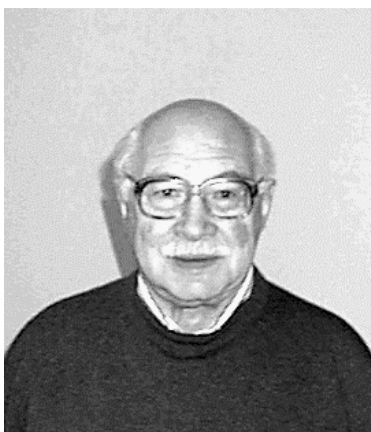


ЮБИЛЕИ

ПРОФЕССОРУ Б. Г. БЕЛЕНЬКОМУ — 75 ЛЕТ

12 мая 2001 г. исполнилось 75 лет профессору Борису Григорьевичу Беленькому. Редакция журнала "Научное приборостроение" с особым удовольствием помещает этот юбилейный материал о выдающемся ученом, несущем среди прочих обязанностей и груз члена редколлегии журнала. Сердечно поздравляем юбиляра и желаем ему новых творческих достижений, здоровья и благополучия.



Борис Григорьевич Беленький — специалист мирового уровня в области инструментальных методов разделения веществ.

Энциклопедичность знаний, неослабевающий интерес к научным исследованиям и практической реализации полученных

результатов, неиссякаемая работоспособность, ответственность, талант первоклассного исследователя позволили Борису Григорьевичу занять видное место в отечественной и мировой науке.

Пионер современных направлений в отечественной хроматографии, доктор химических наук, член Научного совета РАН по приборостроению, член трех диссертационных советов, редакционных советов нескольких отечественных и зарубежных журналов, кавалер ордена Трудового Красного Знамени, лауреат Государственной премии РФ "За разработку новых принципов регулирования селективности хроматографических систем и создание сорбционных материалов", Борис Григорьевич Беленький встречает свой юбилей в работе и новых творческих планах.

Примечателен и поучителен для молодых исследователей путь ученого в науку и в науке.

Б.Г. Беленький поступил в 1943 г. в Военно-морскую медицинскую академию, которую закончил в 1948 г. с дипломом по специальности военно-морского врача. С 1948 по 1957 г. молодой врач служил в медицинских учреждениях Ленинградской Военно-Морской базы и Северного флота. В 1954 г. награжден медалью "За боевые заслуги". Воинская служба научила будущего ученого терпению и мужеству, умению стойко переносить неудачи и удары судьбы.

Блестящей карьере офицера помешала любовь к химии. В 1950 г. Б.Г. Беленький закончил химический факультет Ленинградского государственного университета (заочно), в 1955 г. защитил кандидатскую диссертацию по органической химии. В 1957–1961 гг. он — старший научный сотрудник Ленинградского НИИ антибиотиков Минздрава РСФСР, а затем навсегда связал свою творческую жизнь с Российской академией наук.

В 1961 г. Б.Г. Беленький избран старшим научным сотрудником Института высокомолекулярных соединений АН СССР. Первые работы были посвящены газовой хроматографии. Исследования адсорбционных взаимодействий в газожидкостной хроматографии позволили получить (совместно с А.И. Русановым) наиболее общее выражение для объема удерживания, где наряду с распределительным эффектом учитываются адсорбционные эффекты на поверхностях раздела газ/жидкость и жидкость/твердое тело, а также особое поведение тонких пленок жидкой фазы (толщина менее 10 нм), связанное с возникновением расклинивающего давления за счет перекрывания поверхностных слоев жидкости. Это уравнение определяет объем удерживания в газожидкостной хроматографии во всем диапазоне толщин пленок жидкой фазы, тогда как уравнение Мартина—Келлера—Стюарта—Мартина не учитывает особого поведения тонких пленок и справедливо поэтому только для пленок толщиной больше 10 нм. Обобщенное уравнение, таким образом, позволило открыть новый, весьма существенный, фактор селективности — изменение толщины тонкой пленки.

Газовая хроматография лежит в основе анализа летучих органических соединений, но совершенно не подходит для анализа олигомеров, полимеров и, конечно же, биополимеров. Группа, а впоследствии лаборатория Б.Г. Беленького начала интенсивно заниматься тонкослойной хроматографией. Именно цикл работ по тонкослойной хроматографии принес Б.Г. Беленькому мировую известность. По мнению Дж. Киркланда, главного создателя высокоэффективной жидкостной хроматографии, работы Б.Г. Бе-

ленького по тонкослойной хроматографии олигомеров и полимеров являются пионерскими.

В этом цикле работ:

— Впервые показано, что тонкослойная хроматография позволяет решать задачи, казавшиеся для господствующего в 60-е гг. аналитического ультрацентрифугирования чисто умозрительными, такие как разделение полимеров различных типов неоднородности: молекулярно-массовой, композиционной, функциональной, геометрической, из-за присутствия примесей.

— Разработаны теоретические основы адсорбции макромолекул на пористых сорбентах. Было убедительно доказано, что адсорбция полимеров представляет собой не что иное, как фазовый переход первого рода между адсорбцией и эксклюзией макромолекул, что существенно упростило существовавшие физико-химические представления об этом интересном явлении. Предсказан эффект существования критической энергии этого фазового перехода; эксперимент показал правильность прогноза.

— Развита метод хроматографических "невидимок", который лег в основу "критической" хроматографии полимеров. Эти исследования существенно расширили арсенал методов анализа полимеров. Было доказано, что именно полидисперсность играет важнейшую роль в технологии и практическом использовании полимеров.

— Разработана динамическая теория тонкослойной хроматографии, что позволило оптимизировать этот метод разделения молекул.

— Создан новый метод анализа — микротонкослойная хроматография (в настоящее время метод называется "высокоэффективная тонкослойная хроматография"). Этот вариант хроматографии, использующий специально разработанные и выпускаемые промышленностью хроматографические пластинки многоцветного применения и микроденситометр (сканер), в 70-е и 80-е гг. являлся основным аналитическим методом в более чем 5000 лабораторий Минздрава, Госэпиднадзора, Министерства сельского хозяйства, криминалистических отделов силовых министерств, во многих научно-исследовательских и учебных институтах.

— Предложены несколько десятков практических методик по скоростному высокочувствительному определению липидов, углеводов, аминокислот и их производных на основе использования пластинок для высокоэффективной тонкослойной хроматографии. Эти работы стали методической базой исследования первичной структуры биополимеров.

Не прекращая работы в Институте высокомолекулярных соединений, Б.Г. Беленький уже в начале 60-х гг. начал сотрудничество с созданным в 1959 г. СКБ аналитического приборостроения (СКБ АП), впоследствии Научно-техническим объединением (НТО) АН СССР.

Созданию первого отечественного жидкостного хроматографа — автоматического анализатора аминокислот "ХЖ-1301" — предшествовало проведенное группой Б.Г. Беленького математическое моделирование и математическое планирование эксперимента путем совместного рассмотрения динамики хроматографии, ионообменных равновесий и послеклоночного детектирования. В дальнейшем под руководством Б.Г. Беленького СКБ АП разработало первый отечественный высокоэффективный жидкостной хроматограф широкого назначения "ХЖ-1304". Эти хроматографы не уступали по техническим характеристикам лучшим зарубежным аналогам.

Личный вклад Б.Г. Беленького особенно значителен в создании гель-хроматографии и гель-хроматографа "ХЖ-1302" — одного из первых в Европе. Была создана приборно-методическая база этого метода: хроматографы, сорбенты, компьютерные программы интерпретации хроматографических кривых непосредственно в молекулярно-массовые распределения полимеров. Борису Григорьевичу принадлежит заслуга в создании универсальной калибровки высокомолекулярных соединений. Естественным следствием стало применение эксклюзионной хроматографии в анализе полиолефинов (с одновременным определением степени разветвленности), полиэлектролитов, блок-сополимеров, гигантских и ассоциирующих макромолекул, мицелл. Эти анализы внедрены на нескольких заводах синтетического каучука и полиимидов, во многих НИИ нашей страны.

Вслед за "ХЖ-1302" были созданы высокотемпературный гель-хроматограф "ХЖ-1303", микрогель-хроматограф "ХЖ-1309". Эффективное использование теоретических и практических идей Б.Г. Беленького позволило западногерманской фирме Кнауэр стать ведущим в Европе производителем гель-хроматографов; немалый доход от продажи авторского свидетельства получил и Советский Союз. Другим бесспорным фактом международного признания стало введение Б.Г. Беленького в 1976 г. в состав редколлегии *Journal of Chromatography* (серия B: Biomedical Sciences and Applications). В том же 1976 г. Б.Г. Беленький защитил докторскую диссертацию по хроматографии синтетических и биологических полимеров.

Постепенно интересы Б.Г. Беленького все больше смещались от органической химии к биохимии и молекулярной биологии, что было связано с тем, что хроматографический анализ синтетических полимеров приближался к совершенству, тогда как в биологии и медицине остро ощущалась потребность в более эффективном, более скоростном, более чувствительном и более экономичном методе разделения по сравнению с классической высокоэффективной жидкостной хроматографией на колонках с внутренним диаметром 4–5 мм.

Б.Г. Беленький показал, что прекрасной альтернативой может стать капиллярная (микроколоночная) жидкостная хроматография. Им была выдвинута и обоснована идея, что, поскольку капиллярная хроматография является диффузионно-зависимым методом, а уменьшение диаметра колонки ограничено снизу объемом экстраколоночных систем хроматографа, то для резкого увеличения скорости анализа необходимо значительно уменьшить внутренний диаметр колонки. Дополнительным преимуществом перехода к микроколонкам является уменьшение расхода сорбентов и элюента, количества пробы. Вывод — именно капиллярная хроматография является высокоэкономичным экспрессным методом ультрачувствительного анализа.

Для практической реализации преимуществ капиллярной хроматографии потребовалась оптимизация гидравлической системы хроматографа путем термостатирования и нормализации объема камеры микрошприцевого насоса с учетом коэффициентов сжимаемости и термического расширения элюента, обеспечением заданной точности определения объема удерживания, что и было сделано группой Б.Г. Беленького. Естественным следствием разработки приборно-методической базы капиллярной жидкостной хроматографии стала разработка двух уникальных микроколоночных хроматографов. Уникальность "ХЖ-1309" заключается в том, что это — единственный в мире гель-хроматограф, в котором разделение производится на колонках с внутренним диаметром меньше миллиметра. Использование микроколонок для определения молекулярно-массового распределения синтетических или природных полимеров имеет два преимущества перед гель-хроматографией на стандартных колонках. Во-первых, уменьшение внутреннего диаметра колонки в 10 раз означает сокращение расхода элюента в 100 раз, что весьма существенно при использовании дорогостоящих или токсичных элюентов. Во-вторых, для решения некоторых биологических задач и подавляющего большинства криминалистических задач (например, идентификация синтетических волокон или нитроцеллюлозных порохов) возможность анализа сверхмалого количества вводимой пробы является главным критерием пригодности приборов.

В комплект микроколоночного хроматографа "ХЖ-1311" входят лазер-индуцированный флуоресцентный детектор и амперометрический детектор, а также набор микроколонок. "ХЖ-1311" особенно эффективен для суперчувствительного анализа флуоресцирующих производных аминокислот, катехоламинов, миоглобина и изоэнзимов лактатдегидрогеназы — биохимических маркеров инфаркта миокарда, других маркерных биологически активных веществ в физиологических жидко-

стях. Была решена задача микрохроматографического определения гликозил-гемоглобина, что позволило диагностировать степень тяжести диабета. Впоследствии капиллярная жидкостная хроматография была успешно применена для разделения смеси фуллеренов и их производных, гуминовых кислот.

Накопленный потенциал в разработке высокочувствительных детекторов для микроколоночной жидкостной хроматографии позволил Б.Г. Беленькому перейти от капиллярной хроматографии к еще более эффективному методу разделения — капиллярному электрофорезу. Поскольку профиль скоростей заряженных частиц под действием электрического поля практически плоский по всему сечению разделительного капилляра, метод высокоэффективного капиллярного электрофореза позволяет добиваться эффективности разделения в несколько миллионов теоретических тарелок на метр капилляра. Главным применением электрофореза является анализ нуклеиновых кислот.

В 1989 г. Борис Григорьевич полностью переходит на работу в Институт аналитического приборостроения НТО АН СССР, чтобы основать новую лабораторию. С первых лет существования новой лаборатории ее главной целью было создание ДНК-сиквенатора нового поколения на основе высокоэффективного капиллярного электрофореза. Для этой цели потребовалось решение очень большого числа приборостроительных и методических задач. Несмотря на обвальное сокращение финансирования в стране всех видов научных исследований, задача создания прибора высокоэффективного капиллярного электрофореза была успешно выполнена. Разработан комплекс приборов "Нанофор" -01, -02, -03. Из множества решенных проблем следует, прежде всего, выделить проблему увеличения чувствительности спектрофотометрического детектора до мирового уровня — этого камня преткновения отечественного приборостроения (поскольку внутренний диаметр кварцевого капилляра для электрофореза в 10 раз меньше по сравнению с капиллярами для жидкостной хроматографии, амплитуда короткопериодного шума спектрофотометрического детектора должна быть также в 10 раз меньше).

На следующем этапе были проведены многочисленные эксперименты с лазер-индуцированными флуоресцентными детекторами (луч лазера идеально сочетается по размерам с гибким кварцевым капилляром), которые привели к созданию абсолютного (одномолекулярного) по чувствительности лазер-индуцированного флуоресцентного детектора с возбуждением в ближней ИК-области спектра с помощью полупроводникового диодного лазера, который не возбуждает флуоресценции оптических сред и примесей в растворителях. Такой детектор предназначен в первую очередь для анализа ДНК. Наряду с этим в

90-е гг. были разработаны методики применения высокоэффективного капиллярного электрофореза для экологического мониторинга (анализ полинитросоединений — взрывчатых веществ, неорганических ионов в воде).

Недостатком капиллярного электрофореза по сравнению с жидкостной хроматографией является ограниченная возможность фракционирования — существенный недостаток для анализа белков. Оптимизация градиентной хроматографии биополимеров привела к созданию высокоэффективной мембранной хроматографии. Здесь Б.Г. Беленький обнаружил оптимум разрешения в "критической" точке колонки, после которой дополнительного разделения компонентов анализа не происходит, а разрешение падает. "Критическая" длина колонки сильно зависит от молекулярной массы анализа и для протеинов составляет несколько миллиметров. Отсюда — прямой путь к переходу от колоночной к высокоэффективной мембранной хроматографии, которая за счет работы при пониженном давлении обеспечивает экономию энергии, сорбента и растворителей. В лаборатории Б.Г. Беленького были синтезированы специальные сорбирующие мембраны и оптимизированы методики работы. Метод и мембраны запатентованы в США и других странах, лицензированы за рубежом. Высокоэффективная мембранная хроматография — это аналитическая и особенно препаративная высокоэффективная жидкостная хроматография при низком давлении, техника XXI века.

В настоящее время главной областью научных интересов Бориса Григорьевича является фракционирование фрагментов ДНК, создание многоканального метода определения последовательности нуклеотидов этой гигантской молекулы. Для расшифровки человеческого генома, состоящего из 3.12 миллиардов нуклеотидных пар, интенсивно разрабатывается аппаратура нового поколения, позволяющая значительно увеличить скорость анализа. Все существующие методы основаны на гель-электрофорезе. Электрофоретическое фракционирование фрагментов ДНК, различающихся молекулярной массой (длиной), основано на свойстве макромолекулы ДНК растягиваться под действием электрического поля в полимерном геле по всей своей длине. Вместе с тем существуют различные варианты гель-электрофореза. Б.Г. Беленький выбрал наиболее современный (возник во второй половине 90-х гг.) вариант электрофореза — микрофлюидные аналитические системы, представляющие собой чип-реализацию капиллярного электрофореза. Главными достоинствами микрофлюидных аналитических систем, определяющими их высокий аналитический потенциал, являются:

— Универсальные аналитические возможности высокоэффективного капиллярного электрофореза.

— Технология биоузнавания (ДНК-гибридизация, иммунное связывание, биосенсоры).

— Возможность интеграции многих аналитических компонентов и их дублирование (многоканальные системы) в одном чипе.

— Сверхэффективность, скоростной суперпроизводительный анализ, в т.ч. сиквенирование и генотипирование ДНК (десятки тысяч проб в сутки).

— Возможность использования микрофлюидных аналитических систем для задач, далеких от изучения биополимеров, например для многоканального мониторинга окружающей среды.

— Безнасосная подача реагентов и ввод пробы за счет электроосмоса.

— Возможность построения бесканальных микрофлюидных аналитических систем на основе новейших достижений химии поверхности.

— Масштабирование по сложности: от одноканального до 100-канального чип-электрофореза (для сверхпроизводительного генотипирования и сиквенирования ДНК) и лабораторий на чипе (с полимеразно-цепными реакторами).

— Возможность создания микрофлюидных аналитических систем одноразового пользования.

— Беспрецедентные возможности усовершенствования иммуноанализа за счет комбинирования микрофлюидной аналитической системы и лазер-индуцированного флуоресцентного детектора. Такая реализация капиллярного иммуноэлектрофореза позволяет детектировать одномолекулярную иммунореакцию, повысить производительность иммуноанализа до сотен тысяч определений в сутки.

Эти свойства обеспечиваются:

— Сверхвысокой (зепта-аттомольной) чувствительностью детектирования с использованием лазер-индуцированной флуоресценции. Особо эффективно применение лазер-индуцированной флуоресценции в ближней ИК-области спектра за счет отсутствия возбуждения флуоресценции оптических сред, примесей в растворителях, низкой стоимости полупроводниковых лазеров.

— Заимствованными из микроэлектроники автоматизированными технологиями разработки и изготовления микрофлюидных аналитических систем (компьютерное проектирование, фотолитография, глубокая рентгеновская литография, высокоэффективные технологии изготовления пластиковых чипов), удешевляющими и ускоряющими разработку и изготовление чипов, обеспечивающими низкую стоимость их эксплуатации.

Неограниченное масштабирование производства на единой технологической основе обеспечивает быстрый переход от разработок к массовому выпуску микрофлюидных аналитических систем.

Б.Г. Беленький является создателем научной школы, из которой вышли три доктора наук и двадцать кандидатов наук.

Материал поступил в редакцию 06.04.2001.