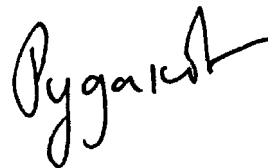


*На правах рукописи*



**РУДАКОВ**  
**Олег Борисович**

**ЭКСПЕРТНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ЖИДКОСТНОЙ  
ХРОМАТОГРАФИИ: ПРИНЦИПЫ ПОСТРОЕНИЯ  
И ПРИМЕНЕНИЕ В ХИМИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ**

Специальность 02.00.02 - аналитическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора химических наук

Воронеж - 2004 г.

Работа выполнена на кафедре органической химии  
факультета экологии и химической технологии  
Воронежской государственной технологической академии

Научный консультант: доктор химических наук, профессор  
**Селеменев Владимир Федорович**

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор  
**Шпигун Олег Алексеевич**

доктор химических наук, профессор  
**Яшин Яков Иванович**

доктор химических наук, профессор  
**Шапошник Владимир Алексеевич**

Ведущая организация: **Институт геохимии и аналитической  
химии им. В.И. Вернадского РАН  
(г. Москва)**

Защита состоится «22» октября 2004 г. в 15.00 на заседании  
диссертационного совета Д 212.038.19 при Воронежском государст-  
венном университете по адресу: 394693, Воронеж, Университетская  
пл. 1, ауд. 243.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Воро-  
нежского государственного университета.

Автореферат разослан «09» сентября 2004 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Крысин М.Ю.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Жидкостная хроматография (ЖХ) получила широкое применение в аналитической, органической химии, биотехнологии, биохимии, медицине, микробиологии, фармацевтике, экологии. Благодаря неограниченной возможности варьировать состав подвижной фазы (ПФ) и тип сорбента, а также благодаря техническому прогрессу в аппаратном оснащении и компьютеризации эффективность методов ЖХ в решении аналитических, технологических задач чрезвычайно высока. В связи с высоким уровнем развития методов ЖХ, в первую очередь, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), происходит замена в системе ГОСТ устаревших методик выполнения измерений состава или качества важнейших аналитов на методики, основанные на применении ВЭЖХ. Эти методики сочетают в себе преимущества хроматографического разделения со спектрофотометрическим или иным способом детектирования разделенных компонентов. Однако, несмотря на множество преимуществ, метод ВЭЖХ отличается сложной дорогостоящей аппаратурой, высокой себестоимостью единичного анализа. Хроматографические колонки предъявляют ряд жестких требований к вводимой пробе, к ПФ. Чтобы сократить «холостое» время эксплуатации хроматографа, уменьшить расходы и трудозатраты на разработку методик, в последние годы активно разрабатываются экспертные системы, позволяющие по установленным закономерностям, с минимальным предварительным экспериментом находить подходящие условия хроматографирования аналитов. Для адаптации стандартной методики к конкретной системе также всегда требуется какое-то количество подгоночных экспериментов, уточняющих в первую очередь состав и расход ПФ. Для минимизации этой процедуры необходимо разработать правила, исходя из установленных закономерностей.

РОС. НАЦИОНАЛЬНАЯ  
БИБЛИОТЕКА  
С.Петербург  
ОЭ 2004/акб76

Актуальной проблемой является оценка качества хроматографической методики, предназначенной для массовых анализов. Совершенство методики определяется большим числом факторов (время анализа, материальные затраты, трудоемкость, техника безопасности лабораторных работ, совместимость пробы, элюента и колонки с техническими характеристиками аппаратуры, и т.д.). Необходимо разработать алгоритм экспертной оценки и процедуру оптимизации технико-эксплуатационных характеристик методики.

В связи со сложностью механизмов удерживания теория ЖХ еще недостаточно глубоко проработана, известные модели удерживания дают удовлетворительный прогноз в узких областях состава ПФ, отсутствуют феноменологические модели, описывающие хроматографические свойства многокомпонентных ПФ в широком интервале соотношений концентраций разбавителя и модификаторов. Мало изучены свойства хроматографических систем в условиях с низкой селективностью разделения, что не позволяет построить более точные модели удерживания в типовых условиях ЖХ. Не достаточно изучено хроматографическое поведение неионогенных полифункциональных органических соединений с высокой гидрофобностью. Изучение их удерживания представляет не только утилитарный интерес, но и позволяет найти закономерности удерживания от структуры сорбата в более широком диапазоне варьирования гидрофобно-гидрофильного баланса. Проблемными остаются качественные и количественные характеристики полярности сорбатов, ПФ из индивидуальных и смешанных растворителей, неподвижной фазы (НФ) на основе силикагеля с привитыми группами. Все известные шкалы полярности компонентов хроматографической системы не лишены недостатков. Это мешает сопоставлять хроматографическое поведение аналитов в ПФ и НФ различного химического состава и строения.

Злободневной проблемой, вызвавшей, в частности, развитие аналитической ВЭЖХ, является фальсификация, многокомпонентных натуральных и синтетических смесей аналитов в фармацевтической, парфюмерной и пищевой промышленности. Поэтому актуальной является разработка, принципов и методов идентификации многокомпонентных смесей вариативного состава.

В работе обобщены результаты исследований, выполненных автором на Кафедре органической химии и в Лаборатории инструментальных методов пищевой химии Воронежской государственной технологической академии в соответствии с планами НИР ВГТА, с Координационным планом Научного совета РАН по адсорбции и хроматографии на 2000-2004 г. (код 2.15.7.2., раздел «Синтез и исследование свойств полимерных сорбентов и носителей для хроматографии», тема «Разработка экспертной системы поиска оптимальной бинарной подвижной фазы при хроматографическом разделении пищевых и физиологически активных веществ»). Часть работы выполнена в рамках гранта Министерства образования РФ по теме «Исследование закономерностей влияния содержания токсикантов в объектах производственной деятельности на окружающую природную среду», раздел «Разработка и реализация экспресс-тестов при анализе содержания токсикантов в объектах производственной деятельности» (код 87.15.03).

**Цель исследования** - разработка принципов построения экспертной системы для оценки аналитических и технико-эксплуатационных характеристик жидкостнохроматографических методик химического анализа и принципов проверки аутентичности многокомпонентных продуктов с вариативным составом по хроматографическим данным.

Достижение поставленной цели включало решение **следующих задач**:

установление и систематизация общих закономерностей изменения хроматографических свойств типичных бинарных ПФ для нормально-

и обращенно-фазовой ВЭЖХ (плотности, вязкости, УФ-поглощения, показателя преломления, диэлектрической проницаемости, элюирующей способности, температуры кипения) при изменении объемной доли модификатора от 0 до 1 и разработка на их основе процедуры оптимизации условий хроматографирования, учитывающей свойства ПФ, анализа, сорбента, детектора и технико-эксплуатационных характеристик хроматографической системы;

установление общих закономерностей хроматографического поведения полифункциональных аналитов в типовых условиях ВЭЖХ, нахождение эмпирических зависимостей параметров удерживания от химического строения аналита (гидрофобно-гидрофильного баланса) и от полярности ПФ (качественного и количественного состава);

экспериментальное определение параметров удерживания серии полифункциональных аналитов (фенолов, цветообразующих компонентов, каротиноидов и антоциановых красителей, фосфолипидов, гликозидов) в различных вариантах ЖХ и оптимизация селективности разделения;

разработка феноменологических моделей удерживания «гидрофобность сорбата - объем (фактор) удерживания», «объем (фактор) удерживания - полярность (объем модификатора) элюента» и оптимизация эмпирических коэффициентов в полученных уравнениях;

формирование базы данных по оптимальным условиям хроматографирования важнейших аналитов в типичных вариантах ЖХ;

формирование базы данных по физико-химическим и технико-эксплуатационным свойствам индивидуальных и бинарных растворителей, применяемых в типовых ПФ;

определение для смешанных растворителей функциональных зависимостей, адекватно описывающих экспериментальные изотермы и изобары «свойство - состав», включающих свойства исходных чистых растворителей;

анализ корреляций между различными физико-химическими характеристиками растворителей, которые применяются в оценке полярности растворителей, разработка на их основе многопараметрических обобщенных критериев полярности, испытание их в качестве меры элюирующей способности в нормально- и обращенно-фазовой ЖХ;

разработка прототипа экспертной системы, решающей задачу определения оптимальных технико-эксплуатационных характеристик и статистически обоснованной количественной оценки качества методик ЖХ с применением обобщенных многофакторных критериев и обобщенных целевых функций, учитывающих весомость и вектор влияния нескольких факторов;

разработка и экспериментальная проверка критериев идентификации многокомпонентных смесей с вариативным составом по хроматографическим данным.

#### **Научная новизна работы:**

Впервые изучены особенности хроматографического поведения в условиях нормально- и обращенно-фазовой ВЭЖХ ряда полифункциональных высокогидрофобных соединений - цветообразующих компонентов фотоматериалов, светостабилизаторов и антиоксидантов, полупродуктов и компонентов фармацевтических препаратов.

Установлены количественные корреляции между критериями гидрофобности полифункциональных органических соединений и параметрами их удерживания в широком диапазоне составов ПФ в условиях нормально- и обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Найдены феноменологические зависимости между параметрами удерживания сорбатов различного строения и полярностью ПФ в условиях нормально- и обращенно-фазовой хроматографии (НФХ и ОФХ). Обоснован физический смысл констант, входящих в эти зависимости.

Впервые установлено и доказано хроматографическое разделение енольных и кетонных форм пространственно затрудненных  $\beta$ -дикарбонильных соединений, изучено влияние условий ЖХ (полярности ПФ и НФ, скорости потока, наличия катализаторов) на кето-енольное равновесие.

Выведены полуэмпирические уравнения, адекватно описывающие экспериментальные изотермы «плотность - объемная доля модификатора», «диэлектрическая проницаемость - объемная доля модификатора», «оптическая плотность - объемная доля модификатора», «показатель преломления - объемная доля модификатора», «вязкость - объемная доля модификатора», «элюирующая сила - объемная доля модификатора» для серии типичных бинарных подвижных фаз для нормально- и обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Выведено полуэмпирическое уравнение, адекватно описывающее изобары «температура кипения - объемная доля модификатора» для типичных бинарных подвижных фаз, применяемых в нормально- и обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Впервые найдены три полиазеотропные системы, в которых наблюдается корреляция между суммарной полярностью бинарного растворителя и объемной долей модификатора в азеотропной бинарной смеси.

Разработаны обобщенные критерии полярности растворителей, линейно коррелирующие с элюирующей способностью растворителей на разных сорбентах во всем диапазоне полярности в широкой выборке растворителей от алканов до воды. С учетом экспериментальных данных по элюирующей силе установлены оптимальные весовые коэффициенты парциальных полярностей обобщенного критерия для ЖХ на силикагеле, оксиде алюминия, силикагеле, модифицированном октадецильными группами и на активированном угле. Показано, что на сорбентах, отличающихся



ся химической природой, вклад различных парциальных полярностей в элюирующую способность может существенно различаться.

Впервые предложены количественные критерии полярности НФ, основанные на упрощенном критерии гидрофобности Шатца и на расчетных величинах логарифма распределения в системе октан-1-ол - вода для модельных соединений, имеющих функциональные группы, характерные для поверхности сорбента.

Разработаны алгоритмы выбора оптимальных растворителей и ПФ для конкретных аналитических задач с помощью обобщенных критериев и обобщенных целевых функций. Показано, что обобщенные критерии и обобщенные целевые функции могут применяться в экспертных системах для оценки качества хроматографической методики. Разработан прототип не имеющей мировых аналогов экспертной системы по количественной оценке технико-эксплуатационных характеристик методик с применением ЖХ.

Разработаны принципы идентификации продуктов, представляющих собой многокомпонентные смеси с вариативным составом, содержащие примеси или фальсифицирующие добавки такого же качественного состава, что и основной продукт.

Установлено, что такие ионогенные гидрофобные соединения, как фосфолипиды, существуют в водных растворах в интервале  $pH=2-14$  в нескольких ионных формах (от 2-х до 4-х), которые обладают разными физико-химическими характеристиками.

Теоретически обоснованы и экспериментально оптимизированы методы разделения фосфолипидов с помощью ЖХ на сорбенте из сверхсшитого полистирола и методом высоковольтного электрофореза.

Результаты исследований являются вкладом в развитие научного направления: метод жидкостной хроматографии в анализе полифункциональных органических соединений.

**Практическая значимость:**

Разработан комплекс методик определения качества пурпурных, голубых и желтых цветообразующих компонентов фотоматериалов с использованием метода ВЭЖХ.

Разработаны экспресс-методики идентификации жирорастворимых и водорастворимых натуральных красителей, углеводсодержащих соединений с использованием метода ВЭЖХ, которые включены в способы получения и применения этих соединений.

Разработаны методики определения фенолов, антиоксидантов и светостабилизаторов фенольного типа в присутствии низкомолекулярных фенолов с использованием метода микроколоночной нормально- и обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Разработан способ хроматографического разделения фосфолипидов на неионогенном сорбенте из сверхсшитого полистирола.

Разработаны методики разделения фосфолипидов методом ТСХ и высоковольтного электрофореза на бумаге.

Предложен принцип подбора азеотропных ПФ с заданной элюирующей силой, дающий возможность применять в рутинных методиках ВЭЖХ легко регенерируемые элюенты, что существенно уменьшает материальные затраты на единичный анализ.

Разработанные критерии полярности ПФ позволяют сопоставлять хроматографические данные, полученные с использованием ПФ из растворителей разной природы, количественно сравнивать их элюирующую силу, находить изоэлюотропные составы, по которым можно подбирать альтернативные элюенты.

Разработаны принципы построения экспертной системы для ЖХ и в оболочке типового электронного процессора Microsoft Excel создан прототип экспертной системы, которая в рамках заданных граничных условий

по обобщенным критериям и обобщенным целевым функциям находят оптимальные решения при выборе вариантов и условий ВЭЖХ.

Разработаны способы установления грубой фальсификации многокомпонентных анализов по хроматографическим данным. Предложены контрольные карты, визуализирующие многокритериальные идентификационные зоны, ускоряющие и облегчающие процедуру идентификации многокомпонентных смесей.

Приоритет и новизна выполненных исследований подтверждены 7 патентами на изобретения РФ.

Разработанные методики химического анализа, алгоритмы экспертизы качества методик, идентификации многокомпонентных смесей апробированы на предприятиях, получены положительные отзывы и оформлены акты внедрения в ЗАО НПКФ «Аквилон», научно-техническом центре ОАО «Алтайхимпром», ОАО «Воронежский молочный комбинат», ЗАО «Инновационные системы ОКБМ», ООО «Целит», разработанная методика контроля качества эвгенола методом ВЭЖХ включена в ТУ 9391-027-10614163-2002 «Жидкость на основе эвгенола для приготовления стоматологической цинкоксид-эвгенольной пасты «Целит-эвгенол».

**Методический аспект.** Результаты исследования отражены в лекционных курсах и лабораторном практикуме по дисциплинам «Химический состав, свойства и контроль качества продуктов», «Методы и средства анализа пищевого сырья и продуктов растительного и животного происхождения» для специальности «Метрология и сертификация». В выполнении отдельных направлений диссертационной работы принимали участие магистры ВГУ Железная Т.А., Карпов СИ., аспиранты ВГТА Железной С.А., Комарова Е.В.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

Обоснование нового подхода к поиску оптимальных решений при выборе условий ЖХ, состоящего в аналитическом решении системы урав-

нений, определяющих частные и обобщенные целевые функции, характеризующие хроматографическую систему «сорбат - элюент - сорбент», принципы построения и прототип экспертной системы для жидкостной хроматографии.

Общие закономерности удерживания 70 полифункциональных органических соединений с различной гидрофобностью в различных хроматографических системах «сорбат - элюент - сорбент» (всего 350 систем), в том числе с использованием 24 марок сорбентов, 4 растворителей, используемых в качестве разбавителей подвижной фазы и И растворителей-модификаторов.

Способы решения задач качественного, количественного химического анализа, идентификации и обнаружения фальсификации, хроматографического разделения и выделения индивидуальных компонентов многокомпонентной смеси.

Способы оценки элюирующей силы индивидуальных и смешанных растворителей с использованием обобщенных критериев.

Способ оценки полярности сорбента с использованием расчетных величин логарифма распределения в системе октан-1-ол — вода для модельных соединений, имеющих функциональные группы, характерные для поверхности сорбента.

Апробация работы. Основные положения и результаты диссертационной работы доложены на следующих конференциях:

XXXIV-XLII ежегодные внутривузовские научные конференции ВГТА (г. Воронеж, 1994-2004);

*Региональные:* III, VI, VIII и IX конференции "Проблемы химии и химической технологии" (г. Воронеж 1995, 1998,2000; г.Тамбов, 2001);

*Всесоюзные и Всероссийские:* VII Всесоюз. конференция по химии дикарбонильных соединений, Рига, 1991; Всерос. конференция "Физико-химические основы пищевых и химических производств", г. Воронеж,

1996; Всерос. конференция «Агроэкология и устойчивое развитие общества», г. Красноярск, 1998; Всерос. симпозиум по теории и практике хроматографии и электрофореза, Москва, 1998; Всерос. симпозиум по химии поверхности, адсорбции и хроматографии, Москва, 1999; Всерос. конференция "Интеграция науки, производства и образования: состояние и перспективы", г. Юрга, 1999; Всерос. конференция "Химический анализ веществ и материалов", Москва, 2000; I Всерос. конференция «Теория конфликтов и ее приложения», г. Воронеж, 2000; Всерос. конференция «Современные технологические процессы получения материалов и изделий из древесины», г. Воронеж, 2001; Всерос. симпозиум «Современные проблемы хроматографии», Москва, 2002; I и II Всерос. конференция «Физико-химические процессы в конденсированном состоянии и на межфазных границах. Фагран 2002, Фагран 2004», г. Воронеж, 2002, 2004; Всерос. конференция «Проблемы теоретической и экспериментальной химии», г. Екатеринбург, 2002; Всерос. конференция «Масло. Сыр. Состояние, проблемы, перспективы развития», г. Углич, 2003; Национальный конгресс «Человек и лекарство», Москва, 2003; Всерос. конференция «Хроматография и хроматографические приборы», Москва, 2004.

*Международные:* I, II, III, IV и V Междунар. симпозиумы «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их практического использования» г. Пушкино, 1995, 1997, 1999, 2001, 2003; Междунар. конференция «Научно-технический прогресс в бродильных производствах», г. Воронеж 1997; Междунар. экологические чтения памяти К.К. Сент-Илера, г. Воронеж, 1998; III, IV Междунар. конференция «Интродукция нетрадиционных и редких сельскохозяйственных растений», г. Пенза, 2000, г. Ульяновск, 2002; Междунар. конференция «Современное состояние и перспективы развития теории адсорбции», Москва, 2001; Междунар. конференция «От фундаментальной науки к новым технологиям. Химия и биотехнология

биологически активных добавок», Москва, 2001; IX и X Междунар. конференции «Физико-химические основы ионообменных процессов (Иониты-2001, Иониты-2004)», г. Воронеж, 2001, 2004; I Междунар. конгресс «Биотехнология - состояние и перспективы развития», Москва, 2002; Междунар. форум «Аналитика и аналитики», г. Воронеж, 2003; 3rd Int. Symposium on Separation in BioSciences "100 Years of chromatography", Moscow, 2003; Междунар. конференция «Перспективы производства продуктов питания нового поколения», г. Омск, 2003; Международный научный семинар «100 лет хроматографии», г. Воронеж, 2003.

Личный вклад **автора**. Результаты, полученные в соавторстве и отраженные в диссертации, заключаются в теоретическом обосновании и постановке проблемы, разработке общих алгоритмов и подходов к исследованию закономерностей хроматографического поведения аналитов, в систематизации и анализе собственных и литературных данных. Все экспериментальные работы выполнены автором или под его руководством.

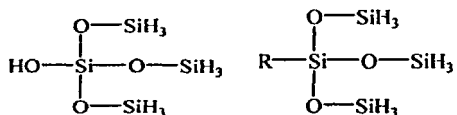
**Публикации.** По теме диссертации опубликованы 150 работ, в том числе 4 монографии, 65 статей в периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ для опубликования научных трудов, более 50 тезисов и материалов докладов на международных, всесоюзных, всероссийских конгрессах, симпозиумах и конференциях, получено 7 патентов на изобретения.

**Структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, 6 глав, списка цитируемой литературы из 412 источников, приложения. Материал работы изложен на 400 страницах, содержит 103 рисунка, 89 таблиц, титульные листы патентов, акты внедрения и отзывы.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**В Главе 1** (Хроматографические системы сорбат - элюент - сорбент) дан обзор современного состояния ЖХ, систематизирована информация о выборе условий ЖХ, исходя из хроматографических свойств ком-

понентов хроматографической системы (рис.1). В этой главе рассмотрена связь строения сорбата с полярностью, гидрофобностью и растворимостью, оптическими и рефракционными свойствами. Для оценки гидрофобно-гидрофильного баланса аналитов использовали упрощенный критерий Шатца и логарифмы коэффициента распределения веществ в системе октан-1-ол - вода (**H, logP**). Охарактеризованы сорбенты для адсорбционной, нормально-фазовой, обращенно-фазовой и эксклюзионной хроматографии. Для количественной оценки гидрофобных свойств немодифицированных и привитых сорбентов предложены найденные для модельных соединений с помощью квантовохимических расчетов по алгоритму BioByte величины  $\text{ClogP}$ . Ниже приведены структуры, использованные для расчетов  $\text{ClogP}$ .



Исходя из того, что индуктивные эффекты быстро затухают при их распространении по цепи, при расчете гидрофобности сорбента влиянием удаленных от поверхностной группы атомов матрицы силикагеля можно пренебречь. Если известны результаты эндкеппинга (степень покрытия поверхности привитыми группами и остаточная силанольная активность), их можно учесть, оценив гидрофобность сорбента по аддитивному уравнению

$$H_{\text{HФ}} = a_1 \text{ClogP}_{\text{OH}} + a_2 \text{ClogP}_{\text{R1}} + a_3 \text{ClogP}_{\text{R2}}, \quad (1)$$

где  $a_i$  – доля немодифицированной, эндкиппированной и привитой поверхности,  $\text{ClogP}_i$  - величины  $\text{ClogP}$  для соответствующих модельных соединений.

Проанализированы оптические свойства типовых растворителей, полярность и элюирующая сила, смешиваемость. Предложены обобщенные критерии полярности и элюирующей способности (рациональный и

редуктивный критерии, табл.1) для серии растворителей, охватывающие широкий диапазон полярных свойств от алканов до воды. В качестве парциальных параметров полярности использовали показатели, проверенные широкой хроматографической практикой: диэлектрическая проницаемость  $\epsilon_T$ , параметр полярности Снайдера  $P^*$ , параметр растворимости Гильденбранда  $\delta_T$  и сольватохромный параметр Димрота-Райхерта  $E_T(30)$ . Так, для 39 растворителей рациональный критерий определяли по (2):

$$P_i^0 = \Sigma[(P_i - P_{\min}) / (P_{\max} - P_{\min})] / 4, \quad (2)$$

где  $P_i^0$  - среднеарифметическое от 4-х нормализованных параметров для  $i$ -го растворителя,  $P_i$  - парциальный параметр,  $P_{\max}$  и  $P_{\min}$  - максимальное и минимальное значения  $P_i$  в данной выборке. Критерий  $P^0$  варьирует в диапазоне 0.012-1.0. При включении в шкалу большего числа растворителей, с максимально возможным разбросом величин полярности (42 растворителя от формамида до декана) оказалось, что в выборке нет ни одного растворителя, для которого все 4 параметра минимальны или максимальны, поэтому для  $P_i$ , полученных по (2), процедуру нормализации повторили. Для практического удобства максимальное значение критерия в расширенной шкале для воды приняли за 100, а минимальное значение для декана приравняли 0. Полученный критерий  $P_N$  назвали редуктивным (табл. 1), так как он сокращает число переменных, характеризующих полярность (в хемометрике эта процедура называется редукцией данных), являясь линейной комбинацией 4-х исходных переменных, применяемых в ЖХ. Редуктивный и рациональный критерии полярности растворителей имеют тесную линейную корреляцию между собой ( $P_N = 101.22P^0 - 0.28$ ,  $R = 0.9994$ ), и хорошие корреляции со всеми известными шкалами элюирующей силы, на силикагеле, оксиде алюминия, силикагеле, модифицированным группами  $C_{18}$  и активированном угле во всем диапазоне полярностей, более тесные, чем входящие в них парциальные критерии.



Преимущество обобщенных критериев  $P_N$  и  $P^0$  заключается в том, что они безразмерны, статистически усреднены, не имеют ярко выраженных специфически заниженных или завышенных для некоторых растворителей значений.

Таблица 1. Обобщенные кватернарные критерии полярности  $P^0$  и  $P_N$

Растворитель	$P^0$	$P_N$	Растворитель	$P^0$	$P_N$
Декан	0.003*	0.00	Октан-1-ол	0.288*	28.85
Изооктан	0.012	0.32	Бутан-2-он	0.322	29.03
Пентан	0.013	0.45	Пиридин	0.290*	29.04
Циклогексан	0.016	0.71	<i>трет</i> -Бутанол	0.292	29.12
Гексан	0.017	0.85	Пентан-1-ол	0.311*	31.25
Гептан	0.022	1.44	Бензонитрил	0.316*	31.72
Триэтиламин	0.067	6.24	Ацетон	0.356	32.18
Тетрахлорметан	0.076	7.29	Нитробензол	0.329*	33.00
Сероуглерод	0.084*	8.25	Бутан-1-ол	0.362	36.29
Диизопропиловый эфир	0.094	9.02	Пропан-2-ол	0.366	36.72
Диэтиловый эфир	0.120	11.73	CH <sub>3</sub> COOH	0.385	38.45
Толуол	0.133	12.07	Пропан-1-ол	0.434	39.09
Бензол	0.165	13.44	ДМФА	0.452	42.88
Хлорбензол	0.207	16.65	Этанол	0.436	43.97
Бромэтан	0.168*	16.72	Ацетонитрил	0.452	44.66
ТГФ	0.209	21.00	Нитрометан	0.472	46.72
1,4-Диоксан	0.214	21.71	ДМСО	0.481*	48.41
Этилацетат	0.214	21.84	Метанол	0.537	54.34
Хлороформ	0.227	22.00	Этиленгликоль	0.619	62.77
Метиленхлорид	0.245	23.04	Формаид	0.831*	83.83
Дихлорэтан	0.286	24.88	Вода	1.00	100.00

\* Примечание. Рассчитано по корреляции  $P_N=101.22P^0-0.28$ .

Разработанные шкалы хорошо согласуются с классификацией Снайдера, выделяющей 8 групп селективности (рис.2). Так, в выборках растворителей по трендам АВ, CD и EF наблюдаются наиболее тесные корреляции  $\varepsilon^\circ(\text{SiO}_2)=aP_N$ ,  $\varepsilon^\circ(\text{Al}_2\text{O}_3)=bP_N$ ,  $\varepsilon^\circ(\text{C}_{18})=a-bP_N$ .

Для уточнения измерений элюирующей силы в конкретных вариантах ЖХ предложено использовать обобщенные критерии полярности с оптимизированными весовыми коэффициентами:

$$P_s = \sum_{i=1}^m a_i (x_i^s / x_i^w), \quad (3)$$

где  $P_s$  - значение обобщенного критерия полярности для s-го варианта,  $a_i$  коэффициент веса i-го параметра,  $x_i^s$  – значение i-го параметра для s-го варианта,  $x_i^w$  - нормирующее значение для i-го параметра (значение для воды), m - количество параметров.

Найдено, что диэлектрической проницаемостью в условиях НФХ на силикагеле можно пренебречь. Для наиболее тесных кватернарных корреляций  $P_s=a+b\varepsilon^\circ(\text{SiO}_2)$  коэффициент веса  $\varepsilon_r$  составляет  $a_i=0.002$ . Поэтому для 60 растворителей получены тернарные критерии  $P_S$  (см. ур. (4), (5)). Для ОФХ лучшие корреляции с  $\varepsilon^\circ(\text{C}_{18})$ , дает кватернарный критерий (см. ур. (6)). Для ЖХ на углеводе достаточно применить бинарный критерий, из которого исключены по итогам компьютерной экспертизы параметры  $\delta_T$  и  $P'$  (см. ур. (7)).

$$P(\text{SiO}_2)=0.40(\delta_T/\delta_T^w)+0.35(E_T(30)/E_T(30)^w)+0.25(P'/P'^w), \quad (4)$$

$$P(\text{Al}_2\text{O}_3)=0.45(\delta_T/\delta_T^w)+0.15(E_T(30)/E_T(30)^w)+0.40(P'/P'^w), \quad (5)$$

$$P(\text{C}_{18})=0.77(\delta_T/\delta_T^w)+0.03(E_T(30)/E_T(30)^w)+0.14(P'/P'^w)+0.06(\varepsilon_r/\varepsilon_r^w), \quad (6)$$

$$P(\text{C})=0.30(E_T(30)/E_T(30)^w)+0.70(\varepsilon_r/\varepsilon_r^w) \quad (7)$$

Между критериями полярности и экспериментальными значениями элюирующей силы установлены следующие корреляции

$$P(\text{SiO}_2)=0.374\varepsilon^\circ(\text{SiO}_2)+0.291 \quad (R=0.9581, n=60), \quad (8)$$

$$P(\text{Al}_2\text{O}_3) = 0.530\varepsilon^\circ(\text{Al}_2\text{O}_3) + 0.214 \quad (R=0.9534, n=60), \quad (9)$$

$$P(\text{C}_{18}) = 0.978 - 0.112 \varepsilon^\circ(\text{C}_{18}) \quad (R=0.9250, n=10), \quad (10)$$

$$P(\text{C}) = 0.92 - 3.71\varepsilon^\circ(\text{C}) \quad (R=0.8379, n=11) \quad (11)$$

Таким образом, оптимизированные коэффициенты веса  $a$ , для разных вариантов ЖХ отличаются, что указывает на существенные различия в характере влияния полярности на механизмы удерживания в конкретных хроматографических системах.

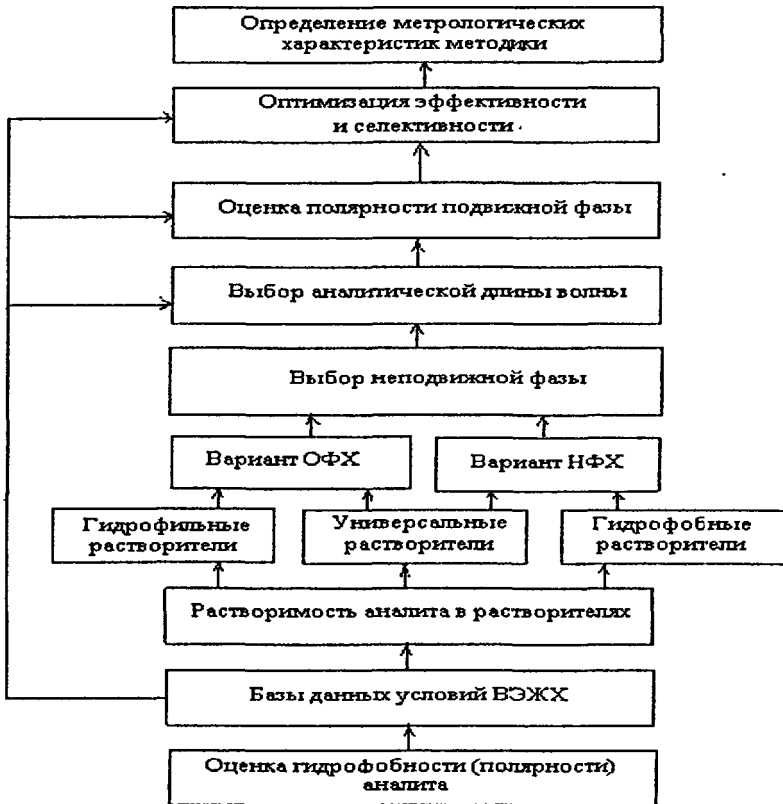
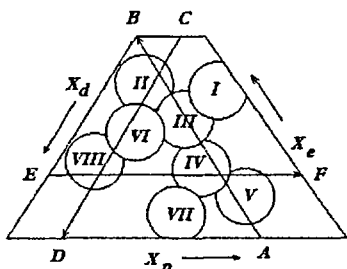


Рис. 1. Принципиальная схема выбора оптимального варианта, положенная в основу построения прототипа экспертной системы для нормально- и обращенно-фазовой ВЭЖХ, ключевыми признаками в которой являются полярность (гидрофобно-гидрофильный баланс) компонентов хроматографической системы



**Рис. 2.** Диаграмма распределения I-VIII групп селективности растворителей по Снайдеру.  $X_e$  – способность к протонодонорным,  $X_d$  – к протонакцепторным, а  $X_n$  – способность к диполь-дипольным взаимодействиям

**В Главе 2** (Объекты исследования и методика эксперимента) приведены характеристики аналитов: строение и некоторые свойства (критерии гидрофобности, аналитические длины волн, растворимость и др.), дано описание сорбентов, колонок, хроматографической аппаратуры, методик исследования, статистической обработки и аппроксимации экспериментальных данных. Выборка компонентов хроматографических систем охватывает основные варианты, применяемые в типовых исследовательских лабораториях. Измерения проводили на жидкостных хроматографах «Миличром-4», ЖХ-1307М, Цвет-3006 (РФ), LP-697 (Чехия), Waters Delta-prep 3000 (США). ГЖХ проводили на приборах «Цвет-500М», «Цвет-800» (РФ). Спектры регистрировали на приборах СФ-46 (РФ), Specord-M40 и Specord M80 (ФРГ). Спектры ПМР получали на спектрометре Брукер СХР-300 (ФРГ). Диэлектрическую проницаемость измеряли на диэлектрическом измерителе GK 68 (ФРГ). Вязкость определяли на вискозиметре Оствальда, показатель преломления измеряли рефрактометром ИРФ-454 (РФ). Электрофорез выполняли на приборе LFG (Венгрия). Статистическую обработку и аппроксимацию данных проводили с использованием программ SigmaPlot 2001, Microsoft Excel XP, Statistica V6.0, а химические расчеты – при помощи прикладных программ ChemOffice 2002, Hyperchem V7.01.

**В Главе 3** (Изотермы хроматографических свойств бинарных подвижных фаз) рассмотрено влияние объемной доли модификаторов  $\varphi_2$  для нормально- и обращенно-фазовых бинарных ПФ на плотность, оптиче-

скую плотность, предел прозрачности, показатель преломления, вязкость, диэлектрическую проницаемость и элюирующую силу, дана физико-химическая трактовка сходств и различий в характере изотерм для бинарных систем, основанная на природе межмолекулярных взаимодействий. Как правило, изотермы не линейны и неаддитивно зависят от  $\varphi_2$ . Так, объемные, оптические, рефракционные, диэлектрические СВОЙСТВА В большинстве случаев адекватно описываются модифицированными биномиальными кривыми (см. ур. (12)-(15),  $R > 0.99$ ), в отдельных случаях более точными являются полиномы типа (16). Для предела прозрачности в УФ-свете, вязкости и элюирующей силы в НФХ выявлены рациональные зависимости (19)-(21). Во всех выведенных зависимостях использованы исходные параметры чистого модификатора и разбавителя, что позволило уменьшить число эмпирических коэффициентов с неявным физическим смыслом (табл. 2). При  $\varphi_2 = 0$  зависимый параметр ПФ становится равен параметру для чистого разбавителя, а при  $\varphi_2 = 1$ , соответственно, параметру чистого модификатора. Оптимальные значения коэффициентов **A**, **B**,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $m$  ур. (12)-(22) найдены для наиболее типичных бинарных систем, пригодных для ЖХ (всего исследовано 189 изотерм). На рис. 3-13 приведены характерные изотермы. Для практического удобства в ур. (12)-(22) в качестве независимой переменной взяли объемные доли  $\varphi_2$ , в которых принято измерять концентрацию модификатора в аналитической ЖХ. Показано, что учет неаддитивности хроматографических свойств смешанных ПФ позволяет избежать критических режимов хроматографирования, повысить чувствительность детектирования и надежность хроматографической методики в целом, уменьшить риск возникновения неполадок оборудования и снизить стоимость анализа. Дальнейшее развитие и обоснование получил принцип изоэлюотропности многокомпонентных ПФ.

**Таблица 2.** Характерные изотермы хроматографических свойств и изобара  $T_{\text{кип}}$  для бинарных и псевдобинарных систем растворителей

Параметр ПФ	Уравнение
Плотность, г/см <sup>3</sup>	$\rho_{12} = \rho_1 + \beta \rho_1 \varphi_2 + (\rho_2 - \beta \rho_1 - \rho_1) \varphi_2^2$ (12)
Оптическая плотность	$A_{12} = A_1 + \beta A_1 \varphi_2 + (A_2 - \beta A_1 - A_1) \varphi_2^2$ (для НФХ) (13)
	$A_{12} = (A_2 - \beta) \varphi_2 - \beta \varphi_2^2$ (для ОФХ) (14)
Показатель преломления	$n_{12} = n_1 + \beta n_1 \varphi_2 + (n_2 - \beta n_1 - n_1) \varphi_2^2$ (15)
	$n_{12} = n_1 + \alpha n_1 \varphi_2 + (bn_2 - \alpha n_1 - n_1) \varphi_2^2 + (n_2 - bn_2) \varphi_2^3$ (16)
Диэлектрическая проницаемость	$\varepsilon_{12} = \varepsilon_1 + \beta \varepsilon_1 \varphi_2 + (\varepsilon_2 - \beta \varepsilon_1 - \varepsilon_1) \varphi_2^2$ (17)
	$\varepsilon_{123} = \varepsilon_1 + m \varepsilon_1 \varphi_3 + (\varepsilon_3 - m \varepsilon_2 - \varepsilon_1) \varphi_3^2$ (18) при условии $\varepsilon_1 \leq \varepsilon_2 < \varepsilon_3$
Предел прозрачности в УФ свете, нм	$\lambda^*_{12} = \{\lambda^*_1 + [\lambda^*_2(1+A+B) - \lambda^*_1] \varphi_2\} / (1+A\varphi_2+B\varphi_2^2)$ (19)
Вязкость, сп	$\eta_{12} = \{\eta_1 + [\eta_2(1+A+B) - \eta_1] \varphi_2\} / (1+A\varphi_2+B\varphi_2^2)$ (20)
Элюирующая сила в НФХ	$\varepsilon^o_{12} = \{\varepsilon^o_1 + [\varepsilon^o_2(1+A+B) - \varepsilon^o_1] \varphi_2\} / (1+A\varphi_2+B\varphi_2^2)$ (21)
	$\log \varepsilon^o_{12} = \log \varepsilon^o_{12} + A \log \varphi_2$ (22)
Температура кипения	$T_{12} = \{T_1 + [T_2(1+A+B) - T_1] \varphi_2\} / (1+A\varphi_2+B\varphi_2^2)$ (23)

В Главе 4 (Изобары температуры кипения бинарных элюентов. Азеотропные свойства) проанализированы азеотропные свойства 34 бинарных систем растворителей. Из используемых в ЖХ жидких смесей примерно три четверти образуют азеотропы. Применение азеотропных составов в качестве ПФ существенно уменьшает расходы в массовых анализах и в препаративной ВЭЖХ за счет простой перегонки элюата и многократного использования отгона в качестве ПФ. Для прогноза  $T_{\text{кип}}$  бинарной ПФ произвольного состава предложена рациональная функция (23), проходящая через три важнейшие экспериментальные точки:  $T_1$ ,  $T_2$  и  $T_A - T_{\text{кип}}$  разбавителя, модификатора и азеотропа. Сопоставление расчетных и экспериментальных  $T_{12}$  показывает, что ур. (23) в целом адекватно аппроксимируют изобары ( $R=0.999-0.910$ ) во всем диапазоне  $\varphi_2=0-1$ . С наибольшей точностью ур. (23) описывает изобары для систем вода - этанол, вода

- метанол, вода - уксусная кислота, этилацетат - метанол. Для систем гексан - хлороформ, бензол - метанол, вода - ацетонитрил ур. (23) точно аппроксимирует восходящую ветвь изобары, а в системах циклогексан - этилацетат, гексан - пропан-1-ол, хлороформ - метанол оно лучше описывает нисходящую ветвь изобары. Не смотря на наличие в этих случаях систематических отклонений на одной из ветвей изобары (рис. 14), ур. (23) может точно охарактеризовать экспериментальные  $T_{12}$  вблизи экстремума, что позволяет применять его для прикладных расчетов. Установлено, что концентрация модификатора  $\varphi_A$  в азеотропной ПФ для НФХ тем выше, чем выше ее полярность. Это правило соблюдается как для малополярных ПФ, разбавителем в которых служат углеводороды (рис. 15, линия 1,  $R^{\circ}_{\text{сум}}=0.036+0.181\varphi_A$ ), так и для полярных ПФ с метанолом в качестве добавки (линия III,  $R^{\circ}_{\text{сум}}=0.184+0.377\varphi_A$ ). Выше определенного уровня полярности азеотропия отсутствует.

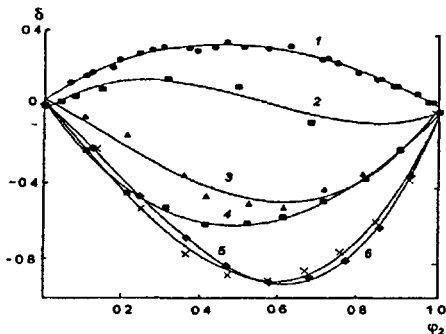


Рис. 3. Изотермы отклонения показателя преломления от аддитивной величины  $\delta=f(\varphi_2)$  при 25 °С для систем: циклогексан – этанол (1); гексан – 1,2-дихлорэтан (2); вода – ТГФ при 20 °С (3); вода – ацетонитрил при 20 °С (4); вода – этанол (5); вода – метанол (6)

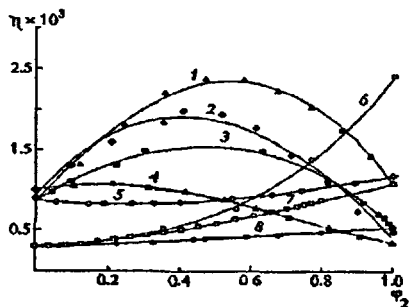


Рис. 4. Изотермы вязкости при 25°С для систем: 1 – вода – этанол; 2 – вода – тетрагидрофуран (20°С); 3 – вода – метанол; 4 – вода – ацетонитрил (20°С); 5 – циклогексан – диоксан; 6 – гексан – пропан-2-ол (20°С); 7 – гексан – этанол; 8 – гексан – хлороформ

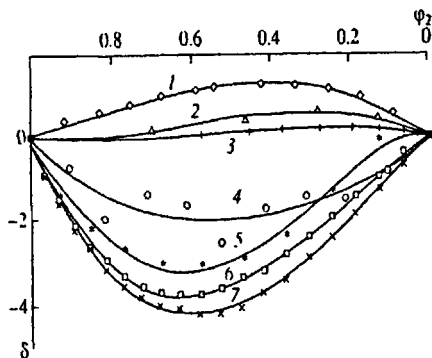


Рис. 5. Изогтермы отклонения экспериментального объема от аддитивного  $\delta - \varphi_2$  при  $25^\circ\text{C}$  для систем: 1 – циклогексан – диоксан; 2 – гексан – пропан-2-ол; 3 – гексан – пропан-1-ол; 4 – вода – ацетонитрил ( $25^\circ\text{C}$ ); 5 – вода – этанол; 6 – вода – метанол; 7 – вода – ацетон

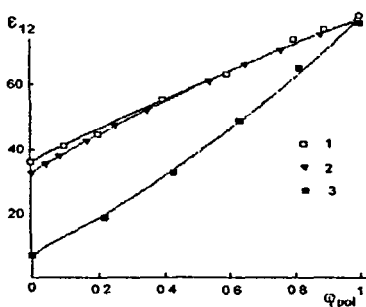


Рис. 6. Изогтермы  $\epsilon_{12}=f(\varphi_{\text{вода}})$  при  $25^\circ\text{C}$  для ПФ: 1 – ацетонитрил – вода; 2 – метанол – вода; 3 – ТГФ – вода

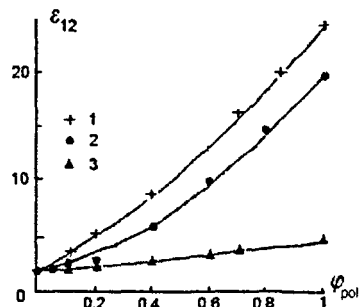


Рис. 7. Изогтермы  $\epsilon_{12}=f(\varphi_2)$  при  $25^\circ\text{C}$  для ПФ: 1 – гексан – этанол; 2 – гексан – пропан-2-ол; 3 – гексан – хлороформ

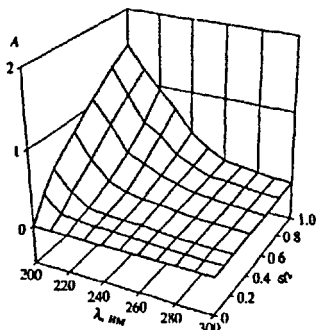


Рис. 8. Изогтермы  $A_{12}=f(\varphi_2)$  для ПФ вода – метанол

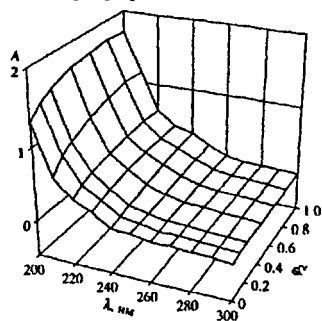


Рис. 9. Изогтермы  $A_{12}=f(\varphi_2)$  для ПФ гексан – пропан-2-ол



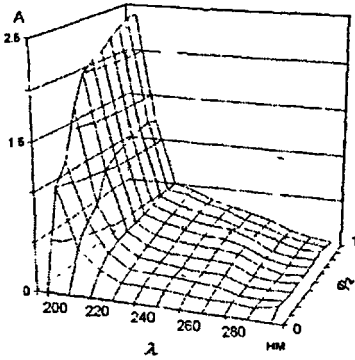


Рис. 10. Изомеры  $A_{12}=f(\varphi_2)$  для ПФ вода – ацетонитрил

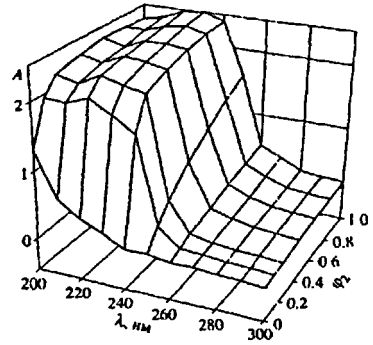


Рис. 11. Изомеры  $A_{12}=f(\varphi_2)$  для ПФ гексан – этилацетат

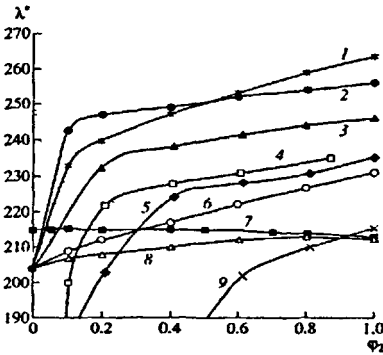


Рис. 12. Зависимость предела прозрачности  $\lambda^*$  от  $\varphi_2$  для ПФ: гексан – хлороформ (1), гексан – этилацетат (2); гексан – диоксан (3); вода – ацетонитрил (4); вода – тетрагидрофуран (5); гексан – этанол (6); изооктан – пропан-2-ол (7); гексан – пропан-2-ол (8), вода – метанол (9)

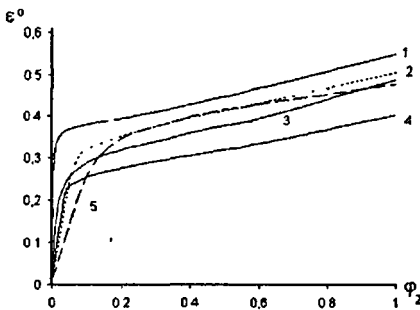


Рис. 13. Расчет по ур. (21) элюирующей силы бинарных ПФ: гексан – модификатор на силикагеле: 1 – пропан-2-ол; 2 – диоксан; 3 – этилацетат; 4 – диэтиловый эфир; 5 – ТГФ

Для таких разбавителей как алканы и циклоалканы не удается получить азеотропы с полярностью  $P^{\circ}_{\text{сум}} \geq 0.23$ . А в системе разбавитель – метанол азеотропия отсутствует при величине  $P^{\circ}_{\text{сум}}$ , близкой к полярности

метанола. Доля модификатора в азеотропной ПФ для ОФХ, наоборот, тем выше, чем меньше суммарная полярность (линия азеотропов II,  $P_{\text{сум}}^{\circ} = 0.141 + 0.586\phi_A$ ). Метанол и более полярные модификаторы не способны образовывать с водой азеотропных смесей. Не создают с водой азеотропы сильно ассоциированные растворители с Н-связью или апротонные высокодиполярные растворители (уксусная кислота, ДМФА, ДМСО). Найдено, что в системах с общим разбавителем, например, гексан - модификатор (НФХ) или вода - модификатор (ОФХ), с увеличением полярности модификатора, его доля в азеотропной нормально-фазовой ПФ уменьшается, стремясь к  $\phi_2=0$ , и увеличивается в ОФХ, стремясь к  $\phi_2=1$ .

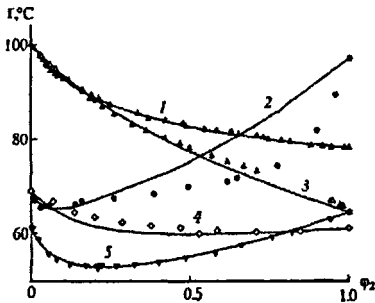


Рис. 14. Наблюдаемые изобары ( $P=0.1$  МПа) совмещенные с кривыми, построенными по ур. (21) для бинарных систем: 1 – вода – этанол; 2 – гексан – пропан-1-ол; 3 – вода – метанол; 4 – гексан – хлороформ; 5 – хлороформ – метанол

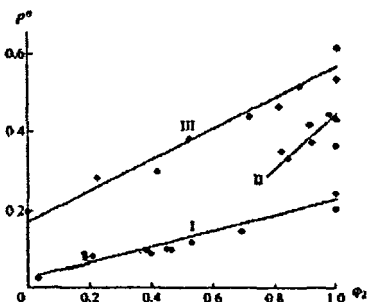


Рис. 15. Корреляции суммарной полярности бинарных азеотропных систем от объемной доли модификатора; I – системы углеводород – модификатор, II – вода – модификатор, III – разбавитель – метанол

В Главе 5 (Общие закономерности удерживания гидрофобных сорбатов) рассмотрено влияние строения сорбата и полярности ПФ на параметры удерживания в нормально- и обращенно-фазовых системах сорбат -

элюент - сорбент, дана трактовка экспериментальных данных с учетом современных представлений теории удерживания.

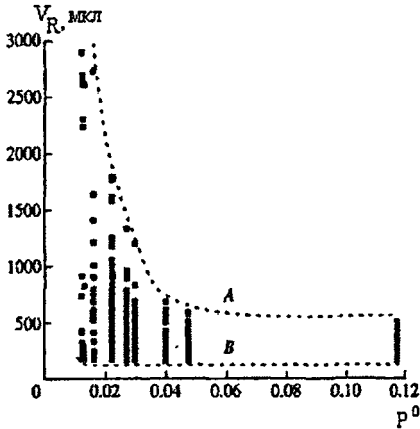


Рис. 16. Общие тенденции в удерживании сорбатов в условиях НФХ на силикагеле в ПФ алкан - модификатор. Тренд А - тенденция для низкомолекулярных сорбатов в ПФ с малополярными модификаторами; тренд В - тенденция для гидрофобных сорбатов в ПФ со спиртовыми модификаторами. 778 экспериментальных точек для 21 соединения

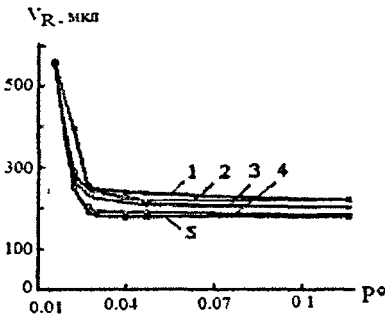


Рис. 17. Влияние полярности на удерживание 2-трет-бутил-6-(3-трет-бутил-2-гидрокси-5-метилбензил)-4-метилфенилового эфира акриловой кислоты на Силасорбе 600 в изозлюотропных ПФ гексан - модификатор (1 - этилацетат; 2 - хлороформ; 3 - диоксан; 4 - диоксан с добавкой пропан-2-ола ( $\varphi_3 = 0.001$ ), 5 - этилацетат с добавкой пропан-2-ола ( $\varphi_3 = 0.001$ ))

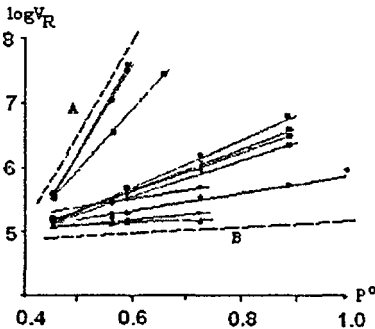


Рис. 18. Зависимости (30) для удерживания фенолов на Силасорбе  $S_{18}$  в ПФ вода - цетонитрил. 36 экспериментальных точек для 11 соединений. Тренд А - тенденция для гидрофобных сорбатов; тренд В - тенденция для полярных низкомолекулярных сорбатов

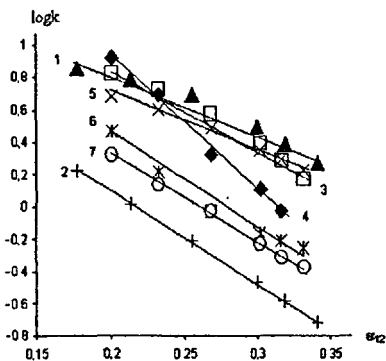


Рис. 19. Зависимости (29), система сорбат – (гексан – диоксан) – Силасорб 600: 1 – фенол; 2 – 3-(4-бифенил)-1-(2-гидроксифенил)-1-пропанол; система сорбат – (гексан – этилацетат) – Силасорб 600: 3 – фенол; 4 – эвгенол; 5 –  $\beta$ -нафтол; 6 – 2-метил-6-(3-фенилпропил)фенол; 7 – 3-(4-трет-бутилфенил)-1-(2-гидроксифенил)-1-пропанол

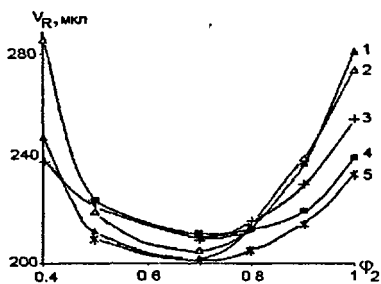


Рис. 20. Зависимость (36), система сорбат – (вода – ацетонитрил) – Силасорб  $\text{NH}_2$ : 1 –  $\beta$ -нафтол; 2 – фенол; 3 – *m*-крезол; 4 – бензол; 5 – 3-(*m*-толил)-1-(2-гидроксифенил)-1-пропанол

В табл. 3 и на рис. 16-20 приведены характерные зависимости для хроматографического поведения полифункциональных высокогидрофобных неионогенных сорбатов на примере цветообразующих компонентов фотоматериалов, светостабилизаторов, антиоксидантов фенольного типа, фенолов, ионогенных гидрофобных соединений на примере фосфолипидов, неполярных гидрофобных соединений на примере каротиноидов и, наконец, полифункциональных гидрофильных соединений на примере ряда гликозидов (антоцианов, стевииозиды, углеводов). Для варианта ОФХ показана возможность вычленить в наблюдаемых зависимостях составляющую объема удерживания  $V_{\text{NP}}$ , обусловленную нормально-фазовым распределительным механизмом сорбции, и составляющую  $V_{\text{RP}}$ , обусловленную сольвофобным механизмом сорбции. Ур. (22) адекватно описывает эксперимент ( $R > 0.99$ ) в условиях ОФХ на Силасорбе  $\text{NH}_2$  и на Силасорбе

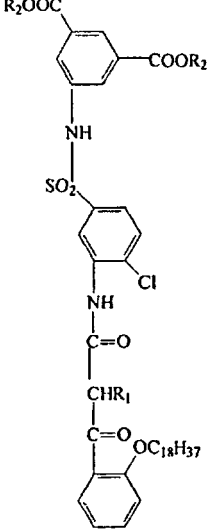
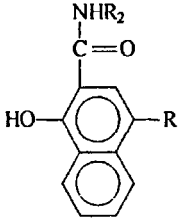
$C_{18}$ . Найдено, что в системе сорбат - (вода - ацетонитрил) - Силасорб  $NH_2$  в чистом ацетонитриле ( $\varphi_2=1$ ) доля  $V_{RP}$  для фенолов составляет только 0.03-8.8% от наблюдаемого  $V_R$ . При увеличении доли воды в ПФ до 60%, доля  $V_{RP}$  возрастает до 30.8-40.2%, а в системе сорбат - (вода - ацетонитрил) - Силасорб  $C_{18}$  в чистом ацетонитриле  $V_{NP}$  равна 10-20%, но при уменьшении  $\varphi_2$  быстро сводится на нет.

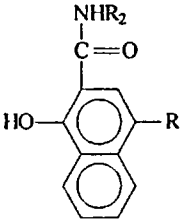
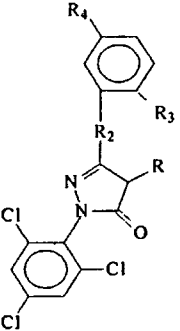
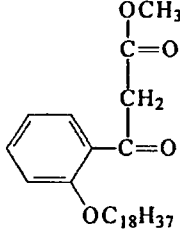
Таблица 3. Характерные зависимости удерживания сорбатов от их строения, состава и полярности ПФ в НФХ, ОФХ и ЭХ

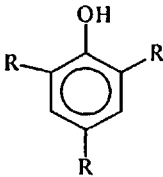
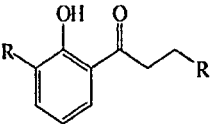
Хроматографическая система	Уравнение
Полифункциональный сорбат – (гексан – модификатор) – Силасорб 600	$V_R = a + b/\varphi_2 + c/\varphi_2^2$ (24)
	$V_R = V_M + a/P_N + b/P_N^2$ (25)
	$V_R = V_M + a/P_N + b/P_N^2 + c/P_N^3$ (26)
	$V_R = (a + b P_N)/(1 + c P_N + d P_N^2)$ (27)
	$V_R = (a + bH)/(1 + cH + dH^2)$ (28)
	$\log k = a - b\varepsilon_{12}^0$ (29)
Полифункциональный сорбат – (вода – модификатор) – Силасорб $C_{18}$	$\log V_R = a + bP_N$ или $\log V_R = a + bP^0$ (30)
	$\log V_R = a + bH$ (31)
	$\log V_R = a + b \log P$ (32)
	$\log V_R = \log V_{NP} + a P_N$ (33)
	$\log V_m = a + b(P_0 - y)$ (34)
Фенолы – (вода – модификатор) – Силасорб $NH_2$	$V_R = (1 - x)V_{NP} + xV_{RP}$ (35)
	$V_R = (1 - x)(V_M + a/P + b/P^2) + x10^{(\log V_M + dP)}$ (36)
Углеводы (водорастворимые полимеры) – вода – Молселект G10	$\lg M = a - bV_R$ (37)
	$R_G = a - bV_R$ (38)
	$R_G = -a + b(\log M)$ (39)

Примечание:  $V_M$  – мертвый объем,  $a, b, c, d, x$  – эмпирические коэффициенты;  $H$  – гидрофобность,  $P_N$  – суммарная полярность ( $P_N = \sum \varphi_i P_{Ni}$ ), аналогичные зависимости найдены для  $P^0$ ;  $V_{NP}$  – нормально-фазовая,  $V_{RP}$  – обращенно-фазовая составляющая  $V_R$ ;  $k$  – фактор удерживания;  $y$  – заданный коэффициент программы градиента,  $P_0$  – полярность ПФ в начале градиента ( $t=0$ );  $\log P$  – логарифм коэффициента распределения в системе октан-1-ол – вода;  $R_G$  – радиус гирации (вращения) молекулы сорбата;  $M$  – молекулярная масса.

Таблица 4. Примеры оптимизированных систем сорбат - сорбент - элюент

Основной аналит, условия детектирования	Сорбент; зернение (мкм); размер ко- лонки (мм×мм)	Состав элюента (%об.), расход (мл/мин)	Вари- ант ЖХ
1	2	3	4
 <p><math>\lambda=254-313 \text{ нм}</math></p>	<p>Сепарон SGX; 7.5; 3.3x150</p> <p>Сепарон CN; 7.5; 3.3x150</p> <p>Сепарон CN, 7.5; 3.3x150</p> <p>Силасорб 600;7.0; 2.0x80</p> <p><math>\mu</math>-Бондапак C<sub>18</sub>; 5.0; 8x100</p> <p>Силасорб C<sub>18</sub>; 7.5; 4.0x250</p> <p>Силасорб C<sub>18</sub>; 5.0; 2.0x64</p> <p>Силасорб C<sub>18</sub>; 7.0; 3.3x150</p> <p>Силасорб C<sub>18</sub>; 7.0; 2.0x80</p>	<p>Гексан-ЭА-ИС, 70:29:1, 0.7</p> <p>Гексан-Д-Э-ТЭА; 77.7:15.9:6:0.4; 0.7</p> <p>Гексан-Д-Э-УК; 86.95:11:2:0.05; 0.8</p> <p>Гексан-ИС-ДЭА; 99.7:0.2:0.1, 0.2</p> <p>М-ЭА-вода-УК; 85.9:8:6:0.1; 2.0</p> <p>Э-М-В; 62:29:9 (60 °С); 2.0</p> <p>М-ЭА-вода, 86:8:6; 0.2</p> <p>Э-Д-вода; 78:16:6; 0.5</p> <p>М-ЭА-В-УК; 85.5:8:6:0.5; 0.2</p>	<p>4</p> <p>НФ ВЭЖХ</p> <p>ОФ ВЭЖХ</p>
 <p><math>\lambda=254-313 \text{ нм}</math></p>	<p>Сепарон NH<sub>2</sub>; 5.0; 3.3x150</p> <p>Силасорб 600; 6.0x200; 5.0</p> <p>Силасорб CN; 3.3x150; 7.0</p> <p>Сепарон CN; 3.3x150; 7.0</p> <p>Сепарон CN; 3.3x150; 5.0</p> <p>Сепарон CN; 3.3x150; 5.0</p> <p>Силасорб 300; 6.0x200; 10.0</p>	<p>Гексан-диоксан; 80:20; 0.5</p> <p>Гексан-Х; 80:20; 0.9</p> <p>Гептан-Х-ИС; 91.6:8:0.4; 0.6</p> <p>Гексан-Д-Э; 78:16:6; 0.7</p> <p>Гексан-Д-ЭА; 90:5:5; 0.6</p> <p>Гексан-Д-ЭА; 92:3:5; 0.5</p> <p>Гексан-ЭА; 75:25; 2.0</p>	<p>НФ ВЭЖХ</p>

1	2	3	4
 <p><math>\lambda=254-313</math> нм</p>	<p><math>\mu</math>-Бондапак C18; 3.5x150; 5.0</p> <p>Силасорб C<sub>18</sub>; 2.0x62; 5.0</p> <p><math>\mu</math>-Бондапак C<sub>18</sub>; 8.0x100; 10.0</p> <p>Силасорб C<sub>18</sub>; 2.0x62; 5.0</p> <p>Силасорб C<sub>18</sub>; 3.3x150; 7.0</p> <p><math>\mu</math>-Бондапак C<sub>18</sub>; 19.0x150; 10.0</p>	<p>ТГФ-вода; Градиент 50:50 → 30:70; 0.5</p> <p>Этанол-вода; 96:4; 0.1</p> <p>Э-ТГФ-вода; 65:15:20; 1.5</p> <p>Э-АН-вода; 48:50:2; 0.1</p> <p>Метанол-вода; 95:5; 0.8</p> <p>ТГФ-вода; 60:40; 7.0</p>	<p>ОФ ВЭЖХ</p> <p>Преп. ОФ ВЭЖХ</p>
 <p><math>\lambda=254-289</math> нм</p>	<p>Сепарон SGX; 7.0; 3.3x150</p> <p>Сепарон CN; 7.0; 3.3x150</p> <p>Нуклеосил; 5.0; 2.0x64</p> <p>Сепарон CN; 7.0; 3.3x150</p> <p>Сепарон SGX; 5.0; 3.3x150</p> <p>Силасорб CN; 5.0; 2.0x64</p> <p>Нуклеосил; 5.0; 2.0x64</p> <p>Силасорб 600; 5.0; 2.0x80</p> <p>Сепарон CN; 7.0; 3.3x150</p>	<p>Гексан-Х-Э; 85:10:5; 0.5</p> <p>Гексан-Х-Э; 85:10:5; 0.6</p> <p>Гексан-Д-Э; 75:15:10; 0.1</p> <p>Гексан-Д-Э; 78:16:6; 0.7</p> <p>Гексан-Х-Э; 85:10:5; 0.5</p> <p>Гексан-Д-Э; 75:15:10; 0.1</p> <p>Гексан-Х-Э; 70:20:10; 0.1</p> <p>Гексан-Д-Э; 75:15:10; 0.1</p> <p>Гексан-Х-Э; 85:10:5; 0.6</p>	<p>НФ ВЭЖХ</p>
 <p><math>\lambda=254-290</math> нм</p>	<p>Силасорб CN; 7.0; 2.0x80; Силасорб CN; 7.5; 4.0x250</p> <p><math>\mu</math>-Бондапак CN; 5.0; 3.9x150</p> <p>Новапак C<sub>18</sub>; 5.0; 3.9x150</p>	<p>Г-ИС-ТЭА; 99.4:0.5:0.1; 0.2</p> <p>Г-ИС-ТЭА; 99.45:0.5:0.05; 2.0</p> <p>Г-ИС-ДЭА; 99.4:0.5:0.1</p> <p>ТГФ-АН-вода; 42:32:18; 1.0</p>	<p>НФ ВЭЖХ</p> <p>ОФ ВЭЖХ</p>

1	2	3	4
 $\lambda=254-290 \text{ нм}$	Силасорб 600; 5.0; 2x80; Силасорб 600; 5.0; 2x80; Силасорб 600; 5.0; 2x62 Силасорб C <sub>18</sub> ; 5.0; 2x80; Силасорб C <sub>18</sub> ; 5.0; 2x80;	Гексан-ИС; 99.07:0.03; 0.1; Гексан-ЭА; 90:10; 0.1; Гексан-Х; 95:5; 0.1 Ацетонитрил - вода; 85:15; 0.1; Метанол - вода; 90:10;	НФ ВЭЖХ    ОФ ВЭЖХ
 $\lambda=254 \text{ нм}$	Силасорб 600; 5.0; 2x80; Силасорб 600; 5.0; 2x62 Силасорб 600; 5.0; 2x80; Силасорб C <sub>18</sub> ; 5.0; 2x80; Силасорб C <sub>18</sub> ; 5.0; 2x80;	Гексан-ЭА; 95:5; 0.1; Гексан-диоксан; 97:3; 0.1; Гексан-ИС; 99.9:0.01, 0.1; Ацетонитрил - вода; 85:15; 0.1; Метанол - вода; 90:10;	НФ ВЭЖХ   ОФ ВЭЖХ

Примечание: АН – CH<sub>3</sub>CN; В – H<sub>2</sub>O; Г – гексан; Д – диоксан; ДЭА – диэтиламин; ИС – *i*-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>OH; М – CH<sub>3</sub>OH. МК – HCOOH; ТЭА – триэтиламин; УК – CH<sub>3</sub>COOH. Х – CHCl<sub>3</sub>. ТГФ – тетрагидрофуран, Э – этанол; ЭА – этилацетат; КХ – колоночная хроматография низкого давления; ЭФ – электрофорез; ЭХ – эксклюзионная хроматография; R<sub>i</sub> – H, алкильные, арильные, алкиларильные заместители, полярные и неполярные функциональные группы разного строения.

На рис. 22-24 приведены примеры хроматограмм некоторых сложных природных смесей, исследованных в настоящей работе.

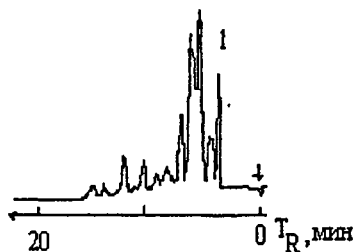
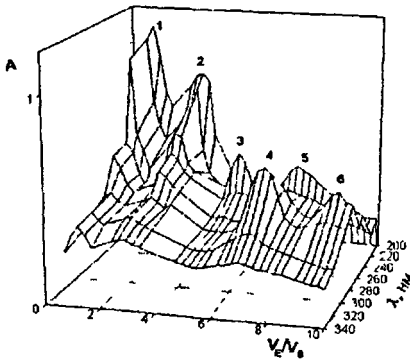
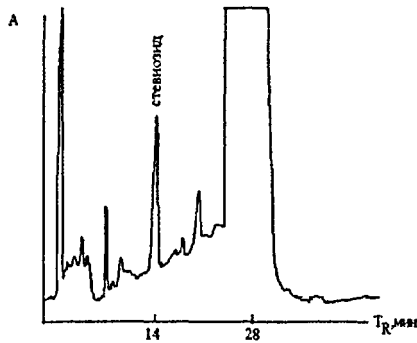


Рис. 22. Хроматограмма каротиноидов экстракта каротина моркови после глубокой термоокислительной деструкции. Сепарон CN (3.3x150 мм), гептан – пропан-2-ол (98:2), 436 нм, 0.5 мл/мин, 1 – β-каротин



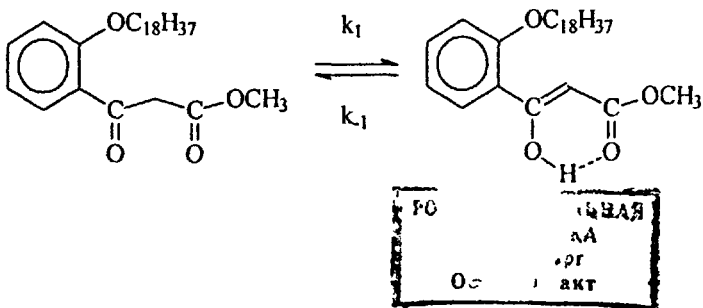


**Рис. 23.** Разделение фосфолипидов. Сорбент МХДЭ-100 из сверхсшитого полистирола (10x200 мм), ПФ этанол, насыщ. NaCl: 1 – фосфатидилэтаноламин; 2 – фосфатидилхолин; 3 – фосфатидовые кислоты; 4 – фосфатидинозитол; 5 – фосфатидилсерин; 6 – фосфатидилглицерин (идентификацию проводили по ИК-спектрам, данным ТСХ и электрофореза)



**Рис. 24.** Хроматограмма водного экстракта стевиозида из листьев стевии. Луна NH<sub>2</sub> (250x4.6мм, 5 мкм). Градиентный режим. Программа градиента: 87-82.5% В за 12 мин, 82.5-79% В за 8 мин, 5% В - 5мин, 5% В - 87% В за 1мин, 87% В - 3 мин. А – вода, В – ацетонитрил. Расход ПФ 1.5 мл/мин, λ=210нм, 50 °С

Найдено, что в условиях НФХ в слабополярных ПФ ( $\varphi_2=0-0.1$ ) и в условиях ОФХ в сильнополярных ПФ ( $\varphi_2=0.6-0.7$ ) β-дикарбонильные соединения с объемными заместителями в *орто*-положении от дикарбонильного фрагмента могут хроматографироваться в виде разделенных кетонной и енольной форм (рис. 25). Это явление, обусловленное медленным установлением таутомерного равновесия



детально исследовано на примере *орто*-октадецилоксибензоилметилацетата (ОДБМ) с применением методов ИК-, УФ-, ПМР-спектроскопии, аналитической и препаративной ВЭЖХ. Для устранения эффекта в НФХ предложено добавлять в качестве минорного модификатора диэтил- или триэтиламин, которые катализируют процесс установления таутомерного равновесия, а разрешение пиков таутомеров можно регулировать полярностью ПФ. Уменьшение скорости элюирования и повышение температуры до 30 °С также приводит к ухудшению их разделения. Известно, что кето-енольное равновесие является хорошим индикатором полярности среды. Нами установлена тесная корреляция между концентрацией енольной формы ОДБМ в чистом или смешанном растворителе и его полярностью, выраженной критерием  $P_N$  (рис. 26).

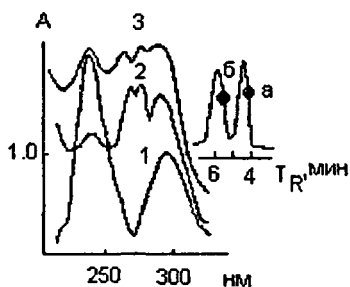


Рис. 25. УФ-спектры в остановленном потоке кетоформы *орто*-октадецилоксибензоилметилацетата в точке а (1), енольной формы в точке б (2) (Новапак  $C_{18}$ , ТГФ-вода, 70:30, расход 1 мл/мин) и УФ-спектр неразделенного пика таутомеров (3) ( $\mu$ -Бондапак CN, гексан – пропан-2-ол – диэтиламин, 99.4:0.5:0.1, расход 0.4 мл/мин)

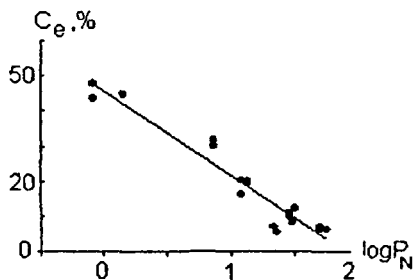


Рис. 26. Корреляция содержания енольной формы ОДБМ от полярности растворителя  $C_e=45.8-24.3 \log P_N$ ,  $R=0.9624$ ,  $n=20$

В результате проведенных исследований создана база данных по ЖХ полифункциональных соединений с широким размахом выборки гидро-

фобно-гидрофильного баланса, включающая физико-химические параметры анализов ( $H$ ,  $\log P$ , растворимость, аналитическая длина волны), свойства сорбента (марка, размер колонки и частиц), состав и полярность ПФ. В табл. 4 и рис. 22-25 приведены примеры полифункциональных анализов, взятых в качестве объектов исследования, и условия ВЭЖХ, адаптированные к используемой хроматографической аппаратуре. При проверке качества методики оценивали аналитические и технико-эксплуатационные характеристики всего хроматографического комплекса.

В Главе 6 (Хеометрические приемы оптимизации методик хроматографического анализа) описаны приемы экспертизы баз данных в жидкостной хроматографии, которые учитывают хроматографические свойства аналита (молекулярная масса, полярность, гидрофобно-гидрофильный баланс, растворимость, свойства, позволяющие детектировать аналит), свойства элюентов (объемные, оптические свойства, вязкость, показатель преломления, температура кипения, токсичность, пожаро- и взрывоопасность, химическая инертность, стоимость и т.д.), и особенности сорбентов (тип, зернение, параметры колонки). Представлено описание прототипа экспертной системы, созданной в оболочке программы Microsoft Excel. Для экспертизы и подбора оптимальных условий ЖХ предложено применять обобщенные критерии (40) и обобщенные целевые функции (41).

$$K_s = \sum_{i=1}^m a_i (x_i^s / x_i^n) , \quad (40)$$

где  $K_s$  – обобщенный критерий для  $s$ -го варианта,  $a_i$  - коэффициент веса  $i$ -го параметра,  $x_i^s$  – значение  $i$ -го параметра для  $s$ -го варианта,  $x_i^n$  – нормирующее значение для  $i$ -го параметра,  $m$  - количество параметров. Коэффициент веса находят методами экспертной оценки: прямым назначением, по балльной системе и методом парных сравнений. Согласованность оцен-

ки экспертов проверяется коэффициентом вариабельности, равным отношению среднего  $\mathbf{a}_i$  к величине стандартного отклонения  $V = \overline{\mathbf{a}_i} / S_i$ .

$$F_{об} = \sum_{k=1}^s \mathbf{a}_k \frac{F_k}{F_k^{норм}} \rightarrow \max, \quad (41)$$

где  $F_{об}$  – значения обобщенной целевой функции для  $s$ -той ПФ,  $\mathbf{a}_k$  – коэффициент веса  $k$ -той целевой функции  $F_k$  и  $F_k^{норм}$  – нормирующее значение для  $F_k$ ,  $s$  – число составляющих (частных) целевых функций. Перед составляющими целевыми функциями, которые максимизируются, ставится знак плюс, перед минимизируемыми – знак минус. Значения  $F_k^{норм}$  принимаются при максимализации  $k$ -той целевой функции  $F_k^{норм} = F_k^{max}$ , при ее минимизации –  $F_k^{норм} = F_k^{min}$ . Например, если оптимизируется оптическая плотность ПФ, величина  $F_k^{норм}$  равна минимальному значению функции  $A=f(\varphi_2)$ .

Созданная база данных дает возможность количественно сравнивать *априори* или *апостериори* техническую оптимальность того или иного состава ПФ и делать правильный выбор из нескольких вариантов, подходящих по эффективности и селективности разделения. По величине  $F_{об}$  можно сравнивать качество существующих методик, применяемых для решения той или иной аналитической задачи. На рис. 27 приведен один из ключевых рабочих листов программы поиска оптимального решения по обобщенной целевой функции. Рис. 28-30 дают общее представление о том, как выглядят типичные частные и целевые функции для НФХ и ОФХ. Визуализация этих функций позволяет оператору легко сделать экспертную оценку качества методики и оценить возможности ее улучшения. Создание алгоритмов поиска  $F_{об}$  не представляет большой сложности, несмотря на наличие нескольких оптимизируемых параметров. В итоге получается двухмерный график, простой в интерпретации. Аналогично проводят поиск оптимального решения при выборе колонки, если извест-

ны функциональные зависимости между ее параметрами и граничные условия, удовлетворяющие требованиям аналитической задачи.

A		B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Компоненты		$\Phi_2$	Т <sub>кип</sub>	$\rho$	$\eta$	УФ	\$L	ПДК, мг	Р <sub>0</sub>	П <sub>D</sub>	solv
1	Желательность		max	max	min	min	min	max	min	min	max
2	Частные функции	0	100	1	0,89	190	16,8	3000	1	1,333	0
4		0,075	98,65	0,9835	0,84875	190	17,94	2775,75	0,95875	1,3336	0,0375
5		0,4	92,8	0,912	0,67	190	22,88	1804	0,78	1,3362	0,2
6		0,6	89,2	0,868	0,56	190	25,92	1206	0,67	1,3378	0,3
7		0,8	85,6	0,824	0,45	190	28,96	608	0,56	1,3394	0,4
8		1	82	0,78	0,34	190	32	10	0,45	1,341	0,5
9	Система	1	82	0,78	0,34	190	32	10	0,45	1,341	0,5
10	вода	1	82	0,78	0,34	190	32	10	0,45	1,341	0,5
11	ацетонитрил	0,15625	97,1875	0,96563	0,80406	190	19,175	2532,81	0,91406	1,33425	0,07812
12		0	100	1	0,89	190	16,8	3000	1	1,333	0
13		0,5	91	0,89	0,615	190	24,4	1505	0,725	1,337	0,25
14		0,5	91	0,89	0,615	190	24,4	1505	0,725	1,337	0,25
15		0,0087	99,8435	0,99809	0,88522	190	16,9322	2974	0,99522	1,33307	0,00435
16		0	100	1	0,89	190	16,8	3000	1	1,333	0
17		1	82	0,78	0,34	190	32	10	0,45	1,341	0,5
18	Fi	0,0087	99,8435	0,99809	0,88522	190	16,9322	2974	0,99522	1,33307	0,00435
19	Компоненты ОЦФ	-0,14214	0,14611	0,11516	-0,16514	-0,22	0,04858	0,11856	-0,09	0	0,00174
20	Кэфф-ты веса	1	0,120	0,090	0,150	0,220	0,070	0,060	0,090	0,000	0,200
27	Ограничения по концентрации	Макс	0	0	0	0	1	0,68966	0,0037	0	0
28	Ограничения по функциям	Макс	1	1	0,3125	1	0	0	0,53043	1	1
29		Минс	60	0,6	0,3	190	19	100	0,02	1,3	0,5
30		Макс	100	1,2	0,8	254	30	3000	0,2	1,4	1
31		ОЦФ	ЦФ 1	ЦФ 2	ЦФ 3	ЦФ 4	ЦФ 5	ЦФ 6	ЦФ 7	ЦФ 8	ЦФ 9
33	Начальное приближение:		0,0087		АВТО						
34	Обобщенная целевая функция:		-0,14214		АВТО						

Н | < | > | \ Гл. меню / База данных \ Поиск / График / Экспертная оценка / Блок | < | >

Рис. 27. Рабочий лист экспертной системы ввода граничных условий и расчета 9 частных и обобщенной целевой функции

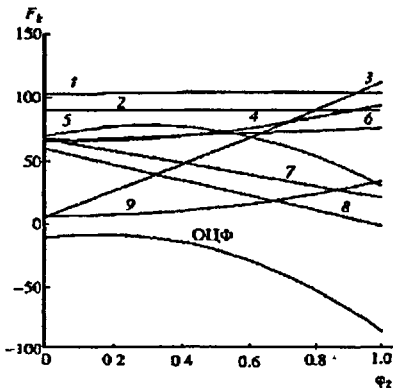
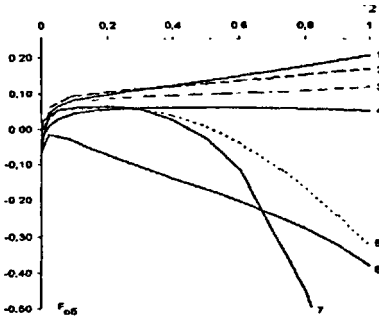
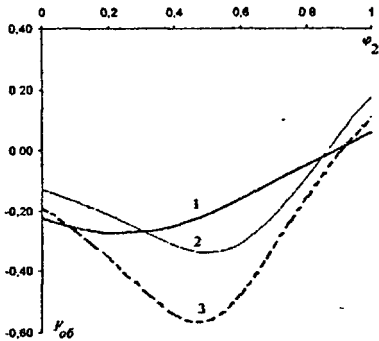


Рис. 28. Обобщенная (ОЦФ) и составляющие целевые функции  $F_k$  для микроколоночной ВЭЖХ эвгенола для ПФ гексан – пропан-2-ол: 1 – предел прозрачности; 2 – растворимость, 3 – полярность, 4 –  $T_{кип}$ ; 5 – оптическая плотность при 250 нм, 6 – плотность, 7 – стоимость, 8 – ПДК; 9 – вязкость



**Рис. 29.** Типичные  $F_{об}$  для хроматографической системы «цветообразующие компоненты – Силасорб 600 («Милихром», УФД) – бинарные ПФ гексан – модификатор»: 1 – диэтиловый эфир; 2 – этилацетат; 3 – ТГФ; 4 – хлороформ; 5 – этанол; 6 – диоксан; 7 – пропан-2-ол



**Рис. 30.** Типичные  $F_{об}$  для хроматографической системы «гидрофобные соединения – Силасорб С<sub>18</sub> («Милихром», УФД) – бинарные ПФ вода – модификатор»: 1 – ацетонитрил; 2 – метанол; 3 – ТГФ

Целесообразно говорить не о точечном оптимуме, а об оптимальном диапазоне  $F_{об}$ , который на отдельных участках может изменяться медленно. Оптимальное решение зачастую регулируется наложенными граничными условиями. При отсутствии функциональных зависимостей предложено использовать обобщенные критерии.

Разработаны принципы обнаружения многокомпонентной фальсифицирующей добавки переменного состава в многокомпонентном продукте с переменным составом этих же компонентов. На рис. 31 даны 6 из 20 разных позиций взаимного расположения характеристичных диапазонов колебаний концентрации  $i$ -го компонента в системе из двух продуктов – стандартного и эрзаца. На оси абсцисс отложена массовая доля эрзаца (0-100%), на оси ординат – массовая доля  $i$ -го компонента. Зона  $ABDC$  выделяет допустимый диапазон изменений содержания компонента в

стандартном продукте, а зона  $A'B'D'C'$  - диапазон характерный для  $i$ -го компонента в фальсифицирующей добавке. Линии  $AB$  и  $CD$  - верхняя и нижняя граница интервала, в котором варьирует содержание компонента в стандарте, а линии  $A'B'$  и  $C'D'$  - границы для  $i$ -го компонента в эрзаце. Линии  $AB'$ ,  $AD'$ ,  $CB'$  и  $CD'$  - тренды изменения концентрации компонента по мере роста массовой доли эрзаца  $m_2$  в смеси. Линии трендов исходят из экстремальных концентраций компонента в стандартном продукте (точки  $A$  и  $C$ ) и заканчиваются в точке, соответствующей экстремальным концентрациям компонента в эрзаце ( $B'$  и  $D'$ ). Перпендикуляры на ось абсцисс из точки пересечения линий трендов с линиями  $AB$  и  $CD$  указывают  $m_2$ , при которой можно обнаружить эрзац. Наличие эрзаца гарантированно фиксируется в случае реализации вариантов  $a$ ,  $b$ ,  $1e$  и  $2e$ . Если в нем нет  $i$ -го компонента стандартного продукта (вариант  $a$ ), примесь обнаруживается, как только линия тренда пересечет линию  $CD$ , т.е. достоверно зафиксируется более низкая концентрация компонента в пробе. Если в добавке есть  $i$ -й компонент, отсутствующий в стандартном продукте (вариант  $b$ ), тогда эрзац раскрывается на уровне порога обнаружения  $i$ -го пика на хроматограмме. С учетом разбавления можно заметить до 0.5 % добавки. В тех случаях, когда диапазоны содержания компонента в смешиваемых композициях частично перекрываются (вариант  $c$ ), или имеют общую границу (вариант  $d$ ), добавка открывается, как только концентрация компонента станет ниже или выше предельно допустимого значения, т.е. линии трендов пересекут линию  $AB$  или  $CD$ . Однако есть вероятность получить тренды, не пересекающиеся с линиями  $AB$  и  $CD$ . В этих случаях обнаружить фальсификацию нельзя. Для идентификации перспективны варианты  $e$ , когда диапазоны содержания компонентов в продукте и эрзаце полностью изолированы.

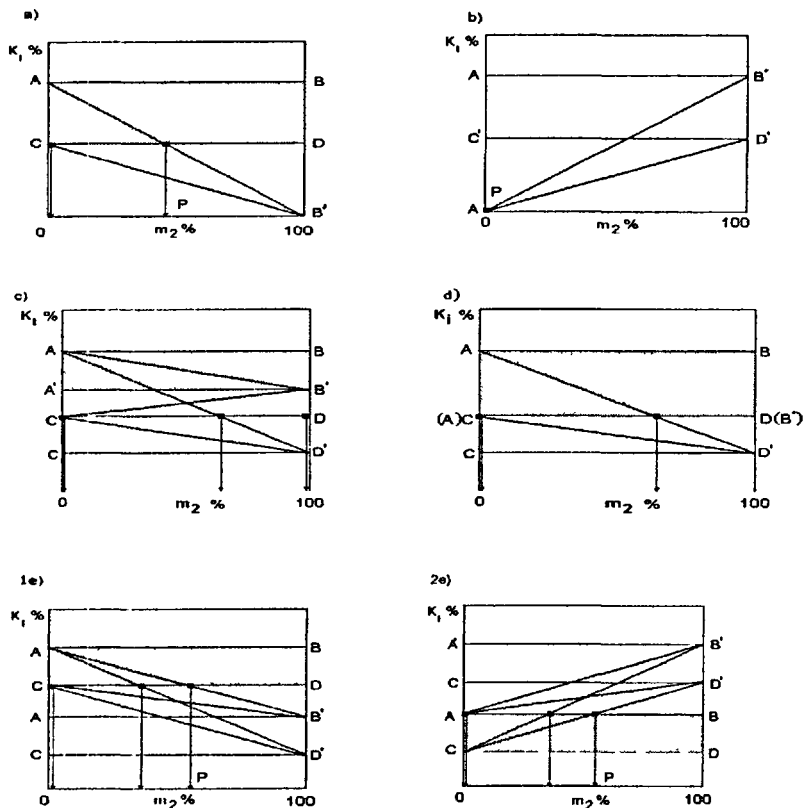


Рис. 31. Варианты взаимного расположения диапазонов содержания  $i$ -го компонента в двух смешиваемых многокомпонентных анализах:  $a$  - компонент отсутствует в эрзаце;  $b$  - компонент отсутствует в стандартном продукте;  $c$  - диапазоны в стандартном продукте и эрзаце частично перекрываются;  $d$  - диапазоны в стандарте и эрзаце имеют общую границу раздела;  $1e$  и  $2e$  - массовая доля компонента в стандарте выше или ниже, чем в эрзаце, а диапазоны его содержания изолированы.

Добавка гарантированно находится, как только концентрация компонента становится выше или ниже границы допустимого диапазона. Гарантированные пределы обнаружения эрзаца обозначены точкой  $P$ . Для разных контролируемых компонентов значения  $P$ , как правило, не совпа-



дают. Экстремальные значения контролируемых критериев ограничивают идентификационную зону. Если хотя бы один критерий, с учетом погрешности определения выходит из ее пределов, следует заключение о несоответствии стандартному образцу. Многокритериальные идентификационные зоны сложных природных смесей имеют индивидуальные границы, для проверки аутентичности продуктов по этим зонам перспективны алгоритмы искусственных нейронных сетей, в практической экспертизе удобны контрольные карты (диаграммы), визуализирующие идентификационные зоны.

Разработанные принципы применимы при идентификации натуральности или аутентичности жиров по триглицеридному, жирнокислотному составу, составу стероидов, летучих компонентов, по продуктам пиролиза; белков - по аминокислотному составу. Они применимы при проверке аутентичности многих фармпрепаратов, на основе экстрактов биологически активных добавок, которые фальсифицируются разбавлением, нарушением пропорций активных компонентов.

Выполненные в настоящей работе систематические исследования и обобщения в области теории и практики ЖХ позволяют совершенствовать аналитические и технико-эксплуатационные характеристики методик определения полифункциональных органических соединений.

### Выводы

1. Изучены, теоретически обоснованы особенности и оптимизированы условия высокоэффективной жидкостной хроматографии высокогидрофобных и полярных полифункциональных соединений на примере цветообразующих компонентов фотоматериалов, антиоксидантов, светостабилизаторов и полупродуктов фармацевтических препаратов фенольного типа, каротиноидов и гликозидов. Установлены количественные корреляции между критериями гидрофобности полифункциональных органических соединений и параметрами их удерживания. Если в условиях обра-

щенно-фазовой хроматографии наблюдается линейное увеличение логарифма объема удерживания при увеличении гидрофобности сорбатов, то в условиях нормально-фазовой хроматографии объемы удерживания проявляют эффект насыщения - для низкогидрофобных соединений они резко падают при увеличении гидрофобности сорбатов, а для высокогидрофобных соединений объемы удерживания уменьшаются плавно, стремясь к объему удерживания несорбируемого вещества.

2. Установлены феноменологические зависимости между параметрами удерживания сорбатов, их строением и полярностью подвижной фазы на немодифицированном и модифицированных силикагелях. Обоснован физический смысл некоторых констант, входящих в эти зависимости. Так, удерживание сорбатов в зависимости от полярности подвижной фазы в условиях нормально-фазовой хроматографии адекватно описывается уравнением обратной инверсии, свободный член которого равен мертвому объему. В условиях обращенно-фазовой хроматографии в зависимости от строения групп, модифицирующих поверхность силикагеля, и количества остаточных силанольных групп, выявлено наличие нормально-фазовой составляющей объема удерживания, доля которой увеличивается при увеличении концентрации органического модификатора в водно-органических подвижных фазах. Свободный член в линейных логарифмических анаморфозах, описывающих влияние полярности подвижной фазы в обращенно-фазовой хроматографии равен логарифму величины нормально-фазовой составляющей наблюдаемого объема удерживания.

3. Изучены и проанализированы изотермы плотности, диэлектрической проницаемости, оптической плотности, показателя преломления, вязкости и элюирующей силы от объемной доли модификатора для серии типовых бинарных нормально- и обращенно-фазовых подвижных фаз. Показано, что учет неаддитивности этих изотерм при оптимизации хроматографических методик позволяет повысить чувствительность определения,

улучшить технико-эксплуатационные характеристики методики, избежать критических режимов хроматографирования.

4. Проанализированы изобары температуры кипения от объемной доли модификатора для типичных бинарных подвижных фаз, применяемых в жидкостной хроматографии. Найдены полиазетропные системы, позволяющие по корреляции между полярностью бинарного растворителя и объемной долей модификатора в азеотропной бинарной смеси подбирать азеотропы с заданной элюирующей силой. Концентрация модификатора в азеотропной подвижной фазе для нормально-фазовой хроматографии тем выше, чем выше ее полярность, а в азеотропной обращенной подвижной фазе концентрация модификатора тем выше, чем меньше суммарная полярность.

5. Разработаны шкалы полярности растворителей, основанные на обобщенных кватернарных критериях, которые позволяют измерять полярность и элюирующую силу растворителей различной природы в широком диапазоне варьирования полярных свойств. С помощью этих критериев изучено влияние полярности подвижной фазы на параметры удерживания сорбатов в нормально- и обращенно-фазовой хроматографии, на кетоенольное равновесие  **$\beta$ -кетозэфиров**, экспериментально проверена и уточнена концепция применения изоэлюотропных составов в условиях нормально- и обращенно-фазовой жидкостной хроматографии. Для элюирующей силы растворителей на силикагеле, оксиде алюминия, октадецилированном силикагеле и на активированном угле установлены оптимальные коэффициенты веса парциальных полярностей обобщенного критерия, в результате чего получены бинарный, тернарный и кватернарный критерии полярности, максимально адаптированные для соответствующих хроматографических систем.

6. Проанализированы возможности измерения гидрофобности и полярных свойств сорбентов с помощью упрощенного критерия гидро-

фобности Шатца и расчетных величин логарифма коэффициента распределения между октан-1олом и водой для модельных соединений, имеющих такой же состав функциональных групп, что и поверхность сорбента.

7. Разработаны принципы создания экспертной системы оценки качества хроматографической методики анализа. Создан прототип экспертной системы, в котором были использованы результаты оригинальных физико-химических и хеометрических исследований полярности и элюирующей силы подвижной фазы; закономерности изменения температуры кипения, плотности, вязкости, показателя преломления, оптической плотности в серии типовых бинарных подвижных фаз в широком диапазоне составов (при изменении объемной доли от 0 до 1), а также данные по растворимости серии аналитов в типовом наборе из 10 растворителей, имеющих максимальный рейтинг хроматографических свойств. В экспертной системе использовали готовый, протестированный, всесторонне апробированный пакет программ статистической обработки и поиска оптимальных решений, включенный в типовой табличный процессор Microsoft Excel. Разработаны алгоритмы выбора оптимальных условий жидкостной хроматографии для конкретных аналитических задач с помощью обобщенных критериев и обобщенных целевых функций. Многопараметрическая количественная оценка хроматографических методик, учитывающая совокупность хроматографических свойств сорбата, подвижной фазы, колонки, эксплуатационных характеристик хроматографа и граничные условия технического задания, позволяет разрабатывать надежные методики выполнения измерений для рутинных массовых анализов и сопоставлять уровни качества нескольких методик, решающих одну и ту же аналитическую задачу по величине обобщенной целевой функции.

8. Разработан принцип обнаружения многокомпонентной фальсифицирующей добавки переменного состава в многокомпонентном про-

дукте с переменным составом этих же компонентов, в основу которого положен анализ контролируемых хроматографических данных и сопоставление их со статистически достоверно установленными диапазонами возможных колебаний содержания серии характеристичных компонентов в стандартном образце. Изучение и обобщение хроматографических баз данных показало, что вероятность обнаружения фальсификации многокомпонентных аналитов заметно повышается, если используется многокритериальная идентификационная зона, включающая 5-10 контролируемых компонентов или параметров. Если содержание хотя бы одного компонента с учетом погрешности измерений выходит за пределы идентификационной зоны, аналит следует признать неаутентичным декларируемому продукту. Визуализация многокритериальных идентификационных зон с помощью контрольных карт, сокращает информацию, повышает наглядность и облегчает ее восприятие, ускоряет процедуру идентификации. Предложено использовать контрольные карты многокомпонентных продуктов в качестве основы для создания экспертных систем оценки аутентичности продуктов со сложным составом.

Основные материалы диссертации опубликованы в следующих работах:

1. Рудаков, О.Б. Физико-химические системы сорбат - сорбент - элюент в жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков,- В.Ф: Селеменов. - Воронеж : Изд-во Воронеж, ун-та, 2003.-300 с.
2. Рудаков, О.Б. Растворитель как средство управления процессом в жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков. - Воронеж : Изд-во Воронеж, ун-та, 2003.-300 с.
3. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков, И.А. Востров, С.В. Федоров и др. - Воронеж : Водолей, 2004.-528 с.

4. Рудаков, О.Б. Дифференциальный термический анализ пищевых жиров / К.К. Полянский, С.А. Снегирев, О.Б. Рудаков. - М. : ДеЛи принт, 2004. - 86 с.
5. Разделение и идентификация таутомерных форм орто-октадецилоксибензоилметилацетата методом ВЭЖХ с УФ детектированием / О.Б. Рудаков, Н.И. Мотина, О.А. Чистовская и др. // Журн. аналит. химии. - 1991. - Т. 46, № 12. - С. 2355-2364.
6. ВЭЖХ цветообразующих компонентов. Желтые компоненты из ряда производных анилидов ароилуксусных кислот и их полупродукты / О.Б. Рудаков, Н.И. Мотина, Л.В. Минкина и др. // Журн. аналит. химии. - 1993. - Т. 48, № 2. - С. 297-304.
7. ВЭЖХ цветообразующих пурпурных компонентов - производных пиразолона-5 / О.Б. Рудаков, Л.В. Дулуба, Г.С. Степанова, А.А. Галяутдинов // Журн. аналит. химии. - 1993. - Т. 48, № 12. - С. 1934-1940.
8. Рудаков, О.Б. Высокоэффективная жидкостная хроматография цветообразующих голубых компонентов из ряда производных амидов 1-гидрокси-2-нафтойной кислоты / О.Б. Рудаков, О.А. Чистовская, М.Л. Ушкалова // Журн. аналит. химии. - 1995. - Т. 50, № 3. - С. 277-282.
9. Парофазное определение микропримесей тетрахлорметана, хлороформа, толуола и хлорбензола в сточных водах химического производства / О.Б. Рудаков, Е.А. Дубко, Г.С. Степанова, В.И. Баутин // Журн. аналит. химии. - 1995. - Т. 50, № 11. - С. 1196-1198.
10. Рудаков, О.Б. Диэлектрическая проницаемость как мера полярности бинарных подвижных фаз, используемых в высокоэффективной жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков // Журн. аналит. химии. - 1998. - Т. 53, № 9. - С. 952-957.
11. Рудаков, О.Б. Оптимизация условий разделения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии недиффундирующих компонентов фотоматериалов / О.Б. Рудаков, В.В. Хрипушин, В.Ф. Селеменев // Журн. аналит. химии. - 1999. - Т. 54, № 7. - С. 699-705.
12. Оптические свойства бинарных подвижных фаз как составляющие целевые функции при оптимизации условий высокоэффективной жидкостной хроматографии гидрофобных соединений фенольного типа / О.Б.

Рудаков, В.В. Хрипушин, О.Н. Бочарова, Л.В. Рудакова // Журн. аналит. химии. - 2001. - Т. 56, № 1. - С. 44-51.

13. Рудаков, О.Б. Микроколоночная высокоэффективная жидкостная хроматография орто-замещенных производных фенола / О.Б. Рудаков, М.П. Алексюк, В.В. Коновалов // Журн. аналит. химии. - 2001. - Т. 56, № 4. - С. 351-358.

14. Рудаков, О.Б. Качественная идентификация молочного жира по хроматографическим данным / О.Б. Рудаков, К.К. Полянский, М.П. Алексюк // Журн. аналит. химии. - 2002. - Т. 57, № 12. - С. 1081-1088.

15. Некоторые аспекты влияния природы растворителя и давления на реакционную способность кремнийорганических пероксидов в реакциях термического разложения / О.Б. Рудаков, В.М. Жулин, Т.А. Сосновская, И.П. Яковлев // Изв. АН СССР. Сер. химич. - 1987. - № 7. - С. 1489-1496.

16. Рудаков, О.Б. Обобщенный критерий полярности растворителей как средство управления хроматографическим процессом / О.Б. Рудаков, И.П. Седишев // Изв. РАН. Сер. химич. - 2003. - № 1. - С. 52-59.

17. Рудаков, О.Б. Диэлектрическая проницаемость двух- и трехкомпонентных подвижных фаз, используемых в высокоэффективной жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков // Журн. физич. химии. - 1997. - Т. 71, № 12. - С. 2245-2248.

18. Рудаков, О.Б. Плотность бинарных подвижных фаз / О.Б. Рудаков, М.И. Соколов, Л.В. Рудакова // Журн. физич. химии. - 1999. - Т. 73, № 7. - С. 1303-1306.

19. Рудаков, О.Б. Вязкость бинарных подвижных фаз для высокоэффективной жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков, М.И. Соколов, В.Ф. Селеменев // Журн. физич. химии. - 1999. - Т. 73, № 9. - С. 1641-1644.

20. Рудаков, О.Б. Показатель преломления бинарных подвижных фаз для высокоэффективной жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков, В.Ф. Селеменев // Журн. физич. химии. - 1999. - Т. 73, № 12. - С. 2242-2245.

21. Рудаков, О.Б. Температура кипения бинарных подвижных фаз, применяемых для высокоэффективной жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков, О.Н. Бочарова // Журн. физич. химии. - 2000. - Т. 74, № 6. - С. 1093-1098.

22. Энергетические и спектральные характеристики Н-связей в фосфолипидах / В.Ф. Селеменев, Г.Ю. Орос, С.А. Железной, А.С. Шестаков, Т.Д. Железная, Е.Ф. Сафонова, В.М. Болотов, О.Б. Рудаков // Журн. физич. химии. - 2001. - Т. 75, № 4. - С. 653-659.
23. Обращенно-фазовая микроколоночная высокоэффективная хроматография фенолов / О.Б. Рудаков, В.Ф. Селеменев, В.В. Коновалов, О.Н. Спитченко // Журн. физич. химии. - 2002. - Т. 76, № 5. - С. 931-935.
24. Рудаков, О.Б. Влияние состава на элюирующую способность бинарных подвижных фаз в нормально-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков // Журн. физич. химии. - 2003. - Т. 77, № 12. - С. 2230-2235.
25. Рудаков, О.Б. Расчет объемов активации термических превращений триметилсилил(кумил)пероксида методом сплайн-аппроксимации / В.М. Жулин, О.Б. Рудаков, В.Л. Антоновский // Журн. физич. химии. - 2004. - Т. 78, № 7. - С. 1270-1274.
26. Рудаков, О.Б. Описание элюирующей способности бинарных подвижных фаз в нормально-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков // Журн. физич. химии. - 2004. - Т. 78, № 9. - С. 1674-1677.
27. ИК-спектроскопическое исследование keto-енольной таутомерии орто-октадецилоксибензоилметилацетата / О.Б. Рудаков, А.Н. Гольцев, Ю.В. Каплин и др. // Журн. прикладной спектроскопии. - 1991. - Т. 54, № 1. - С. 22-25.
28. Оптимизация условий определения массовой доли эвгенола методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков, Е.А. Подолина, Я.И. Коренман и др. // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2001. - Т. 1, № 1. - С. 46-52.
29. Хемометрический подход в оценке элюирующей способности подвижных фаз в ВЭЖХ / О.Б. Рудаков, В.Ф. Селеменев, И.М. Сезин и др. // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2001. - Т. 1, № 6. - С. 1053-1064.



30. Рудаков, О.Б. Оценка полярности хроматографических растворителей по обобщенным критериям / О.Б. Рудаков // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2002. - Т. 2, № 5-6. - С. 596-608.
31. Микроколоночная ВЭЖХ водноспиртовых экстрактов древесины дуба / И.В. Новикова, А.В. Данковцев, С.В. Востриков, О.Б. Рудаков, Н.В. Дроздова // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2003. - Т. 3, № 5. - С. 612-615.
32. Тетрагидрофуран - универсальный растворитель для жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков, В.Ф. Селеменев, М.И. Соколов, Л.В. Рудакова // Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. - 2003. - №2. - С. 56-65.
33. Хроматографическое определение натуральных и искусственных каротиноидов в пищевых продуктах / О.Б. Рудаков, Л.И. Перикова, В.М. Болотов, Г.А. Сташина // Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. - 2004. - № 1. - С. 78-84.
34. Фракционный состав антоциановых красителей из растительных экстрактов и контроль над ними методом ВЭЖХ / О.Б. Рудаков, А.Д. Хайрутдинова, А.П. Один, В.М. Болотов // Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. - 2004. - № 1. - С.85-93.

#### Патенты:

1. Способ получения модифицированного каротиноидного красителя из растительного сырья : пат. 2139306 Рос. Федерация, МПК С 09 В 61/00 / Болотов В.М., Магомедов Г.О., Рудаков О.Б., Комарова Е.В. ; заявитель и патентообладатель Воронеж, гос. технологич. академия. -№ 98144475/13 ; заявл. 20.07.98 ; опубл. 10.10.99, Бюл. №28. - 5 с.
2. Способ разделения фосфолипидов : пат. 2169734 Рос. Федерация, МПК С 07 F 9/09 / Селеменев В.Ф., Орос Г.Ю., Железной С.А., Рудаков О.Б. и др. ; заявитель и патентообладатель Воронеж, гос. ун-т. - № 99125174/04 ; заявл. 30.11.99 ; опубл. 27.06.01, Бюл. №18. -3 с.
3. Способ получения соли полиакриловой кислоты : пат. 2186792 Рос. Федерация, МПК С 08 F 120/06, 6/06, 6/10 / Щербань А.И., Рудаков О.Б., Алымова А.Т. и др. ; заявитель и патентообладатель ООО «Научно-

производственная фирма «Техника и информация». - № 99122178/04 ;  
заявл. 26.10.99 ; опубл. 10.08.02, Бюл. №22. - 6 с.

4. Устройство для идентификации компонентов в сложных смесях :  
пат. 2192636 Рос. Федерация, МПК G 01 N 30/46 / Рудаков О.Б., Боев  
А.И., Никитина С.Ю. и др. ; заявитель и патентообладатель Воронеж, гос.  
ун-т. - № 2001111977/28 ; заявл. 03.05.01 ; опубл. 10.11.02, Бюл. № 31. - 4  
с.

5. Способ определения гидрохинона и пирокатехина в водных рас-  
творах : пат. №2205398 Рос. Федерация, МПК G 01 N 30/02 / Харитонов  
Л. А., Коренман Я.И., Рудаков О.Б.; заявитель и патентообладатель Воро-  
неж, гос. технологич. академия. - №2001135696/28 ; заявл. 24.12.01 ;  
опубл. 27.05.03, Бюл. № 15. - 3 с.

6. Композиция для получения творожной массы «Амелия» : пат.  
2219783 Рос. Федерация, МПК А 23 С 23/00, А 23 L 1/30 / Полянский К.К.,  
Лосева В.А., Глаголева Л.Э., Смольский Г.М., Рудаков О.Б., Кузнецова  
Е.В.; заявитель и патентообладатель Воронеж, гос. технологич. академия.  
- № 2002115833/13 ; заявл. 13.06.02 ; опубл. 27.12.03, Бюл. №36. - 10 с.

7. Способ получения спирто-водорастворимого каротиноидного кра-  
сителя из растительного сырья : пат. 2221829 Рос. Федерация, МПК С 09  
В 61/00 / Перикова Л.И., Болотов В.М., Рудаков О.Б.; заявитель и патенто-  
обладатель Воронеж, гос. технологич. академия. - № 2002119910/13; за-  
явл. 22.07.02; опубл. 20.01.04, Бюл. №2. - 5 с.

Подписано в печать 1.09.2004. Формат 60x84 1/16.

Бумага офсетная. Гарнитура «Таймс». Ризография.

Усл. печ. л. 2. Тираж 100 экз. Заказ № 356

Воронежская государственная технологическая академия (ВГТА)

Участок оперативной полиграфии ВГТА

Адрес академии и участка оперативной полиграфии

394017, г. Воронеж, пр. Революции, 19



№ 16897.