

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.Н. КАРАЗІНА

БОЙЧЕНКО ОЛЕКСАНДР ПАВЛОВИЧ

УДК 543.544.5.068.7+543.08

МОДЕЛЮВАННЯ УТРИМУВАННЯ ТА ОПТИМІЗАЦІЯ РОЗДІЛЕННЯ
У МІЦЕЛЯРНІЙ РІДИННІЙ ХРОМАТОГРАФІЇ

02.00.02 – Аналітична хімія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата хімічних наук

Харків – 2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Харківському національному університеті імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України.

Науковий керівник:

доктор хімічних наук, професор

ЛОГІНОВА ЛІДІЯ ПАВЛІВНА

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна,
м. Харків, завідувач кафедри хімічної метрології

Офіційні опоненти:

доктор хімічних наук, професор

ЗАЙЦЕВ ВОЛОДИМИР МИКОЛАЙОВИЧ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
завідувач кафедри аналітичної хімії

доктор хімічних наук, професор

БОЛОТОВ ВАЛЕРІЙ ВАСИЛЬОВИЧ

Національний фармацевтичний університет
Міністерства охорони здоров'я України, м. Харків,
завідувач кафедри аналітичної хімії

Захист відбудеться «___» _____ 2008 р. о ___ год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.051.14 Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна (Україна, 61077, м. Харків, пл. Свободи, 4, ауд. 7-80).

З дисертацією можна ознайомитись у Центральній науковій бібліотеці Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна (Україна, 61077, м. Харків, пл. Свободи, 4).

Автореферат розісланий «___» _____ 2008 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

кандидат хімічних наук

В.Г. Панченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми

Міцелярні розчини поверхнево-активних речовин (ПАР) виявились настільки ефективними і своєрідними елюентами для рідинної хроматографії, що їх впровадження призвело до формування окремого напрямку розвитку високоефективної рідинної хроматографії – міцелярної рідинної хроматографії (МРХ). Привабливість МРХ для практики хімічного аналізу пов'язана перш за все з кращою відтворюваністю методик хроматографічних визначень та зменшенням витрат небезпечних органічних розчинників, що відповідає принципам «Зеленої хімії» і робить аналіз більш дешевим. Вдосконалення та поширення методу пов'язане як з хімічною проблематикою – пошуком та вивченням нових хроматографічних фаз, так і з розробкою та впровадженням сучасних хемометричних прийомів оптимізації хроматографічного розділення. На сьогодні проблема оптимізації хроматографічного розділення є актуальною для високоефективної рідинної хроматографії в цілому. Особливої складності вона набуває в МРХ, оскільки теорію розділення не сформовано остаточно, а відомі в обернено-фазовій високоефективній рідинній хроматографії (ОФ-ВЕРХ) прийоми оптимізації мають лише обмежене застосування в МРХ, внаслідок специфічного змінювання селективності та ефективності за використання міцелярних елюентів. Таким чином, розробка методів оптимізації розділення в МРХ є актуальною і сприятиме цілеспрямованій розробці нових методик визначень і контролю якості фармацевтичних препаратів, продуктів харчування, біологічних об'єктів та ін. у відповідності з європейськими нормами.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційну роботу виконано у відповідності з планами НДР кафедри хімічної метрології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна: «Визначення, теоретичні оцінки та застосування в хімічному аналізі характеристик гідрофобності органічних сполук» № ДР 0104U000662; «Керування хімічними рівновагами у гетерогенних та мікрогетерогенних середовищах, перспективних для тестових та гібридних методів аналізу» № ДР 0103U004212; «Управління процесами на міжфазних границях і оптимізація умов у гібридних методах аналізу» № ДР 0106U003109. Робота була складовою частиною НДР № 17-05 «Інформаційні технології та комп'ютерні засоби прогнозування властивостей хімічних речовин» Фонду фундаментальних, прикладних та пошукових науково-дослідних робіт Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна; НДР за програмою INTAS-Україна «Керування розділенням у гібридному аналізі біологічно-активних речовин та лікарських засобів з використанням мікрогетерогенних рухомих фаз» № 06-1000019-5962.

Мета і завдання дослідження.

Мета: створити комплекс хімічних та хемометричних засобів оптимізації розділення в міцелярній рідинній хроматографії.

Завдання:

1) дослідити та протестувати на експериментальних даних фізико-хімічну модель утримування в МРХ, що базується на квазіхімічній концепції міцелоутворення;

- 2) одержати експериментальні залежності відтворюваності утримування в МРХ від природи аналітів та складу міцелярного елюенту;
- 3) зіставити описуючі та прогностичні можливості моделей утримування в МРХ та обрати кращу модель як основу оптимізації хроматографічного розділення;
- 4) розробити хемометричні засоби оптимізації розділення в МРХ, що дозволять одночасно досягти кращих характеристик, пов'язаних з якістю розділення, тривалістю та робастністю розділення складних сумішей аналітів;
- 5) поширити асортимент модифікаторів міцелярних елюентів та порівняти їх з традиційними модифікаторами на прикладі розділення похідних амінокислот.

Об'єкт дослідження: утримування аналітів в міцелярній рідинній хроматографії.

Предмет дослідження: відтворюваність характеристик утримування в МРХ та їх залежності від складу міцелярного елюенту; нові модифікатори та оптимальний склад міцелярних елюентів, прийоми оптимізації.

Методи дослідження: міцелярна рідинна хроматографія, потенціометричне титрування для кількісної характеристики властивостей нових модифікаторів міцелярних елюентів; дисперсійний аналіз для вивчення відтворюваності фактору утримування в міцелярній рідинній хроматографії; методи планування експерименту та хемометрики для розробки підходу до оптимізації хроматографічного розділення.

Наукова новизна одержаних результатів

1. Вперше експериментально одержано скедастичні залежності характеристик утримування в МРХ та доведено гетероскедастичність фактору утримування. На цій основі впроваджено використання статистичних ваг для адекватного моделювання в МРХ.
2. Одержано, обґрунтовано та протестовано нову просту евристичну трипараметричну модель утримування в МРХ.
3. Створено хемометричний підхід, який дозволяє одночасно оптимізувати селективність розділення, тривалість та робастність розділення.
4. Вперше запропоновано нові модифікатори міцелярних елюентів – середньоланцюгові аліфатичні карбонові кислоти
5. Вперше на прикладі розділення 2,4-динітрофенільних похідних амінокислот продемонстровано переваги карбонових кислот як модифікаторів міцелярних елюентів порівняно з іншими модифікаторами.
6. Вперше кількісно охарактеризовано вплив міцел додецилсульфату натрію на кислотно-основні властивості середньоланцюгових аліфатичних карбонових кислот.

Практичне значення одержаних результатів. Запропонований хемометричний підхід до оптимізації розділення реалізовано в середовищі програмного пакету Matlab 7.0 та призначено для пошуку оптимальних умов розділення в МРХ. Він дозволяє уникнути методу «проб та помилок» при

розробці методик аналізу зі застосуванням МРХ та більш швидко знаходити оптимальні умови, що дозволяють розділити усі необхідні аналіти за прийнятний проміжок часу. Експериментально отримані дані про гетероскедастичність забезпечують введення статистичних ваг фактору утримування і тим самим поліпшують якість моделювання утримування та залежностей утримування-гідрофобність за даними МРХ. Аліфатичні карбонові кислоти рекомендовано використовувати як нові модифікатори і регулятори кислотності міцелярних рухомих фаз при розділенні сумішей речовин кислотного характеру, що дозволяє зменшити кількість компонентів рухомої фази. З використанням аліфатичних карбонових кислот, як модифікаторів міцелярних елюентів на основі додецилсульфату натрію, отримано найкращі на сьогодні результати ізократичного розділення похідних амінокислот методом МРХ. Отримані в дисертаційній роботі результати дозволяють поширити область використання МРХ в хімічному аналізі складних сумішей аналітів.

Особистий внесок здобувача. Аналіз літературних даних, планування та обробка експериментальних даних, частина експериментальних досліджень, розробка хемометричного підходу до оптимізації розділення виконані здобувачем особисто. Постановка мети досліджень, формулювання висновків та узагальнення одержаних результатів здійснювались дисертантом разом з науковим керівником. Автор висловлює подяку с.н.с. Кулікову А.Ю. (ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», м. Харків) та Іващенко А.Л. (АТ «Стома») за допомогу при проведенні експерименту та виконанні низки хроматографічних розділень.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційної роботи були оприлюднені на VI Всеукраїнській конференції студентів та аспірантів «Сучасні проблеми хімії» (Київ, 2005); міжнародній конференції «Instrumental Methods of Analysis. Modern Trends and Applications» (Іракліон, Крит, Греція, 2005); II міжнародному симпозиумі «Методи хімічного аналізу» (Ужгород, 2005); міжнародній конференції «Analytical Chemistry and Chemical Analysis» (Київ, 2005); міжнародному конгресі «International Congress on Analytical Sciences» (Москва, Росія, 2006); міжнародній конференції «Modern Physical Chemistry for Advanced Materials» (Харків, 2007); міжнародному конгресі «41st IUPAC World Chemistry Congress» (Турін, Італія, 2007); міжнародній конференції «4th Black Sea Basin conference on analytical chemistry» (Сонячний Берег, Болгарія, 2007).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи надруковано 20 робіт, з них 8 статей в українських та міжнародних журналах та 12 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації: дисертація складається зі вступу, п'яти розділів та списку використаних джерел. Загальний обсяг дисертації складає 150 сторінок. Дисертація містить 28 рисунків, 20 таблиць та список цитованої літератури з 217 найменувань.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

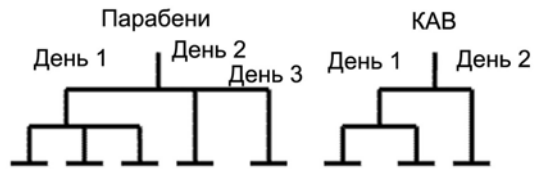
У **вступі** обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мета та завдання роботи, зазначено наукову новизну та практичну значимість отриманих результатів.

У **першому розділі** приведено відмінності МРХ від обернено-фазової рідинної хроматографії, зумовлені застосуванням в якості рухомих фаз міцелярних розчинів ПАР, що містять невеликі доданки органічних розчинників, та динамічно модифікують стаціонарну фазу. Описано відомі підходи до моделювання утримування в МРХ, що базуються на псевдофазній та квазіхімічній концепції міцелоутворення. Показано, що в відомих моделях утримування як залежну змінну використовують різні функції фактору утримування, що створює проблеми при тестуванні та порівнянні моделей. Проаналізовано відомі хімічні засоби, що застосовуються для оптимізації розділення в МРХ. Показано, що на практиці модифікаторами міцелярних рухомих фаз виступають в основному спирти, тому доцільно як поширити асортимент модифікаторів, так і кількісно охарактеризувати їх модифікуючу дію. Аналіз відомих програмних продуктів та підходів до оптимізації розділення показав, що для розвитку засобів оптимізації в МРХ необхідно: (i) шукати більш універсальну модель утримування як основу для оптимізації селективності; (ii) створити хемометричний підхід, що забезпечує оптимізацію розділення не тільки за селективністю, але й за такими важливими для практики характеристиками як робастність розділення та час хроматографування; (iii) реалізувати підхід у вигляді програмних продуктів для вільного користування; (iv) випробувати підхід на експериментальних даних по розділенню складної суміші аналітів.

У **другому розділі** обґрунтовано вибір ПАР та модифікаторів для міцелярних елюентів, що були застосовані в експериментальній частині роботи. Наведено обладнання, реактиви, методики та умови хроматографічних розділень та потенціометричних вимірювань. Наведено програмні продукти, які використовували для обробки хроматографічних та потенціометричних даних та для програмної реалізації хемометричного підходу до оптимізації умов хроматографування.

У **третьому розділі** наведено результати дослідження відтворюваності та збіжності факторів утримування в МРХ за планом експерименту, наведеним на рис. 1. На даних по розділенню 4 парабенів та 7 конденсованих ароматичних вуглеводнів (КАВ) вперше одержано експериментальні оцінки дисперсій фактору утримування (внутрішньо-, міжгрупову та міжденну складові), побудовано та проаналізовано скедастичні залежності (рис. 2, 3). Аналіз дисперсій за постійного складу рухомої фази виявив однорідність внутрішньо- та міжгрупових дисперсій фактору утримування парабенів та значимість міжденної складової дисперсії.

Рис. 1. План експерименту для дослідження збіжності та відтворюваності фактору утримування



Внутрішньогрупова дисперсія факторів утримування КАВ має значно нижчі значення, ніж у випадку парабенів, що дозволило виявити міжгрупову складову дисперсії.

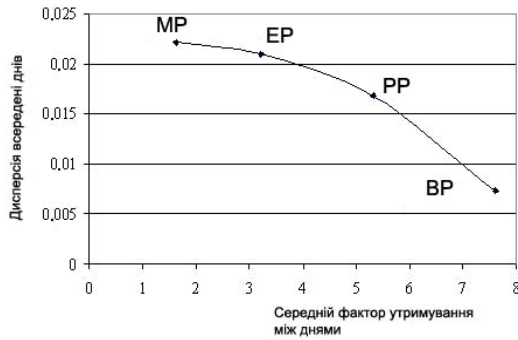


Рис. 2. Скедастична залежність дисперсії фактору утримування парабенів протягом дня

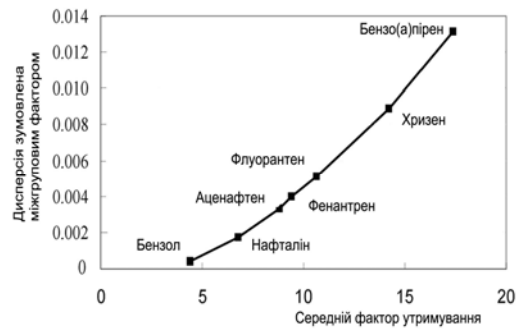
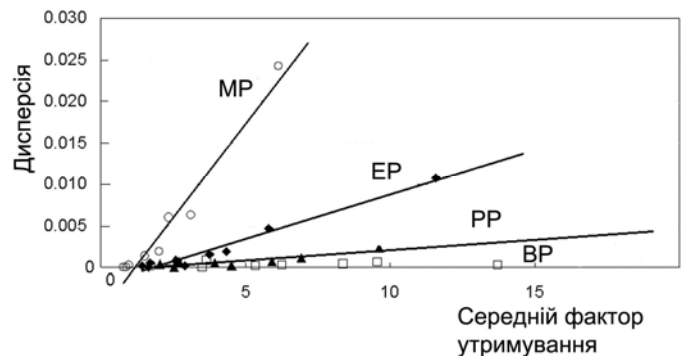


Рис. 3. Скедастична залежність дисперсії фактору утримування КАВ, що зумовлена міжгруповим фактором

При варіюванні складу рухомої фази виявлено, що дисперсія фактору утримування кожного з парабенів збільшується лінійно зі зростанням фактору утримування при зменшенні елюючої сили. Кут нахилу таких скедастичних залежностей зменшується в ряду $MP > EP > PP$ та близький до нуля у випадку BP (рис. 4). Внутрішньогрупова дисперсія фактору утримування зменшується з посиленням гідрофобності в гомологічному ряду парабенів та з переходом від парабенів до групи КАВ. Таким чином, дисперсії залежать від значення фактору утримування, і вигляд скедастичних кривих залежить як від природи аналіту, так і від складу рухомої фази.

Рис. 4. Залежність внутрішньогрупової дисперсії фактору утримування парабенів від значення фактору утримування за варіювання складу рухомої фази



Використання експериментально визначених дисперсій фактору утримування дозволяє застосувати зважений метод найменших квадратів для моделювання в МРХ. Проведене тестування основного рівняння фізико-хімічної моделі утримування, що базується на квазіхімічній концепції міцелоутворення, дозволило запропонувати нову евристичну модель утримування:

$$\lg k = a + b \lg c_s + c \lg c_R, \quad (1)$$

де c_S та c_R – загальні концентрації ПАР та модифікатора в елюенті, відповідно.

Запропоновану модель порівняно з відомими рівняннями з використанням звичайного та зваженого методу найменших квадратів, в останньому випадку статистичні ваги обчислювали за експериментальними даними про дисперсію фактору утримування: (1) – $1/k = a + bc_S + c\varphi$; (2) – $1/k = a + bc_S + c\varphi + dc_S\varphi + ec_S\varphi^{0.5}$; (3) – $1/k = a + bc_S + c\varphi + dc_S\varphi + ec_S\varphi^2$; (4) – $1/k = a + bc_S + c\varphi + dc_S\varphi + ec_S^2 + f\varphi^2$; (5) – $\lg k = a + bc_S + c\varphi$, де φ – об'ємна частка модифікатора. Якість опису оцінювали за приведеним коефіцієнтом кореляції, прогностичну здатність – за крос-валідованим коефіцієнтом кореляції. Встановлено, що модель (1) краще описує експериментальні дані утримування в МРХ, ніж інші відомі рівняння з такою ж кількістю параметрів та має більшу прогностичну здатність, ніж рівняння з більшою кількістю параметрів.

У четвертому розділі показано, як застосування хемометричних прийомів оптимізації може привести до висновків про необхідність пошуку модифікаторів серед речовин іншого класу. Ця проблема виникла в процесі поширення МРХ в область аналізу амінокислот, яка залишається актуальною для сучасної аналітичної хімії. При використанні симплексу для оптимізації розділення 2,4-динітрофенільних похідних (2,4-ДНФ) амінокислот з використанням рухомих фаз на основі додецилсульфату натрію встановлено, що спирти як модифікатори не забезпечують бажаного розділення. Корисною альтернативою аліфатичним спиртам виявились аліфатичні карбонові кислоти з кількістю атомів Карбону від 2 до 6, що поєднують дві функції: рН-підтримуючу та модифікуючу щодо міцел ПАР. Елюююча сила гібридних міцелярних елюентів на основі додецилсульфату натрію та аліфатичних карбонових кислот збільшується в ряду: оцтова < 1-пропіонова < 1-бутанова < 1-пентанова < 1-гексанова, що корелює з посиленням зв'язування кислот міцелами додецилсульфату натрію (рис. 5). Карбонові кислоти як модифікатори міцелярних елюентів, що містять додецилсульфат натрію, забезпечують такий же рівень ефективності та асиметрії піків, як і аліфатичні спирти, що видно з прикладів в табл. 1, але змінюють селективність розділення (рис. 5, табл. 2).

Таблиця 1

Ефективність (N) та асиметрія хроматографічних піків

Модифікатор	ДНФ-гліцин		ДНФ- метіонін		ДНФ-лізин	
	N	Асиметрія	N	Асиметрія	N	Асиметрія
оцтова кислота	4397	0.71	6129	0.89	5436	0.85
етанол	5752	1.01	6288	0.88	5338	0.84
пропіонова кислота	3079	1.09	6401	0.92	5226	0.86
1-пропанол	5395	1.06	5783	0.93	5319	0.89
1-бутанова кислота	3345	1.03	6866	0.96	5474	0.89
1-бутанол	5261	1.12	5757	0.97	5420	0.88
1-пентанова кислота	5927	1.13	5782	0.99	5612	0.92
1-пентанол	4659	1.28	6974	1.02	5599	0.95
1-гексанова кислота	3958	1.19	5259	1.03	5572	0.95
1-гексанол	3284	1.28	5119	1.09	5725	0.97

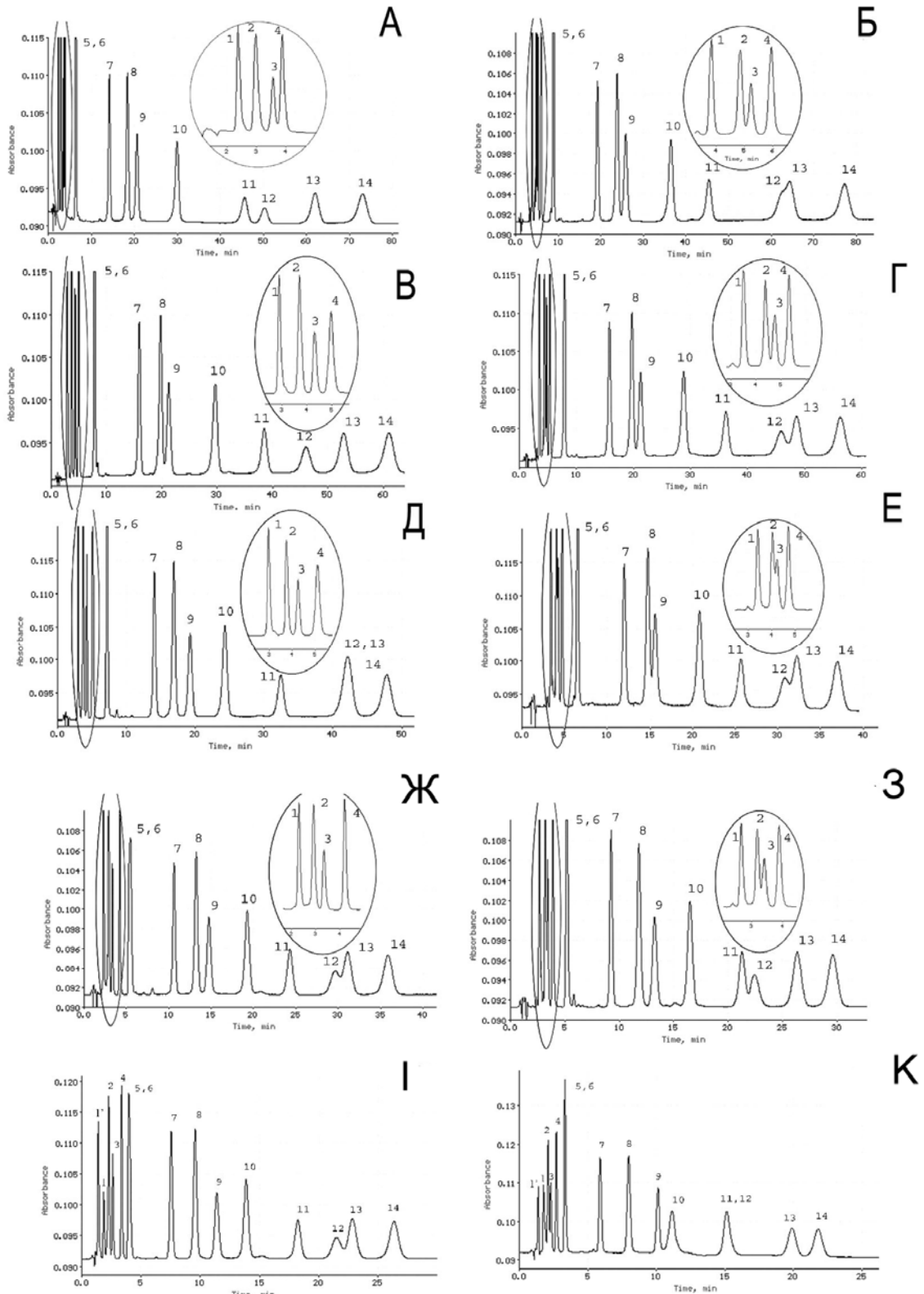


Рис. 5. Хроматограма розділення 1-флуоро-2,4-динітробензолу (5) та 2,4-ДНФ-амінокислот: (1,1') аспарагінової, (2) глютамінової, (3) треоніну, (4) гліцину, (6) проліну, (7) метіоніну, (8) валіну, (9) триптофану, (10) лейцину, (11) гістидину, (12) ДНФ₂-тирозину, (13) аргініну, (14) лізину. Рухомі фази: 0.05 М ДСН і 2.6 М оцтової кислоти (А) чи етанолу (Б), рН 2.04; 0.80 М 1-пропіонової кислоти (В) чи 1-пропанолу (Г), рН 2.20; 0.33 М 1-бутанової кислоти (Д) чи 1-бутанолу (Е), рН 2.56; 0.14 М 1-пентанової кислоти (Ж) чи 1-пентанолу (З), рН 3.06; 0.080 М 1-гексанової кислоти чи 1-гексанолу (К), рН 3.22.

Фактори розділення (α)* та ступені розділення (R_S)** піків 2,4-ДНФ-амінокислот, що перекриваються

Модифікатор	ДНФ-глютамінова кис. ДНФ-треонін	ДНФ-треонін ДНФ-гліцин	ДНФ-валін ДНФ-триптофан	ДНФ-триптофан ДНФ-лейцин	ДНФ-гістидин ДНФ-тирозин	ДНФ ₂ -тирозин ДНФ-аргінін
	α / R_S					
1-бутанова кислота	1.12/1.25	1.27/2.86	1.15/2.53	1.28/4.42	1/0	1.31/4.58
1-бутанол	1.07/0.61	1.15/1.45	1.06/1.03	1.36/5.20	1.21/1.29	1.05/0.32
1-пентанова кислота	1.24/1.93	1.39/3.87	1.12/2.00	1.33/4.94	1.23/4.23	1.05/0.89
1-пентанол	1.11/0.98	1.21/2.08	1.13/2.11	1.27/4.08	1.06/0.90	1.18/2.66
1-гексанова кислота	1.26/1.68	1.47/3.68	1.21/3.12	1.24/3.56	1.19/2.61	1.07/0.94
1-гексанол	1.19/1.06	1.31/2.07	1.43/5.59	1.31/5.15	1/0	1.34/4.89

* $\alpha = k_i / k_{i-1}$;

** $R_S = 2(t_{R,i} - t_{R,i-1}) / (w_{b,i} + w_{b,i-1})$; $w_{b,i}$ та $w_{b,i-1}$ ширина піків на половині висоти.

У п'ятому розділі запропоновано новий хемометричний підхід до оптимізації розділення в МРХ, основу якого склала проста трипараметрична модель утримування (рівняння (1)). Для оптимізації умов розділення за якістю, робастністю та тривалістю розділення обрано наступні критерії: (i) для оцінки розділення на хроматограмі – елементарний критерій $S_{i,i+1} = (k_{i+1} - k_i) / (k_i + k_{i+1} + 2)$ та глобальний критерій – нормалізований на середнє добуток елементарних критеріїв; (ii) для оцінки робастності розділення – середнє значення зміни глобального критерію розділення аналітів; (iii) для оцінки тривалості хроматографування – фактор утримування останнього піка. Три критерії оптимізації нормалізовано за допомогою функції бажаності Деррінжера:

$$\left. \begin{cases} D_{\text{norm } j} = 0 & \text{для } D_j \text{ "менше ніж" } D_{ju}; \\ D_{\text{norm } j} = 1 & \text{для } D_j \text{ "більше ніж" } D_{jd}; \\ D_{\text{norm } j} = (D_j - D_{ju}) / (D_{jd} - D_{ju}) & \text{за } D_{ju} < D_j < D_{jd}. \end{cases} \right\} \quad (2)$$

де $D_{\text{norm},j}$ – нормалізоване значення глобального розділення, R_{norm} , часу розділення, T_{norm} , або робастності, $R_{\text{ugg}_{\text{norm}}}$, що розраховується для кожної точки, на які розбито простір змінних; D_{ju} , D_{jd} – лімітуючі значення, що відповідають прийнятній величині критерію, або неприйнятній, відповідно.

Оптимізація базується на експериментальних даних про утримування аналітів, одержаних за планом факторного експерименту, даних про статистичні ваги факторів утримування та бажаних значеннях критеріїв оптимізації. Побудований алгоритм процедури оптимізації реалізовано в середовищі Matlab з використанням вбудованих розрахункових модулів (Схема). Результати оптимізації подаються у вигляді поверхні та контурної мапи залежності хроматографічної функції відгуку (*CRF*) від складу рухомої фази. За обраним оптимальним складом рухомої фази прогнозується хроматограма розділення суміші аналітів.

Хеометричний підхід успішно протестовано на прикладі оптимізації розділення 14 консервантів продуктів харчування (MP, EP, PP, BP – метиловий, етиловий, пропіловий та бутиловий естери 4-гідроксибензойної кислоти; BA – бензойна кислота; SA – сорбінова кислота; 2HBA – 2-гідроксибензойна кислота; 4HBA – 4-гідроксибензойна кислота; BAL – бензиловий спирт; MB, EB, PB, BB, PhB – метил-, етил-, пропіл, бутил- та фенілбензоати).

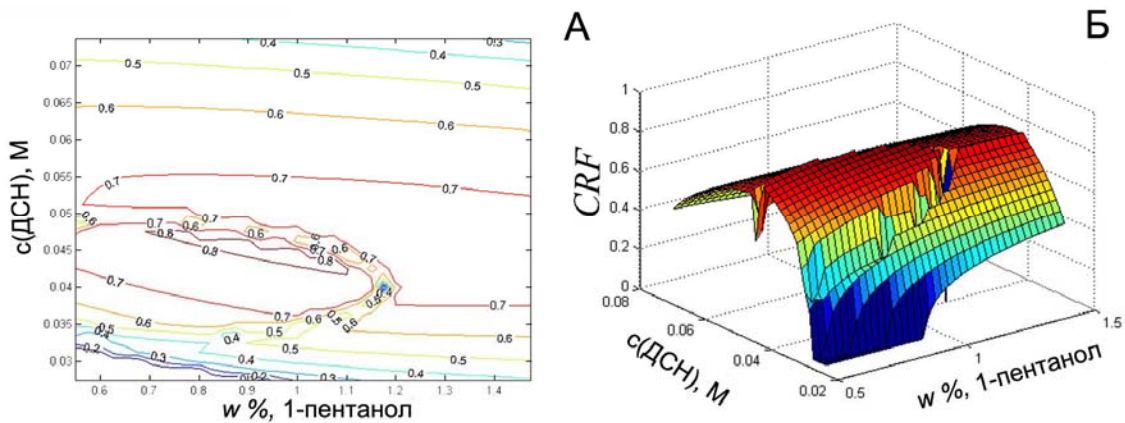


Рис. 6. Контурна мапа та поверхня залежності *CRF* від складу елюенту

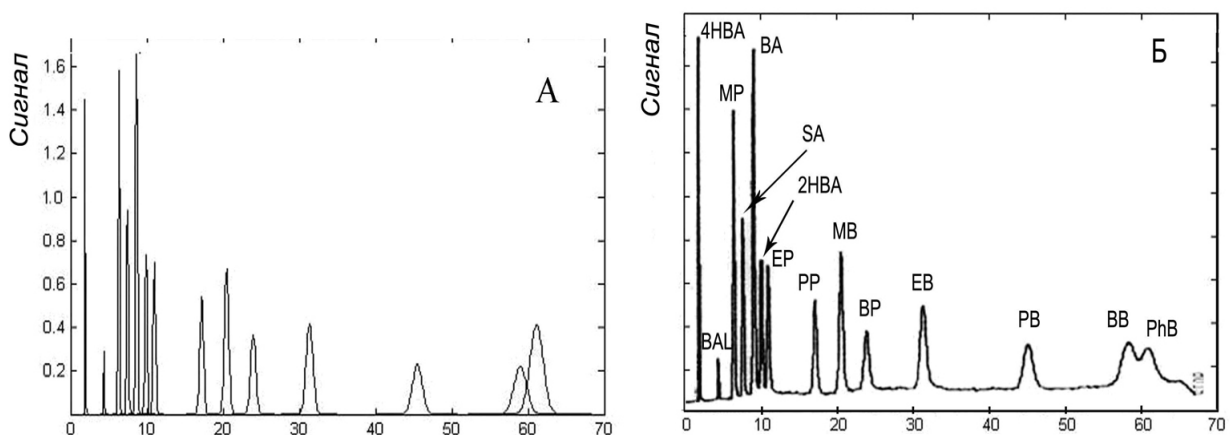
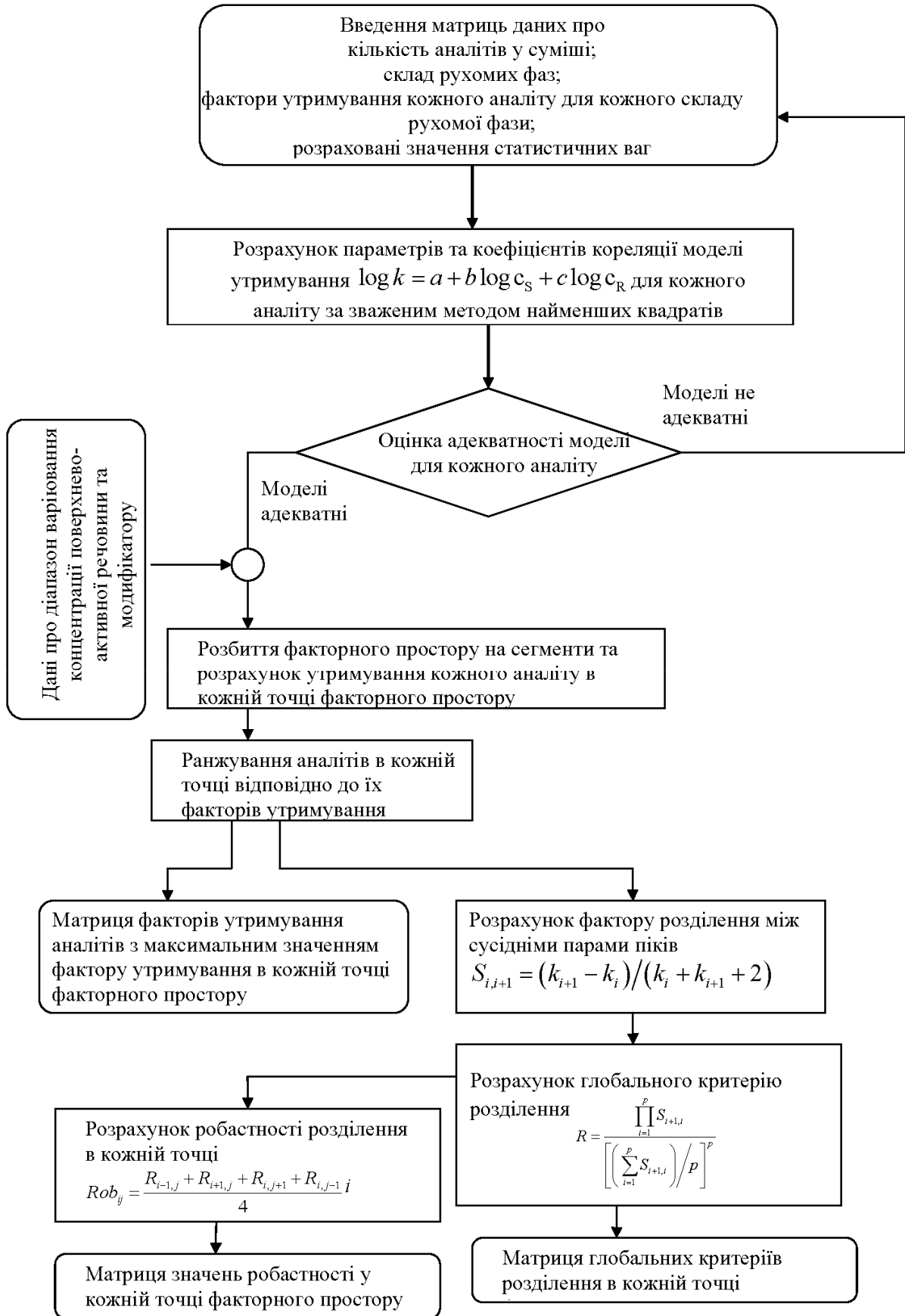
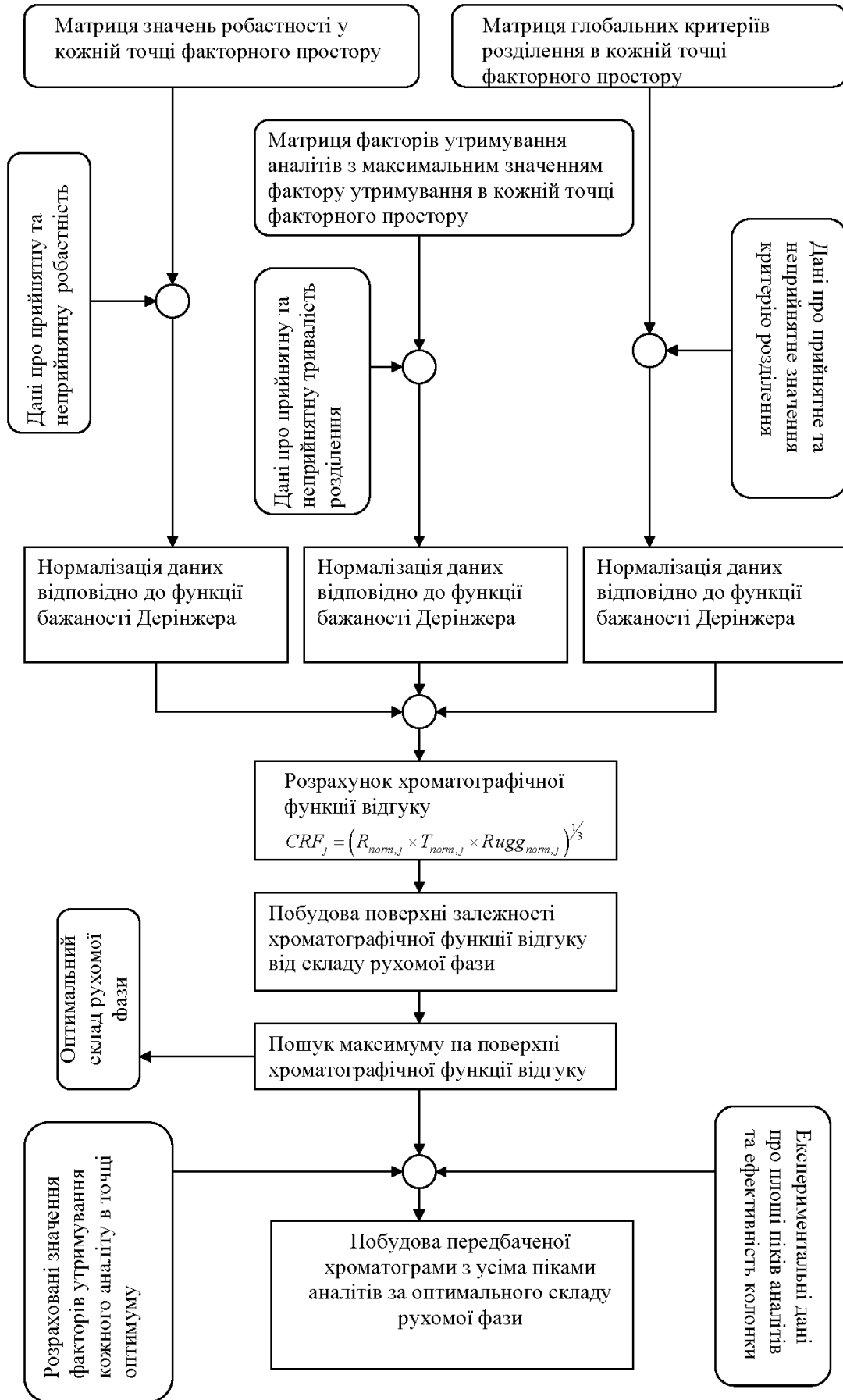


Рис. 7. Передбачена (А) та експериментальна (Б) хроматограми розділення 14 консервантів за оптимальних умов розділення (рухома фаза: 0.045 М ДСН, 1 % 1-пентанолу (за об'ємом), рН 2.55 0.1 % CCl_3COOH)

Схема алгоритму оптимізації розділення в МРХ



продовження Схеми алгоритму оптимізації розділення в МРХ



Як видно з рис. 6, оптимальний склад рухомої фази, що забезпечує компроміс між тривалістю та селективністю розділення, а також високу стійкість розділення за зміни у складі рухомої фази, обмежено горизонтальним контуром 0.8.

В оптимальній області обрано склад рухомої фази, для якого спрогнозовано хроматограму (рис. 7А). Вона добре узгоджується з експериментально одержаною хроматограмою (рис. 7Б), що свідчить про надійність запропонованого хемометричного підходу до оптимізації в МРХ.

ВИСНОВКИ

Створено комплекс нових хімічних та хемометричних засобів для оптимізації розділення сумішей аналітів в міцелярній рідинній хроматографії, який включає: (i) нову евристичну модель утримування; (ii) дані про відтворюваність фактору утримування, що забезпечують адекватність моделювання; (iii) набір критеріїв, алгоритм та програмну реалізацію процедури оптимізації; (iv) нові ефективні модифікатори міцелярних рухомих фаз на основі додецилсульфату натрію.

1. Нова евристична модель утримування витікає з запропонованої раніше фізико-хімічної моделі утримування в МРХ, що базується на квазіхімічній концепції міцелоутворення. Модель краще описує експериментальні дані утримування в МРХ, ніж інші відомі рівняння з такою ж кількістю параметрів, та має більшу прогностичну здатність, ніж відомі рівняння з більшою кількістю параметрів.

2. Адекватність моделювання фактору утримування досягається врахуванням статистичних ваг на основі експериментальних даних про відтворюваність факторів утримування. Експериментальні дані про відтворюваність утримування 4 парабенів та 7 конденсованих ароматичних вуглеводнів свідчать про неоднорідність дисперсій фактору утримування в МРХ. Дисперсії залежать від значення фактору утримування, і вигляд скедастичних кривих залежить як від природи аналіту, так і від складу рухомої фази.

3. Нова евристична модель склала основу хемометричного підходу до оптимізації розділення у МРХ, сутність якого полягає в (i) зборі експериментальних даних відповідно до плану експерименту; (ii) моделюванні утримування кожного компоненту суміші; (iii) оцінці якості розділення; (iv) оцінці робастності розділення; (v) врахуванні часу розділення як одного з критеріїв оптимізації; (vi) комбінуванні трьох характеристик розділення, пов'язаних з якістю розділення, часом розділення та робастністю в одне числове значення за допомогою функції Деррінжера та побудові поверхні критичної функції відгуку; (vii) пошукові на цій поверхні оптимальних умов хроматографування. Підхід забезпечує раціональний план попереднього експерименту та скорочує пошук прийнятних умов розділення.

4. Аліфатичні карбонові кислоти з кількістю атомів Карбону від 2 до 6 можуть виступати модифікаторами міцелярних елюентів на основі ДСН, та

корисною альтернативою традиційним модифікаторам – аліфатичним спиртам, і поліпшувати ефективність і форму піків. Заміна спиртів на кислоти дозволяє зменшити кількість компонентів у міцелярному елюенті при розділенні аналітів кислотного характеру. Міцелярні рухомі фази, що містять ДСН та аліфатичні карбонові кислоти, забезпечують кращі результати ізократичного розділення похідних амінокислот методом МРХ, ніж відомі розробки.

5. Елюююча сила гібридних міцелярних елюентів на основі ДСН та аліфатичних карбонових кислот збільшується у ряду: оцтова < 1-пропанова < 1-бутанова < 1-пентанова < 1-гексанова, що корелює з ефектами зміни протолітичних властивостей кислот в міцелярних розчинах ДСН.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ З ТЕМИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Бойченко А.П.** Воспроизводимость фактора удерживания в мицелярной жидкостной хроматографии / **А.П. Бойченко**, А.Л. Иващенко // Вісник Харк. нац. ун-ту, Серія Хімія. Вип. 13(36). — 2005. — С. 107-118.

Здобувачем сплановано експериментальне вивчення відтворюваності та збіжності факторів утримування парабенів та конденсованих поліароматичних вуглеводнів за використання рухомої фази постійного складу, оброблено експериментальні дані, взято участь в обговоренні результатів, формулюванні висновків та у підготовці тексту статті.

2. Loginova L.P. Micellar liquid chromatography retention model based on mass-action concept of micelle formation / Lidia P. Loginova, Larisa V. Samokhina, **Alexander P. Boichenko**, Artem U. Kulikov // J. Chromatogr. A — 2006. — Vol. 1104. — P. 190-197.

Здобувачем проведено статистичну обробку експериментальних даних та запропоновано просту евристичну модель утримування в міцелярній рідинній хроматографії, взято участь в обговоренні результатів та у підготовці тексту статті.

3. **Boichenko A.P.** New approach to modeling in micellar liquid chromatography / **Alexander P. Boichenko**, Lidia P. Loginova, Anna L. Iwashchenko, Artem U. Kulikov // Res. J. Chem. Environ. — 2006. — Vol. 10. — P. 53-62.

Здобувачем заплановано експериментальні дослідження по вивченню відтворюваності факторів утримування парабенів за використання рухомих фаз різного складу, виконано дисперсійний аналіз, взято участь в обговоренні результатів, формулюванні висновків та у підготовці тексту статті.

4. **Boichenko A.P.** Heteroscedasticity of retention factor and adequate modeling in micellar liquid chromatography / **Alexander P. Boichenko**, Anna L. Iwashchenko, Lidia P. Loginova, Artem U. Kulikov // Anal. Chim. Acta — 2006. — Vol. 576. — P. 229-238.

Здобувачем проведено обробку експериментальних даних, проаналізовано критерії для оцінки адекватності моделей утримування в міцелярній рідинній хроматографії, запропоновано використання статистичних ваг для моделювання утримування та залежностей утримування-гідрофобність в

міцелярній хроматографії, взято участь в обговоренні результатів, формулюванні висновків та у підготовці тексту статті.

5. **Бойченко А.П.** Алифатические карбоновые кислоты как новые модификаторы для разделения 2,4-динитрофенильных производных аминокислот методом мицелярной жидкостной хроматографии / А.П. Бойченко, А.Ю. Куликов, Л.П. Логинова // Вісник Харк. нац. ун-ту, Серія Хімія. Вип. 14(37). — 2006. — С. 101-111.

Здобувачем сплановано експеримент по оптимізації розділення 2,4-динітрофенільних похідних амінокислот з використанням рухомих фаз на основі додецилсульфату натрію, модифікованих 1-пропанолом, проведено відповідні експериментальні дослідження, обґрунтовано застосування алифатичних карбонових кислот як модифікаторів мицелярних елюентів, взято участь в обговоренні результатів, написанні висновків та у підготовці тексту статті.

6. **Boichenko A.P.** Aliphatic carboxylic acids as new modifiers for separation of 2,4-dinitrophenyl amino acids by micellar liquid chromatography / **Alexander P. Boichenko**, Artem U. Kulikov, Lidia P. Loginova, Anna L. Iwashchenko // J. Chromatogr. A — 2007. — Vol. 1157. — P. 252-259.

Здобувачем прийнято участь в плануванні та проведенні експерименту, оброблено експериментальні дані по розділенню 2,4-динітрофенільних похідних амінокислот з використанням 6 карбонових кислот та 6 спиртів. Проведено експериментальні дослідження констант іонізації алифатичних карбонових кислот (C2-C6) у водних та мицелярних розчинах додецилсульфату натрію, взято участь в обговоренні результатів, формулюванні висновків та у підготовці тексту статті.

7. Loginova L.P. MLC determination of preservatives in cranberry foodstuffs / Lidia P. Loginova, Artem U. Kulikov, Elena Y. Yakovleva, **Alexander P. Boichenko** // Chromatographia — 2008. — Vol. 67. — P. 615-620.

Здобувачем розроблено хемометричний підхід до оптимізації розділення в мицелярній рідинній хроматографії та застосовано його для знаходження оптимальних умов розділення 14 консервантів, прийнято участь в підготовці тексту статті.

8. **Boichenko A.P.** Micellar liquid chromatography (Review). Part 1. Fundamentals, retention models and optimization of separation / **A.P. Boichenko**, L.P. Loginova, A.U. Kulikov // Методы и объекты химического анализа — 2007. — Т. 2, № 2 — С. 92-116.

Здобувачем зібрано та критично проаналізовано літературні дані по моделюванню утримування та оптимізації розділення в мицелярній рідинній хроматографії. Прийнято участь в написанні статті.

9. **Boichenko A.P.** Statistical testing of adequacy and prediction capability of retention models in micellar liquid chromatography / **Alexander P. Boichenko**, Lidia P. Loginova, Anna L. Iwashchenko, Artem Y. Kulikov // Тези доп. Міжнар. конф. «Instrumental Methods of Analysis. Modern Trends and Applications» — Іракліон, Крит, Греція. — 2005. — P. 487.

Здобувачем проаналізовано підходи до оцінки якості опису експериментальних даних.

10. Логинова Л.П. Адекватность и предсказательная способность моделей удерживания в мицеллярной жидкостной хроматографии / Логинова Л.П., **Бойченко А.П.**, Иващенко А.Л., Куликов А.Ю. // Тезисы докл. II Междунар. симпозиума «Методы химического анализа» — Ужгород. — 2005. — С. 4-5.

Здобувачем побудовано скедастичні залежності фактору утримування та визначено шляхи їх застосування для моделювання в хроматографії.

11. Логинова Л.П. Простая математическая модель удерживания в мицеллярной жидкостной хроматографии / Логинова Л.П., **Бойченко А.П.** // Тези доп. VI Всеукраїнської конференції студентів та аспірантів «Сучасні проблеми хімії» — Київ. — 2005. — С. 150.

Здобувачем запропоновано нову просту евристичну модель утримування в міцеллярній рідинній хроматографії. Підготовлено усну доповідь.

12. Loginova L.P. Estimation of retention model adequacy in micellar liquid chromatography / L.P. Loginova, **A.P. Boichenko** // Тези доп. Міжнар. конф. «Analytical chemistry & chemical analysis». — Київ. — 2005. — С. 45.

Здобувачем на експериментальних даних по розділенню 4 парабенів та 7 конденсованих ароматичних вуглеводнів протестовано прогностичну та описуючу здатність ряду моделей утримування в міцеллярній рідинній хроматографії, застосовано статистичні ваги для моделювання утримування в міцеллярній рідинній хроматографії та запропоновано використання приведенного коефіцієнту кореляції та крос-валідованого коефіцієнту кореляції для оцінки описуючої та прогностичної здатності моделей в міцеллярній хроматографії. Підготовлено стендову доповідь.

13. Loginova L.P. New Retention Model in Micellar Liquid Chromatography / Loginova L.P., Kulikov A.Yu., Samokhina L.V., **Boichenko A.P.** // Тези доп. Міжнар. конф. «Analytical chemistry & chemical analysis». — Київ. — 2005. — С. 81.

Здобувачем оброблено експериментальні дані по утримуванню парабенів та антибіотиків ряду рубоміцину за фізико-хімічною моделлю утримування в міцеллярній рідинній хроматографії, що базується на квазіхімічній концепції міцелоутворення.

14. **Boichenko A.P.** Optimization of separation in micellar liquid chromatography / **A.P. Boichenko**, L.P. Loginova, A.U. Kulikov // Тези доп. Міжнар. конгресу. «International Congress on Analytical Sciences» — Москва. — 2006. — С. 210.

Здобувачем проаналізовано підходи до оптимізації розділення в міцеллярній рідинній хроматографії. Оцінено вплив кількості параметрів в моделях утримування на адекватність процедур оптимізації. Підготовлено стендову доповідь.

15. **Boichenko A.P.** Carboxylic aliphatic acids as new modifiers for separation of amino acids by micellar liquid chromatography / **A.P. Boichenko**, A.U. Kulikov, L.P. Loginova // Тези доп. Міжнар. конгресу. «International Congress on Analytical Sciences» — Москва. — 2006. — С. 209.

Здобувачем отримано експериментальні дані по розділенню 2,4-динітрофенільних похідних амінокислот методом міцеллярної рідинної

хроматографії з використанням аліфатичних спиртів та карбонових кислот в якості модифікаторів мицелярних елюентів. Підготовлено стендову доповідь.

16. Loginova L.P. Micellar Liquid Chromatography: new ideas and applications / L.P. Loginova, **A.P. Boichenko**, A.U. Kulikov, A.L. Iwashchenko, L.V. Samokhina, E.Yu. Yakovleva // Тези доп. Міжнар. конгресу. «International Congress on Analytical Sciences» — Москва. — 2006. — С. 167-168.

Здобувачем підготовлено частину доповіді, пов'язану з застосуванням хемометричних засобів в мицелярній рідинній хроматографії та розділенню 2,4-динітрофенільних похідних амінокислот.

17. Loginova L.P. Description of retention in micellar liquid chromatography based on mass-action concept of micelle formation / L.P. Loginova, **A.P. Boichenko**, A.U. Kulikov, A.L. Iwashchenko, E.Yu. Yakovleva // Тези доп. Міжнар. конферен. «Modern Physical Chemistry for Advanced Materials» — Харків. — 2007. — С. 58-59.

Здобувачем оброблено експериментальні дані по утримуванию конденсованих ароматичних вуглеводнів.

18. **Boichenko A.P.** Application of chemometrics in reversed-phase liquid chromatography and related techniques / **A.P. Boichenko**, L.P. Loginova, A.U. Kulikov, A.L. Iwashchenko, E.Yu. Yakovleva // Тези доп. Міжнар. конферен. «Modern Physical Chemistry for Advanced Materials» — Харків. — 2007. — С. 164-166.

Здобувачем проведено оптимізації розділення сумішею речовин симплекс методом та запропонованим інтерпретативним методом.

19. **Boichenko A.** Effect of aliphatic carboxylic acids on efficiency and separation selectivity in micellar liquid chromatography in comparison with aliphatic alcohols / **Boichenko A.**, Loginova L., Kulikov A., Berthod A. // Тези доп. Міжнар. конгресу. «41st IUPAC World Chemistry Congress» — Турін, Італія. — 2007. — Р. 187.

Здобувачем отримано та проаналізовано експериментальні дані про вплив нових модифікаторів – аліфатичних карбонових кислот на селективність та ефективність розділення. Підготовлено стендову доповідь.

20. **Boichenko A.P.** Evaluation of rugged and optimal analysis conditions in micellar liquid chromatography by using interpretative optimization strategy and Derringer's desirability function / **Alexander P. Boichenko**, Lidia P. Loginova, Artem U. Kulikov, E. Yu. Yakovleva // Тези доп. Міжнар. конферен. «4th Black Sea Basin conference on analytical chemistry» — Сонячний берег, Болгарія. — 2007. — Р. 013.

Здобувачем розроблено хемометричний підхід до оптимізації розділення в мицелярній рідинній хроматографії та застосовано його для знаходження оптимальних умов сумішею аналітів, підготовлено усну доповідь.

АНОТАЦІЯ

Бойченко О.П. Моделювання утримування та оптимізація розділення у міцелярній рідинній хроматографії. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.02 – аналітична хімія. – Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Харків, 2008.

В роботі знайдено способи вдосконалення методу міцелярної рідинної хроматографії (МРХ) шляхом пошуку та вивчення нових хроматографічних фаз, розробки та впровадження сучасних хемометричних прийомів оптимізації розділення. Виявлено неоднорідність дисперсії фактору утримування та залежність форми скедастичних кривих від природи аналіту та складу рухомої фази. Дані про відтворюваність утримування дозволили ввести статистичні ваги для адекватного моделювання в МРХ. Запропоновано нову просту евристичну модель, що краще описує експериментальні дані, ніж інші відомі рівняння, та має більшу прогностичну здатність. Модель склала основу хемометричного підходу до оптимізації розділення в МРХ, що враховує селективність, тривалість та робастність розділення. Нові модифікатори міцелярних елюентів – аліфатичні карбонові кислоти дозволили розділити 13 динітрофенільних похідних амінокислот в ізократичному режимі методом МРХ.

Ключові слова: хроматографія, відтворюваність утримування, модифікатори міцелярних рухомих фаз, аліфатичні карбонові кислоти, оптимізація розділення, хемометрика.

АННОТАЦИЯ

Бойченко А.П. Моделирование удерживания и оптимизация разделения в мицелярной жидкостной хроматографии. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия. – Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Харьков, 2008.

В работе найдены способы усовершенствования метода мицелярной жидкостной хроматографии (МЖХ) путем поиска и изучения новых хроматографических фаз, разработки и внедрения современных хемометрических приемов оптимизации разделения. Выявлена неоднородность дисперсии фактора удерживания и зависимость формы скедастических кривых от природы аналита и состава подвижной фазы. Данные о воспроизводимости удерживания позволили ввести статистические веса для адекватного моделирования в МЖХ. Предложена новая простая эвристическая модель, которая лучше описывает экспериментальные данные, чем другие известные уравнения, и имеет большую прогностическую способность. Модель стала основой хемометрического подхода к оптимизации разделения в МЖХ, который учитывает селективность,

длительность и робастность разделения. Новые модификаторы мицеллярных элюентов – алифатические карбоновые кислоты позволили разделить 13 динитрофенильных производных аминокислот в изократическом режиме методом МЖХ.

Ключевые слова: хроматография, воспроизводимость удерживания, модификаторы мицеллярных подвижных фаз, алифатические карбоновые кислоты, оптимизация разделения, хемометрика.

SUMMARY

Boichenko A.P. Modeling of retention and optimization of separation in micellar liquid chromatography. – Manuscript.

The thesis for receiving of candidate of science in chemistry by speciality – 02.00.02 – analytical chemistry. – V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, 2008.

The ways of improving of micellar liquid chromatography (MLC) separations related with chemical and chemometrics problems are proposed in this work.

The reproducibility of retention factor that is an important for adequate modeling was studied on the retention data of 4 parabens and 7 polyaromatic hydrocarbons. It was observed that reproducibility of retention factor in MLC depends on the analytes nature and mobile phase composition. The experimentally observed heteroscedasticity of retention factor and perturbations after linearization were taken into account by using statistical weights obtained on the basis of errors propagation law.

A new heuristic retention model was proposed on the basis of physicochemical model in MLC based on mass-action concept of micelle formation. The proposed new simple retention model was compared with known equations for retention modeling by using non-weighted and weighted least squares method. The adequacy of modeling was judge by adjusted and prediction capability of the models by cross-validated correlation coefficients. The proposed model provides the stable and high values of both correlation coefficients in contrast to retention models with the same or even more number of parameters. This simple model was used to develop a new chemometrics approach for simultaneous optimization of separation in MLC in terms of selectivity, time of analysis and ruggedness. The normalization of three parameters that corresponds to selectivity (normalized by the mean resolution product of separation factors), time of separation (retention of last eluted peak) and ruggedness (mean change of global resolution in four directions of changing of mobile phase composition) was based on the Derringers desirability function. The chromatographic response function was calculated as geometrical mean of three normalized characteristics. The approach was successfully tested on the data of complex mixture of analytes separation.

The aliphatic carboxylic acids with (C2-C6) were proposed as useful alternative to classic modifiers of micellar eluents (aliphatic alcohols). The additives of aliphatic carboxylic acids, which were proposed as alternative of aliphatic alcohols, to micellar eluents improve the efficiency and asymmetry of chromatographic peaks in comparison

with pure micellar solutions and change the selectivity in comparison with corresponding additives of alcohols. The best for this time results on isocratic separation of amino acids derivatives were obtained by using micellar mobile phases consisted from solutions of sodium dodecylsulfate and additives of aliphatic carboxylic acids.

Key words: chromatography, reproducibility of retention, modifiers of micellar eluent, aliphatic carboxylic acids, optimization of separation, chemometrics.