1981. – Т. 57. – №. 17. – С. 1777-1782.

¹³⁶ Krauss, J. S., Drew, P. A., Jonah, M. H., Trinh, M., Shell, S., Black, L., & Baisden, C. R. Densitometry and microchromatography compared for determination of the hemoglobin C and A2 proportions in hemoglobin C and hemoglobin SC disease and in hemoglobin C trait //Clinical chemistry. – 1986. – Т. 32. – №. 5. – С. 860-862.

¹³⁷ Samperi, P., Testa, R., Mancuso, M., & Schiliro, G. Comparative approach to the evaluation of hemoglobin A2 by two different methods: high-performance liquid chromatography and DE-52 microchromatography //Acta haematologica. – 1990. – Т. 83. – №. 4. – С. 179-182.

¹³⁸ Hooghuis H., Rodriguez M., Castano M. Ion-exchange microchromatography and thiobarbituric acid colorimetry for the measurement of canine glycated hemoglobins //Veterinary clinical pathology. – 1994. – Т. 23. – №. 4. – С. 110-116.

¹³⁹ Acevedo, S., Guzmán, K., Labrador, H., Carrier, H., Bouyssiere, B., & Lobinski, R. Trapping of metallic porphyrins by asphaltene aggregates: a size exclusion microchromatography with high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometric detection study //Energy & Fuels. – 2012. – Т. 26. – №. 8. – С. 4968-4977.

¹⁴⁰ Li, Y. M., Liao, J. L., Nakazato, K. I., Mohammad, J., Terenius, L., & Hjerten, S. Continuous beds for microchromatography: cation-exchange chromatography //Analytical biochemistry. – 1994. – Т. 223. – №. 1. – С. 153-158.

¹⁴¹ Liao J. L., Li Y. M., Hjerten S. Continuous beds for microchromatography: reversed-phase chromatography //Analytical biochemistry. – 1996. – Т. 234. – №. 1. – С. 27-30.

¹⁴² Liao, J. L., Zeng, C. M., Palm, A., & Hjerten, S. Continuous beds for microchromatography: detection of proteins by a blotting membrane technique //Analytical biochemistry. – 1996. – Т. 241. – №. 2. – С. 195-198.

¹⁴³ Li, Y. M., Liao, J. L., Zhang, R., Henriksson, H., & Hjerten, S. Continuous beds for microchromatography: chromatofocusing and anion exchange chromatography //Analytical biochemistry. – 1999. – Т. 267. – №. 1. – С. 121-124.

¹⁴⁴ Xu-Wei C., Jiao J., Jian-Hua W. Determination of proteins in a mesofluidic Lab-on-Valve system // Chinese Journal of Analytical Chemistry. – 2008. – Т. 36. – №. 12. – С. 1601-1605.



Рис. 4: Микровинт с нониусом точной подстройки длины волны.



Рис. 5: Фиксатор для штатива.

¹⁴⁵ Miro M., Oliveira H. M., Segundo M. A. Analytical potential of mesofluidic lab-on-a-valve as a front end to column-separation systems // TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2011. – Т. 30. – №. 1. – С. 153-164.

¹⁴⁶ Kreis K., Ryu S. Corn-in-chip: Mesofluidic Device for Corn Root //APS Meeting Abstracts. – 2015 –Scan Copy.

¹⁴⁷ Nowak, P., Kosińska, J., Glinka, M., & Kamiński, M. The Thin-Layer Microchromatography (μ TLC) and TLC-FID Technique as a New Methodology in the Study of Lubricating Oils //Journal of AOAC International. – 2017. – Т. 100. – №. 4. – С. 922-934.