



LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

JEĻENA GOLUŠKO

**SOLVĀTU SORBCIJAS MODEĻA IZMANTOŠANA SORBCIJAS
PROGNOZĒŠANAI APGRIEZTĀS FĀZES AUGSTI EFEKTĪVAJĀ ŠĶIDRUMU
HROMATOGRĀFIJĀ**

Promocijas darbs

doktora grāda iegūšanai ķīmijas nozarē
fizikālās ķīmijas apakšnozarē

Zinātniskais vadītājs:

Dr. ķīm., asoc. prof., Pēteris Mekšs

RĪGA
2007

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Universitātes Ķīmijas fakultātē un kompānijā "VWR Scientific Instruments" (Vācija) laika posmā no 2003. gada līdz 2007. gadam.

Darbs veikts ar „Doktorantu un jauno zinātnieku pētniecības darba atbalsts Latvijas Universitātē” ESS2004/3 (Līguma Nr. 2004/0001/VPD1/ESF/PIAA/04/NP/3.2.3.1/0001/0063) finansiālu palīdzību.

Darba raksturs: promocijas darbs ķīmijas nozarē fizikālās ķīmijas apakšnozarē

Zinātniskais vadītājs:

Dr. ķīm., asoc. prof., **Pēteris Mekšs** (Latvijas Universitāte)

Darba recenzenti:

Dr. habil. ķīm., prof. A. Zicmanis (Latvijas Universitāte)

Dr. habil. ķīm. A. Andersons (Latvijas Ķīmijas Žurnāls)

Dr. ķīm. H. Kažoka (Latvijas Organiskās Sintēzes institūts)

Darba aizstāvēšana notiks Latvijas Universitātes Ķīmijas nozares habilitācijas un promocijas padomes sēdē 2007. gada 21. novembrī, Latvijas Universitātes Ķīmijas fakultātē Kr. Valdemāra ielā 48.

Ar disertāciju un tās kopsavilkumu var iepazīties Latvijas Universitātes bibliotēkā, Kalpaka bulvārī 4 un Latvijas Akadēmiskajā bibliotēkā, Rūpniecības ielā 10.

SATURS

IEVADS.....	5
1. LITERATŪRAS APSKATS	8
1.1. Apgrieztās fāzes AEŠH kolonnu raksturošana un salīdzināšana	8
1.2. Analīzes apstākļu prognozēšana AF AEŠH ar izokrātisku un mainīgu kustīgās fāzes sastāvu (gradientā), balstoties uz sorbātu uzbūvi un sorbentu raksturlielumiem.....	12
1.3. Solvātu sorbcijas modeļa teorija	15
1.4. Secinājumi	19
2. EKSPERIMETĀLĀ DAĻA	21
2.1. Kolonnu raksturošanai izmantotie hromatogrāfisko analīžu apstākļi.....	21
2.2. Kolonnas parametru aprēķināšana	21
2.3. Lamotrigīna un tā atvasinājumu hromatogrāfiskās atdalīšanas apstākļi.....	23
2.4. Hromatogrāfiskās analīzes apstākļi pētītajiem herbicīdu maisījumiem	23
3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS	24
3.1. AF AEŠH kolonnu raksturošana un salīdzināšana	24
3.1.1. Teorija.....	24
3.1.2 Rezultātu izvērtējums	30
3.2 Analīzes apstākļu prognozēšana AF AEŠH, izmantojot sorbātu uzbūvi un kolonnu raksturlielumus nemainīga kustīgās fāzes sastāva (izokrātiskos) apstākļos	37
3.3. Sorbcijas parametru prognozēšana AF AEŠH mainīga kustīgās fāzes sastāva apstākļos (gradientā).....	44
3.3.1. Lamotrigīna un tā atvasinājumu analīzes.....	51
3.3.2. Triazīna grupas, aromātisko herbicīdu un fenilurīnvielas atvasinājumu analīze.	54
3.4. Herbicīdu maisījuma atdalīšanas optimizācija ar apgrieztās fāzes augsti efektīvo šķidrums hromatogrāfiju	59
3.4.1. „Klasiskā” optimizācija	60
3.4.2. Analīzes metodes izstrāde, izmantojot savienojumu uzbūvi un datora programmas	65

3.5. Optimizācija gradienta apstākļos	69
3.6. Secinājumi	71
SECINĀJUMI.....	73
LITERATŪRAS SARAKSTS.....	75
PUBLIKĀCIJU SARAKSTS	80

IEVADS

Apgrieztās fāzes augsti efektīvā šķidrums hromatogrāfija (AF AEŠH) ir mūsdienu nozīmīgākā un visbiežāk lietotā fizikāli ķīmiskā organisko vielu analīzes metode ķīmiskajā un farmaceitiskajā rūpniecībā, kā arī vides aizsardzībā. Jau ilgāku laiku praktiski svarīga un teorētiski interesanta problēma hromatogrāfijas pētījumos ir izdalīšanās parametru un hromatogrāfiskās analīzes apstākļu paredzēšana, balstoties uz sorbātu molekulu uzbūvi un īpašībām. Vielu sadalījums hromatogrāfiskajā sistēmā ir būtiski atkarīgs no sorbenta dabas, ko izmanto hromatogrāfisko kolonnu piepildīšanai. Kolonnu raksturojumam hromatogrāfiskajā analīzē ir svarīgi ne vien to efektivitātes, bet arī selektivitātes un sorbcijas parametri.

Promocijas darbā aprakstīta divslāņu sorbcijas kontinuma (solvātu sorbcijas modeļa) pielietojuma iespējas izdalīšanas parametru prognozēšanai apgrieztās fāzes šķidrums hromatogrāfijā, balstoties uz analītu uzbūvi un apgrieztās fāzes sorbentu ķīmiskajām īpašībām. Sorbcijas modelī ir ievērotas gan analīta īpašības (tā parciālais mola tilpums ūdenī un mijiedarbību enerģija ar ūdeni), gan arī kustīgās un nekustīgās fāzes īpašības (dielektriskā caurlaidība, virsmas spraigums, fāžu attiecība).

Darba aktualitāte.

Viena no svarīgākajām problēmām hromatogrāfijā ir izdalīšanas parametru paredzēšanas iespējas, pamatojoties uz analītu, kā arī kustīgo un nekustīgo fāžu fizikāli ķīmiskajām īpašībām. Termodinamiskā solvātu sorbcijas modeļa (SSM) izmantošana zinātniskajā periodikā ir aprakstīta vienīgi sākotnējo analīzes apstākļu paredzēšanai AF AEŠH, ja nemainās (ir izokrātisks) kustīgās fāzes sastāvs (metanola/ūdens attiecība) kolonnās ar oktadecil- (C_{18}) grupas saturošiem sorbentiem. Līdz šim nav atrastas ziņas par pētījumiem ar minētā modeļa izmantošanu dažādu apgrieztās fāzes sorbentu raksturošanai. No teorētiskā redzes viedokļa ir interesanti un no praktiskā – svarīgi paredzēt izdalīšanas parametru vērtības maksimāli tuvu patiesajām, lietojot iespējami mazu mērījumu skaitu ar dažādu kustīgo un nekustīgo fāžu izmantošanu. Šim nolūkam būtu svarīgi pārbaudīt termodinamiskā solvātu sorbcijas modeļa pielietojuma iespējas, par ko literatūras avotos ziņas nav atrodamas.

Darba mērķis: Noskaidrot un pārbaudīt SSM piemērotību vielu sorbcijās prognozēšanai AEŠH apstākļos.

Darba uzdevumi:

- Izstrādāt un pārbaudīt secīgo tuvinājumu metodi izdalīšanas parametru paredzēšanai, balstoties uz sorbātu, sorbentu un kustīgo fāžu uzbūves raksturlielumiem.
- Novērtēt modeļa pielietojuma iespējas analītu izdalīšanas lielumu prognozēšanā ar dažāda tipa apgrieztās fāzes sorbentu un organisko modifikatoru izmantošanu par kustīgajām fāzēm gan to nemainīga (izokrātiskos), gan mainīga (gradientā) sastāva apstākļos.
- Izstrādāt metodi apgrieztās fāzes sorbentu īpašību ātrai novērtēšanai un atdalīšanas spēju salīdzināšanai termodinamiskā solvātu sorbcijas modeļa ietvaros.

Darba novitāte.

Izstrādāta metode apgrieztās fāzes kolonnu novērtēšanai un salīdzināšanai, kas ļauj eksperimentāli raksturot un salīdzināt dažādus apgrieztās fāzes sorbentus, izmantojot parametrus, kas iegūti ar solvātu sorbcijas modeļa palīdzību. Ieteiktā secīgo tuvinājumu metode rada priekšnoteikumus SSM lietošanai sorbcijas parametru precīzai prognozei gan darbā ar kustīgās fāzes izokrātisku, gan gradienta sastāvu AF AEŠH.

Praktiskā nozīmība.

Metodes izstrāde un optimizācija AEŠH bieži vien ir visai darbietilpīgs uzdevums, kas prasa ievērojamu skaitu eksperimentu un iegūto rezultātu izvērtēšanu. Iespēja paredzēt izdalīšanas lielumus tuvu patiesajiem, nosakot starpmolekulārās iedarbības hromatogrāfiskajās sistēmās, ievērojami samazina veicamo eksperimentu skaitu un izmaksas, kas nepieciešamas daudzu komponentu maisījumu atdalīšanas optimizācijai. Šim nolūkam ērti izmantojama metode ir „soli pa solim”: no tuvinājuma „nulles līmenī” (ķīmiskā uzbūve un kolonnas īpašības) uz pirmo un otro tuvinājumu (sorbcijas modeļa pilnveidošana, izmantojot pirmā un otrā mēģinājuma rezultātus), kas ļauj ātri paveikt optimālas atdalīšanas uzdevumus. Noskaidrots, ka ātrai metodes izstrādei un kolonnu materiālu salīdzinošai novērtēšanai ir noderīgi dažādi AF sorbentu eksperimentāli nosakāmie raksturlielumi. Pamatojoties uz piedāvāto sorbentu izvēles metodi, kas balstās uz 80 komerciālo apgrieztās fāzes sorbentu eksperimentālajiem raksturlielumiem, izstrādāta datorprogramma izdalīšanas parametru prognozēšanai.

Darba aprobācija: galvenie darba rezultāti apkopoti 5 publikācijās, par darba rezultātiem sniegti 7 ziņojumi konferencēs, tai skaitā 6 starptautiskās konferencēs.

Veicot doktorantūras studijas Latvijas Universitātē, tām finansiālu atbalstu sniedzis Eiropas sociālais fonds (līgums 2004/0001/VPD1/ESF/PIAA/04/NP/3.2.3.1/0001/0063),

par ko autore izsaka pateicību. Kā arī paldies kompānijām „Merck” KGaA un „VWR Scientific Instruments” GmbH par aparātūras un materiālu izmantošanu. Īpaši pateicos Dr. W.D. Beinertam par atbalstu un pretimnākšanu.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Apgrieztās fāzes AEŠH kolonnu raksturošana un salīdzināšana

Lietojot tēlainu salīdzinājumu, kolonna jāuzskata par augsti efektīvās hromatogrāfijas iekārtas sirdi, jo tajā notiekošo fizikāli ķīmisko procesu rezultātā realizējas sorbcijas selektivitāte, kas nodrošina visdažādāko maisījumu atdalīšanu [1, 2]. Metodē biežāk lietotās ir apgrieztās fāzes (AF) kolonnas [3, 4]. Mūsdienās plaši pieejamais AF AEŠH kolonnu klāsts rada priekšnosacījumus, lai hromatogrāfisti, izvēloties piemērotāko nekustīgo fāzi, spētu atrisināt visdažādākās atdalīšanas problēmas. Katra hromatogrāfista darba uzdevums ir piemērotas kolonnas izvēle noteikta maisījuma sastāvdaļu atdalīšanai un katram nozares profesionālim ir zināms, ka starp nomināli it kā vienādiem apgrieztās fāzes sorbentiem pastāv ievērojamas atšķirības pat tad, ja eluēšanas apstākļi ir identiski [5]. Tāpat ir zināms, ka atdalīšanas procesa veiksmīgai pārnesei no vienas tā paša sorbenta partijas uz citu, parasti nepieciešamas izmaiņas izstrādātajā analīzes metodē [5]. Būtisks apgrieztās fāzes sorbentu trūkums ir to ierobežotā stabilitāte [6]. Veiksmīgai hromatogrāfisko uzdevumu izpildei ir svarīgi ievērot ne vien kolonnu efektivitātes, bet arī selektivitātes un izdalīšanas parametru vērtības [5, 7], jo ir pierādīts, ka regulāra kolonnu pārbaude (testēšana) gan analīzes metodes izstrādes gaitā, gan analīžu izpildes procesā, ir ārkārtīgi vēlama [7]. Kolonnu ražotāji velta daudz pūļu kolonnu raksturošanai – gan ar mērķi kontrolēt to kvalitāti, gan atdalīšanas rādītāju salīdzināšanai [8-10]. Šādam nolūkam parasti izmanto dažādus mākslīgos maisījumus, kurus, turklāt, analizē atšķirīgos apstākļos, tāpēc iegūto rezultātu salīdzināšana ir apgrūtināta.

Zināmas vairākas testēšanas metodes un analītiskās ķīmijas periodikā aprakstīti vairāki testa maisījumi un eluentu sastāvi, ar kuriem iegūti nozīmīgi, plaši izmantojami rezultāti [5, 7, 11-13]. Tā NIST References materiālu standarts 870 (NIST Standard Reference Material® 870) sastāv no uracila (t_0 marķieris), toluola, etilbenzola (hidrofobo iedarbību noteiktās sorbcijas marķieris), hinazarīns (aktivitāte pret helātu veidotājiem) un amitriptilīns (aktivitāte pret bāzēm). Sanders ir izvērtējis testa maisījumu un secinājis, ka tas ir piemērots tādu biežāk lietoto apgrieztās fāzes sistēmu kā C18 un tādu, kurās atrodas polāras grupas (embedded), salīdzināšanai [14]. Plašāk pazīstamas ir Engelhartas [15,16] un Tanakas [13] kolonnu pārbaudes metodes, kuru pamatā ir sorbcijas un atdalīšanas selektivitātes mērījumi testa savienojumiem. Erbi un

līdzautori izmantoja Tanakas testēšanas metodi 170 dažāda ķīmiskā sastāva nekustīgo fāžu novērtēšanai [17,18]. Testēšanas rezultāti ir izvērtēti pēc hidrofobitātes, formas selektivitātes, ūdeņraža saites veidošanas spēju un jonu apmaiņas kapacitātes īpašībām. Autori [19] izvērtējuši citu testēšanas apstākļu kopumu, novērtējot sorbentu hidrofobitāti un formas selektivitāti. Turklāt darbā apspriestas iedarbības ar silanolgrupām un „fenolās selektivitātes” parametrs. AF fāzes kolonnu sistematizācijai ir izmantotas arī klasteru analīzes metodes [20,21]. Snaiders ar līdzstrādniekiem ir izstrādājuši tā saukto „atskaitīšanas modeli” (Subtraction Model). Šajā pieejā izmantota speciāla brīvās enerģijas linearitātes sakarība (linear free energy relationship, LFER), kas nosaukta par kvantitatīvo struktūras un sorbcijas sakarību (quantitative structure retention relationship, QSRR). Šajā pieejā sorbciju hromatogrāfijas apstākļos izsaka kā lineāru funkciju no dažādām sorbāta – kustīgās fāzes iedarbībām, līdzīgi kā fizikāli organiskajā ķīmijā labi zināmajā Tafta vienādojumā. Abrahams ar līdzstrādniekiem [22] un Kališans [23] modificētā veidā vienādojumu ir izmantojuši hromatogrāfiskās sorbcijas parametru prognozēšanā. Vairākos rakstos Snaiders ar līdzstrādniekiem ir ieteikuši QSRR modeli izmantot AF kolonnu raksturošanai un sistematizēšanai [24-29]. Šajos pētījumos AF kolonnu sorbcijas īpašības izteiktas ar hidrofobitātes, stērisko traucējumu, ūdeņraža saites skābumu, ūdeņraža saites bāziskumu un katjonu apmaiņas aktivitāti.

Šāda pieeja ļāva atšķirt AF kolonnu hromatogrāfiskās īpašības, veidojot pamatu to klasifikācijai. Klasens kolonnu novērtēšanas metodes iedalīja divās grupās [30]:

- i. *Empīriskās novērtēšanas metodes.* Tajās iegūtā hromatogrāfiskā informācija parasti ir atkarīga no samērā patvaļīgi izvēlētajiem testēšanā izmantotajiem savienojumiem, par kuriem pieņem, ka tie izsaka specifisku kolonnas īpašību, piemēram, silanolgrupu aktivitāti. Šo metožu pirmsākumi ir meklējami Tanakas [13], Engelhartas [15], Eimana [31], Valtera [32], Daldrupa [33] darbos, kā arī izdalīšanas indeksu [34] izmantošanā un daudzajās, tā sauktajās, „in-house” metodēs.
- ii. *Modeļos balstītās novērtēšanas metodes.* Šīs grupas metodes ir balstītas uz īpašiem modeļiem kā, piemēram, Horvača silanolu atlikumu modelis [36], kā arī QSRR modelis, kas izmantots Abrahama, Karra, Boljē, Kališana un Snaidera darbos [37-44, 24]. Jāuzsver, ka tie, galvenokārt, ir korelatīvi un nevis termodinamiski modeļi. Tajos izmantotas empīriskas korelācijas starp

savienojumu parametriem (t.s. solvatochromajiem parametriem) un hromatogrāfisko sorbciju izvēlētos apstākļos.

Detalizētāka informācija par šīm divām novērtēšanas metodēm :

1a. Engelharta tests, (E) [15].

i. Eluents: metanols/ūdens 49:51 (w/w) vai 55:45 (v/v). Temperatūra 40°C.

Testa savienojumi: uracils (t_0), anilīns, fenols, N,N-dimetilanilīns, p-etilanilīns, toluols un etilbenzols.

Rezultāti:

$$\text{Hydrofobitāte} = \frac{k_{\text{etilbenzols}}}{k_{\text{toluols}}};$$

Silanolu aktivitāte = p-etilanilīna asimetrija pie 5% no joslas augstuma;

k = izdalīšanas faktors.

ii. Eluents: metanols/ūdens, 75:25 (w/w) vai 79:21 (v/v). Temperatūra 40°C

Testa savienojumi: uracils (t_0), trifenilēns un o-terfenils.

Rezultāti:

$$\text{Formas selektivitāte} = \frac{k_{\text{trifenilēns}}}{k_{\text{terfenils}}}.$$

1b. Modificēts Engelharta tests, (Em)

Eluents: metanols/fosfāta buferšķīduma 0,02M ūdens šķīdums, pH 7,0, 49:51 (v/v) vai 55:45(w/w). Temperatūra: 40°C

Rezultāts:

Silanolaktivitāte = p-etilanilīna asimetrija 5% joslas augstumā.

2. Valtera tests, (W) [32].

Hidrofobitātes tests

Eluents: acetonitrils/ūdens 65:35 (v/v). Temperatūra 40°C.

Testa savienojumi: uracils (t_0), benzols un antracēns.

Silanolu aktivitātes tests

Eluents: acetonitrils. Temperatūra 40°C.

Testa savienojumi: N,N-dietil-m-toluilamīds (DETA) un antracēns.

Rezultāts:

$$\text{Hidrofobitāte} = \frac{k_{\text{antracens}}}{k_{\text{benzols}}};$$

$$\text{Silanolaktivitāte} = \frac{k_{\text{DETA}}}{k_{\text{Antracens}}};$$

3. *Tanaka's tests*, (T) [13].

Eluents 1: metanols/ūdens: 80:20 (v/v)

Eluents 2: metanols/ūdens : 30:70 (v/v)

Eluents 3: metanols/ fosfāta buferšķīduma 0,02M ūdens šķīdums, pH 7,6, 30:70 (v/v)

Eluents 4: metanols/ fosfāta buferšķīduma 0,02M ūdens šķīdums pH 2,7, 20:70 (v/v)

Temperatūra 40°C.

Testa savienojumi: uracils (t_0), tiourīnviela (t_0), amilbenzols, butilbenzols, trifēnilēns, o-terfenils, kafēīns, fenols un benzilamīns.

Rezultāts:

$$\text{Hidrofobitāte} = \frac{k_{\text{amilbenzols}}}{k_{\text{butilbenzols}}}, \text{ (Eluents 1).}$$

$$\text{Alkilgrupu daudzums} = k_{\text{amilbenzols}}, \text{ (Eluents 1).}$$

$$\text{Stēriskā selektivitāte} = \frac{k_{\text{trifēnilēns}}}{k_{\text{o-terfenils}}}, \text{ (Eluents 1).}$$

$$\text{Ūdeņraža saišu veidošanas kapacitāte} = \frac{k_{\text{kafēīns}}}{k_{\text{fenols}}}, \text{ (Eluents 2).}$$

$$\text{Jonu apmaiņas kapacitāte (JAK) pie pH>7} = \frac{k_{\text{benzila min s}}}{k_{\text{fenols}}}, \text{ (Eluents 3).}$$

$$\text{JAK pie pH<3} = \frac{k_{\text{benzila min s}}}{k_{\text{fenols}}}, \text{ (Eluents 4).}$$

4. Brīvās enerģijas linearitātes sakarībās (linear free energy relationships, LFER) analīta – šķīdinātāja iedarbības ir iespējams aprakstīt ar solvatācijas parametru modeli. Pamatojoties uz Abrahama [44, 45] LFER attiecinājumu uz hromatogrāfiskajām sistēmām, sorbcijas faktora logaritms ir saistīts ar specifisko iedarbību summu izteiksmē:

$$\lg k = c + vV + eE + sS + aA + bB \quad (1.1)$$

Izteiksmes labajā pusē ir sistēmas konstantes (c, v, e, s, a, b) stingri noteiktos apstākļos (kolonna, šķīdinātāja veids un koncentrācija) un sorbāta īpašību apzīmējumi ($V, E, S, A,$

B). Sorbāta īpašības ir pieejamas tikai nedaudzām vielām un tās ir jānosaka eksperimentāli. Pirmo reizi iegūtām vielām tās, protams, nav zināmas. Lielums V ir Mak Govenas ieviestais tilpums, E ir sorbāta pārākuma molārā refrakcija, S ir kombinācija no polaritātes/polarizējamības un A un B izsaka attiecīgi efektīvo ūdeņraža saites skābumu un bāziskumu. Sistēmas konstantes var aprēķināt, izmantojot daudzfaktoru lineārās regresijas analīzi. Tomēr modeļa statistisko un ķīmisko prasību ievērošanai nepieciešams izmērīt izdalīšanas laikus lielumam skaitam testa savienojumu vienādos apstākļos. Lielais eksperimentu skaits, kas nepieciešams dažādu kolonnu raksturlielumu aprakstīšanai plašā organisko šķīdinātāju koncentrāciju apgabalā, apgrūtina modeļa izmantošanu dažādos eksperimentālos apstākļos.

1.2. Analīzes apstākļu prognozēšana AF AEŠH ar izokrātisku un mainīgu kustīgās fāzes sastāvu (gradientā), balstoties uz sorbātu uzbūvi un sorbentu raksturlielumiem

AEŠH izmanto divu veidu eluācijas apstākļus: izokrātiskos vai gradienta apstākļus. Izokrātiskos apstākļos analīzes laikā organiskās piedevas koncentrācija kustīgajā fāzē tiek uzturēta nemainīga, savukārt, gradienta apstākļos kustīgās fāzes sastāvs analīzes laikā tiek mainīts. Gradienta profils, atkarībā no parauga sastāva, mēdz būt lineārs, nelineārs vai sastāvošs no vairākām atsevišķām stadijām.

Metodes izstrādē ar AEŠH parasti ir divi posmi : izdalīšanas parametru un selektivitātes optimizācija. Izmantojot datorsimulāciju programnodrošinājumu, iespējams ievērojami samazināt laika patēriņu, kas nepieciešams optimālas organiskā modifikatora koncentrācijas vai gradienta profila noteikšanai kustīgajā fāzē. Parasti metodes izstrāde sākas ar dažu „vispārzināmu” eksperimentu datiem, uz kuru pamata mēģina paredzēt sorbciju un atdalīšanu citos apstākļos [46]. Šādi sākotnējo datu kopa tiek izmantota sorbcijas modeļa izveidei – sakarībai starp atdalāmo vielu sorbciju un organiskā modifikatora koncentrāciju kustīgajā fāzē. Ātrai metodes izstrādei AEŠH ir svarīgi pareizi izteikt savienojuma sorbciju kā funkciju no nozīmīga hromatogrāfiskās sistēmas parametra. Sorbcijas parametru paredzēšanā, izmantojot eluenta stipruma lineārās maiņas teoriju, nepieciešams iegūt vismaz 2 hromatogrammas. Simulācijas uzsākšanai, izmantojot kvadrātiskai funkcijai atbilstošu sorbcijas modeli, nepieciešami sākuma dati vismaz 3 mēģinājumiem. Lai praksē atrastu apstākļus šādiem 2 vai 3 „pareizi izvēlētiem” sākuma eksperimentiem, mēģinājumu skaits var būt ievērojami lielāks. Tie var būt mēģinājumi

kustīgās fāzes sastāva izokrātiskos vai gradienta apstākļos, atkarībā no parauga, mērķa, izstrādātāja pieredzes un programmatūras funkcionalitātes. Gan izokrātiskos, gan gradienta apstākļos veiktiem mēģinājumiem ir jāsniedz praktiski nozīmīgi sorbcijas rezultāti, kas ir izmantojami kā pieņemami sākotnējie dati datorsimulācijas veikšanai. Lai iegūtais sorbcijas modelis būtu adekvāts, sākotnējie dati ir jāiegūst dažādos eksperimenta apstākļos. Ja ir zināmi tikai viena mēģinājuma rezultāti, var izmantot dažas vienkāršas praktiskas likumības (kā „triju likums” [46]), kuras ir lietojamas ļoti aptuvenai izdalīšanas parametru un organiskā modifikatora koncentrācijas noteikšanai otrajā mēģinājumā. Citas pieejas pamatā metodes izstrādes uzsākšanai ir vielu ķīmiskās uzbūves un fizikāli ķīmisko īpašību izmantošana. Sorbcijas parametru prognozēšana, balstoties uz kustīgās un nekustīgās fāzes uzbūvi un īpašībām, ir jāuzskata par pareizām starta pozīcijām dažādu maisījumu atdalīšanas metožu izstrādei apgrieztās fāzes šķidrums hromatogrāfijā. Tomēr jāatzīmē, ka pagaidām mēģinājumi paredzēt izdalīšanas raksturlielumus, pamatojoties uz detalizētu hromatogrāfiskā procesa aprakstu un starpmolekulāro iedarbību aprēķiniem hromatogrāfiskajā sistēmā, nav bijuši veiksmīgi. Plaši ir izplatītas metodes, kurās izmantotas korelācijas starp dažādām analītu īpašībām un to sorbcijas parametriem. To aprēķināšanai ir izmantoti šķīdības faktori [47], izdalīšanas indeksi [48-50], šķīdinātāja mijiedarbību indeksi [51, 52], korelācijas starp sorbcijas lielumiem un hidrofobitātes konstantēm [53, 54], sadalījuma konstantēm, molekulu laukumiem [53, 54, 55-64], Van der Waals tilpumiem, dipola momentiem un oglekļa atomu skaitu molekulā [59, 60], molekulu konektivitāti [61-63] u.c. Dažos gadījumos ir izmantota sakarība starp savienojumu aktivitātes koeficientiem noteiktā hromatogrāfiskajā sistēmā un sorbcijas lielumiem [64]. Ir ieteikta aprēķinu metode, kura pamatojas uz divu veidu mijiedarbību ieguldījumu atdalīšanas selektivitātē – polārajām un nepolārajām [65, 66]. Sorbcijas lielumu skalas definēšanai ir izmantota alkilbenzolu homologu rinda, kura ņemta par pamatu pētāmo savienojumu sorbcijas un selektivitātes aprēķināšanai, izmantojot dažāda sastāva eluentus. Ir izstrādāta metode vielu sorbcijas parametru paredzēšanai apgrieztās fāzes AEŠH, pamatojoties uz analītu molekulu struktūru [67]. Sorbcijas parametri ir izteikti arī indeksu formā, skalā, kuru veido arilalkilketonu izdalīšanas lielumi [67, 68]. Iegūti aizvietotāju inkrementi, kas saistīti ar aromātisko vai alifātisko oglekli un izstrādāta programma izdalīšanas indeksu aprēķināšanai [69]. Vairāki līdzīga veida pētījumi aprakstīti apskatā [67].

Empīriskie problēmu risinājumi ar korelāciju palīdzību parasti nav saistīti ar detalizētajām sorbcijas teorijām, tāpēc to pielietojums ir ierobežots. Minēto pieeju

izmantošanai nepieciešami pētāmo savienojumu eksperimentāli fizikāli ķīmisko un hromatogrāfisko īpašību rezultāti, kā arī tādi pat lielumi standartvielām (nav zināmi jaunām un retām vielām). Pašlaik ir pazīstamas vairākas sorbcijas teorijas AF AEŠH [70-82]. Visās teorijās ir atzīmēts, ka tās nesniedz metodi precīzai analītu izdalīšanas parametru aprēķināšanai. Solvofobo iedarbību teorijā [76-79] izdalīšanas lielumu un selektivitātes prognozēšanai nepieciešams noteikt enerģijas ieguldījumu izdalīšanas lielumos, aprēķinot tādus parametrus kā hidrofobā kontakta laukums ar sorbenta virsmu, acentriskais faktors un dipolmomenti. Parasti vajadzīgie raksturlielumi pilnā apjomā nav pieejami vai ir grūti iegūstami. Iepriekš minētais ir spēkā pieejās, kas balstītas uz molekulāri statistiskiem pamatiem [80-82], kas prasa analītu aktivitātes koeficientu mērījumus vai sarežģītus to aprēķinus hromatogrāfiskajās sistēmās. Tāpēc iespējams, ka solvātu sorbcijas modelis AF AEŠH sniedz piemērotāko veidu sorbcijas un selektivitātes parametru prognozēšanai. Tajā izmantots vienkāršs hromatogrāfiskās sistēmas divu slāņu kontinuma modelis, kas detalizētāk tiks aprakstīts turpmākajā izklāstā (1.3 nodaļā).

Neraugoties uz vispārīgas teorijas trūkumu, kas ļautu kvantitatīvi aprakstīt hromatogrāfisko procesu AF AEŠH, balstoties uz sorbātu ķīmisko uzbūvi, ir izstrādātas vairākas datorprogrammu paketes sorbcijas parametru aprēķināšanai [83-89].

Eluex expert sistēma tika ieviesta jau 1993-1994 gadā [88]. Datorprogramma, balstoties uz analīta struktūrformulu, spēj aprēķināt sadalījuma koeficientu sistēmā oktānols-1/ūdens (arī buferšķīdums) $P(D)$. Programmas izveides pamatā bija pieņēmums, ka lielums $\ln k$ ir lineāri saistīts ar $\lg P$ ($\lg D$) un $\ln k$ ir lineāri atkarīgs no metanola vai acetnitrila koncentrācijas kustīgajā fāzē. Tie paši vienādojuma parametri ir spēkā visām apgrieztās fāzes kolonnām. Tāda pati pieeja izmantota *ChromSimulator* programnodrošinājumā, *Chrom Dream* [83] un *Chrom Sword* [87] programmatūras pamatā ir solvātu sorbcijas modelis, kurā ievērotas analītu nelineārās sorbcijas likumības vienlaikus ar sorbentu raksturlielumiem. Neviena no minētajām pieejām un programmatūrām nespēj precīzi paredzēt no struktūrformulas vien sorbcijas raksturlielumus veiksmīgam pirmajam mēģinājumam. Tomēr, izmantojot piemērotu datorapstrādes procedūru un sorbātu ķīmisko uzbūvi, iespējams ievērojami samazināt metodes izstrādei nepieciešamo laiku. Eksperimentālo datu izmantošana modeļa parametru korekcijai varētu būt efektīvs palīg līdzeklis prognozes pareizības uzlabošanai, jo tas samazinātu optimizēšanai nepieciešamo laiku. Taču šāda pieeja periodikā līdz šim nav aprakstīta.

Aktuāls ir jautājums par prognozēšanas iespējām kustīgās fāzes gradienta apstākļos, jo visi aprakstītie sorbcijas parametru prognozēšanas modeļi attiecas tikai uz

izokrātiskiem analīzes apstākļiem, kas ir izmantojami, ja analizējamā maisījuma komponentus raksturo šauras sorbcijas spēju diapazons. Gradianta apstākļu izmantošana ļauj atdalīt komponentus ar stipri dažādām sorbcijas spējām, kas liek tos uzskatīt par piemērotu analīzes veidu komplicētiem maisījumiem, kuru izcelsme ir ķīmiskā un farmaceitiskā ražošana, kā arī apkārtējās vides un bioloģiskas izcelsmes paraugi. AEŠH metožu izstrāde ar gradianta apstākļu izmantošanu mēdz būt laikietilpīga, jo nepieciešams veikt ievērojamu skaitu mēģinājumu, īpaši, ja komplicēta maisījuma atdalīšanai nepieciešamas dažāda profila gradianta stadijas [90-95]. Sorbcijas parametru paredzēšanas iespējas gradianta apstākļos, izmantojot sorbātu un sorbentu īpašības, ļautu ievērojami ietaupīt metodes izstrādei nepieciešamo laiku un samazināt veicamo eksperimentu skaitu. Šādu pētījumu ir veicis Kališans, izmantojot solventa stipruma lineārās maiņas (linear solvent strength, LSS) modeli, apvienojot to ar kvantitatīvām struktūras-sorbcijas sakarībām (quantitative structure-retention relationships, QSRR) tuvinātai sorbcijas parametru prognozēšanai vienkāršiem gradianta profiliem šķidrums hromatogrāfijas apstākļos. Diemžēl, minētā pieeja neļāva sasniegt vajadzīgo prognozes atbilstību eksperimentāli iegūtajām sorbcijas parametru vērtībām, kas ierobežoja tās izmantošanas iespējas praktiskām vajadzībām [96].

1.3. Solvātu sorbcijas modeļa teorija

Lai izstrādātu metodi sorbcijas un selektivitātes aprēķināšanai, ir jāizmanto vairākas koncepcijas par sorbcijas procesu, virsmas slāņa uzbūvi un sorbātu mijiedarbības raksturu ar kustīgo un nekustīgo fāzi (NF). Līdz mūsdienām ir iegūti daudzi eksperimentāli un teorētiski pierādījumi tam, ka ķīmiski saistītā ogļūdeņražu slāņa uzbūve ir uzskatāma par starpstāvokli starp no alkilgrupām veidotu „suku” (*brush*) un kondensētu monoslāni – šķidrums, kurā sorbātu molekulas spēj iespiesties, atstājot ievērojamu ietekmi uz tā īpašībām [80, 97, 98]. Sorbāta daļiņu pāreja nekustīgajā fāzē pieaug līdz ar eluenta hidrofobitāti [80, 97]. Ir parādīts, ka AF AEŠH vienlaicīgi norisinās gan sadalījuma, gan konkurējošās adsorbcijas procesi. Sadalījuma process ir dominējošais un virsmas slānis ir ar kvazi-šķidruma īpašībām [80, 99-101]. Sorbcijas un selektivitātes aptuvenai novērtēšanai ir ieteikts hromatogrāfiskās sistēmas divu slāņu kontinuma (two-layer continuum) modelis: (1) modificētā sorbenta virsma AF AEŠH ir virsmas slānis (VS), kas sastāv no oktadecilgrupām un dažām kustīgās fāzes (KF) sastāvdaļām; (2) virsmas slānis ir

uzskatāms par kvazi-šķidrumu ar noteiktu raksturojumu – virsmas spraigumu (γ_s), dielektrisko konstanti (ϵ_s) un virsmas slāņa īpašībām, kas mainās līdz ar kustīgās fāzes sastāvu un sorbenta īpašībām; (3) sorbāta molekulas iespiežas virsmas slānī. Sorbciju nosaka molekulu solvatācijas enerģiju starpība KF un VS.

Pastāv uzskats, ka VS nav uzskatāms par šķidru ogļūdeņražu slāni, bet ir īpašs stāvoklis pie virsmas saistītām alkilgrupām, starp kurām atrodas zināms KF komponentu daudzums. Sprotams, ka šādam modificētam slānim ir no ogļūdeņražiem atšķirīgas īpašības.

Pieņemot, ka virsmas slānim piemīt noteikti caurmēra raksturlielumi un sorbātu daļiņas iespiežas šajā slānī, var izmantot vienkāršu metodi sorbcijas parametra noteikšanai. Tās pamatā ir izteiksme:

$$\ln k = \frac{-\Delta G}{RT} + \phi, \quad (1.2)$$

kur ϕ ir fāžu attiecība. Sorbcijas lielumu nosaka solvatācijas enerģiju starpība sadalījuma sistēmā [77]:

$$\Delta G = \Delta G_{solv.s.} - \Delta G_{solv.m} \quad (1.3)$$

Saskaņā ar darbiem[77, 79, 102],

$$\Delta G_{solv} \approx \Delta G_c \times \Delta G_{int} \quad (1.4)$$

$$\Delta G = \Delta G_{c.s.} - \Delta G_{c.m} + \Delta G_{int.s.} - \Delta G_{int.m.}, \quad (1.5)$$

kur $\Delta G_{c.s.}$ un $\Delta G_{c.m.}$ ir enerģijas, kas nepieciešamas molekulas izmēra dobuma izveidošanai attiecīgi VS un KF; $\Delta G_{int.s.}$ un $\Delta G_{int.m.}$ molekulu iedarbības enerģijas ar apkārtējo vidi, tām atrodoties attiecīgi VS un KF.

Vienkāršākā versija ir atrodama darbā [78]:

$$\Delta G_c = NA\gamma + NA_1\gamma(k_1^e - 1), \quad (1.6)$$

kur N ir Avogadro skaitlis, A ir šķidrumsa dobuma virsma, γ ir virsmas spraigums (ūdenim $\gamma = 72,6 \cdot 10^{-3} N \times m^{-1}$), A_l ir šķīdinātāja molekulas laukums un k_1^e katram šķīdumam raksturīga konstante (ūdenim $k_1^e = 1,277$) [79, 102]. Aptuvenai A vērtības aprēķināšanai parasti izmanto Van der Vaalsa rādiusu, pieņemot, ka molekula ir sfēriska [79,102]. Šādi iegūst aptuvenu molekulas virsmas laukumu. Pareizāk ir lietot dobuma laukumu, ko sorbāta molekula izveido šķīdinātājā [79]. Pareizākais un vienkāršākais veids dobuma laukuma noteikšanai, ir izmantojot dažādu savienojumu parciālos mola tilpumus šķīdinātājā. Mūsdienu mērīšanas metodes ļauj noteikt parciālos mola tilpumus ar kļūdu, kas nepārsniedz $0,1 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ [103]. Zinātniskajā periodikā ir atrodamas ziņas par parciālajiem mola tilpumiem dažādās vielu grupās - spirtos, ogļūdeņražos, ēteros, aminoskābēs u.c. Vairāku simtu savienojumu parciālo mola tilpumu vērtības atrodamas darbā [103]. Daudzu savienojumu eksperimentālie dati ir apstiprinājuši, ka atsevišķo molekulu fragmentu ieguldījumu aditivitātes principa izmantošana ir pieņemams tuvinājums mola tilpumu aprēķināšanai [103]. Uzskatot, ka dobuma formai jābūt sfēriskai, ir pieņemts:

$$A = N^{-2/3} \cdot 4,836 \left(\sum_i V_i \right)^{2/3}, \quad (1.7)$$

kur V_i ir fragmentu parciālo mola tilpumu inkrementi. Lielais daudzums eksperimentāli noteikto parciālo mola tilpumu vērtību dažādiem savienojumiem [103] ļauj atrast $\sum V_i$ vērtības gandrīz jebkuram savienojumam. Turklāt ir ieteiktas vienkāršas sakarības V_i aprēķināšanai ar augstu precizitāti [103,104]. Tāpēc ΔG_c vērtības var aprēķināt, izmantojot izteiksmi:

$$\Delta G_c = N^{1/3} \cdot \gamma \cdot 4,836 \left[\left(\sum_i V_i \right)^{2/3} + v_m^{2/3} (k_m^e - 1) \right], \quad (1.8)$$

kur v_m ir kustīgās fāzes mola tilpums.

Aprēķinu vienkāršošanai izmanto parciālos mola tilpumus ūdenī, pieņemot, ka dobumu raksturojošiem parametriem VS un KF ir jābūt ar tuvām vērtībām [104]. Svarīgs apstāklis ir pareiza sorbāta iedarbības potenciāla formas izvēle ar apkārtējo vidi, ΔG_{int} . Solvofobo iedarbību teorijā izmanto Van der Vaalsa un elektrostatisko iedarbību summu [77-79, 102]:

$$\Delta G_{\text{int.}} \approx \Delta G_{\text{wdw.}} + \Delta G_{e.s.}$$

Lieluma $\Delta G_{e.s.}$ aprēķināšanai izmanto Onzeigera reaktīvā lauka kontinuuma modeli [103,105]. Kā jau minēts, šī lieluma aprēķināšanai ir nepieciešami vielas raksturlielumi, kas ir nezināmi un grūti iegūstami. Jāatzīmē, ka gandrīz visas Van der Vaalsa iedarbību enerģijas aprēķinu metodes ir tuvinātas un tām ir nepieciešams vai nu liels skaits sarežģītu vielu raksturlielumu, vai daudz empīrisku parametru [106,107]. Mūsdienu kontinuuma teorijas, kurās ievērotas tikai elektrostatiskās iedarbības, tiek izmantotas aptuvenai solvatācijas enerģijas aprēķināšanai [107-110]. Pastāv uzskats, ka vielas molekula sastāv no dipoliem, kuri neatkarīgi iedarbojas ar tos aptverošo kontinuumu. Šādā gadījumā:

$$\Delta G_{\text{int.}} \approx \Delta G_{e.s.} = -\frac{1}{2} \cdot \frac{2(\varepsilon - 1)}{(2\varepsilon + 1)} \cdot \sum_j \frac{\mu_j^2}{a_j^3}, \quad (1.9)$$

kur μ_j ir saišu dipolu momenti, a_j imaginārās sfēras efektīvais rādiuss, kurā atrodas dipoli un ε ir apkārtējā kontinuuma dielektriskā caurlaidība.

Aprakstītajā pieejā nav jāizmanto kvantu ķīmijas metodes atomu lādiņu aprēķināšanai. Dipolu momenti ir noteikti gandrīz visām saitēm un parasti maz atšķiras dažādiem savienojumiem [111,112]. Stingri ņemot, katru dipolu neaptver pilnīgi noslēgta šķīdinātāja molekulu sfēra, tāpēc labāk to būtu aprakstīt ar lodes segmentiem. Ieteiktā pieeja balstās pieņēmumā, ka dažādos savienojumos lodes segmenta parametri, kuros atrodas vienādi dipoli, mainās šaurā diapazonā. Tāpēc elektrostatiskās enerģijas aprēķināšanai, šo parametru var tuvināti izteikt ar sfēras efektīvo rādiusu (a_i). Ievietojot izteiksmes 1.8 un 1.9 vienādojumā 1.5, iegūst izteiksmi 1.10:

$$-\Delta G = N^{1/3} \cdot 4,836 [(\gamma_m - \gamma_s) (\sum_i V_i)^{2/3} + v_m^{2/3} (k_m^e - 1) \gamma_m - v_s^{2/3} (k_s^e - 1) \gamma_s] + [f(\varepsilon_s) - f(\varepsilon_m)] \sum_j \frac{\mu_j^2}{a_j^3}, \quad (1.10)$$

kur $f(\varepsilon) = (\varepsilon - 1)/(2\varepsilon + 1)$.

Ievērojot, ka $\sum_j \frac{\mu_j^2}{a_j^3} = \frac{-\Delta G_{e.s.j.H_2O}}{f(\varepsilon_{H_2O})}$, kur $\Delta G_{e.s.j.H_2O}$ ir dipola j ieguldījums $\Delta G_{e.s.}$ vērtībā

ūdenī, vienādību 1.10 var vienkāršot līdz praksē izmantojamai formai:

$$\ln k_x = a[(\sum_i V_i)^{2/3} + b(\sum_j \Delta G_{e.s.jH_2O})] + c \quad (1.11)$$

vai

$$\ln k_x = aV_x^{2/3} + b\Delta G_{e.s.xH_2O} + c,$$

Kur V ir sorbāta parciālais mola tilpums ūdenī un $\Delta G_{e.s.xH_2O}$ ir savienojuma x mijiedarbības enerģija ar ūdeni. Izteiksme satur vairākus nezināmus kustīgās un nekustīgās fāzes parametrus noteiktos apstākļos: a , b un c . Hromatogrāfiskās sistēmas parametru noteikšanai izvēlētam sorbentam, kolonnai un organiskā modifikatora koncentrācijai, nepieciešams veikt salīdzināmo (references) savienojumu kopas sorbcijas mērījumus dažādos apstākļos.

Saprotams, ka lielumu precīzākai noteikšanai, vēlams izmantot vielas ar iespējami atšķirīgākām ΔG_c un $\Delta G_{e.s.}$ vērtībām, proti, dažādu lielumu un polaritāti (kā etilbenzolu, benzofenonu, o-krezolu un fenolu). Palielinoties salīdzināšanas savienojumu skaitam, a , b un c noteikšanas kļūda samazinās.

1.4. Secinājumi

1. Viena no galvenajām hromatogrāfijas problēmām ir paredzēt savienojumu sorbciju, balstoties uz to uzbūvi un fizikāli ķīmiskajām īpašībām, kā arī kustīgās un nekustīgās fāzes raksturlielumiem. Lai gan apgrieztās fāzes šķīdumu hromatogrāfijā tiek lietotas vairākas sorbcijas teorijas, tās nesniedz adekvātu metodi analītu sorbcijas parametru precīzai aprēķināšanai.

2. Domājams, ka solvātu sorbcijas modelis sniedz daudzsoļu metodi sorbcijas prognozēšanai, pamatojoties uz analītu uzbūvi un hromatogrāfisko kolonnu īpašībām.

3. Solvātu sorbcijas modeļa izmantošana sorbcijas parametru prognozēšanai zinātniskajā periodikā ir aprakstīta tikai attiecībā uz izokrātiskiem analīzes apstākļiem apgrieztās fāzes šķīdumu hromatogrāfijas apstākļos ar metanola ūdens šķīdumiem un

oktadecilsilikagelu (C18) saturošām kolonnām. Nav pētījumu, kuros modeļa izmantošana tiktu pārbaudīta uz oktil- (C8), ciano-(CN), fenil (Ph) un citiem apgrieztās fāzes tipa sorbentu veidiem.

4. Nav atrasti publicēti pētījumi par solvātu sorbcijas modeļa izmantošanu sorbcijas parametru prognozēšanai kustīgās fāzes sastāva gradienta apstākļos.

5. Eksperimentāli iegūto datu izmantošana modeļa parametru koriģēšanai ir efektīva metode struktūras-sorbcijas modeļa prognozējošās kapacitātes paaugstināšanai un optimizācijai. Šāda pieeja līdz šim literatūrā nav aprakstīta.

6. Apgrieztās fāzes kolonnu raksturošanai zinātniskajā periodikā ir aprakstītas daudzas testēšanas metodes un vairāki testēšanas maisījumu komplekti. Metodes nav saistītas ar specifiskām sorbcijas teorijām un sorbcijas un selektivitātes procesu termodinamiskajiem raksturojumiem, tāpēc to izmantošana parasti ir laikietilpīga.

7. Analītiskajā praksē ir nepieciešamas tiešas un ātras hromatogrāfiskā procesa termodinamiskajās likumībās sakņotas testēšanas metodes, kas ļautu salīdzināt kolonnu īpašības dažādos to darbības apstākļos.

2. EKSPERIMETĀLĀ DAĻA

2.1. Kolonnu raksturošanai izmantotie hromatogrāfisko analīžu apstākļi

Eksperimenti veikti ar AEŠH iekārtu *LaChrom HPLC System*, kas sastāvēja no sūkņa *L-7200*, diožu matricas detektora *L-7455*, pārejas moduļa *D-7000*, kolonnu termostata *L-7350* un automātiskās parauga ievadišanas iekārtas *L-7200* (*Merck, Hitachi*). Par kustīgājo fāzi izmantots metanola ūdens šķīdums (60%, v/v). Mērījumi veikti pie detektora viļņa garuma 254 nm, kolonnas termostata temperatūrā 30°C un ar kustīgās fāzes ātrumu 0,5 ml/min. Testos izmantoto kolonnu uzskaitījums, kuras laipni piegādāja to izgatavotāji, ir apkopots tabulā 2.1. Kolonnu numerācija un apzīmējumi tabulā 2.1. atbilst šī pētījuma tālākajā izklāstā atrodamajās tabulās un attēlos. Kolonnu testēšanai izmērītas sorbcijas koeficientu vērtības anilīnam, fenolam, benzolam un toluolam.

2.2. Kolonnas parametru aprēķināšana

Kolonnu parametri aprēķināti ar *ChromLife* programpaketes palīdzību. Par sākuma datiem izmantoti testa savienojumu izdalīšanas laiki, to struktūrformulas, organiskās piedevas veids kustīgajai fāzei (acetonitrils vai ūdens), kā arī to koncentrācija ūdenī (tilpuma daļās, v/v). Izmantojot izteiksmes 3.1-3.5 (apakšnodaļa 3.1.1), ar programmatūras palīdzību tika aprēķināti kolonnu parametri un noteiktas atšķirības testējamajai un salīdzināmajai kolonnai. Katra kolonna var tikt izmantota kā salīdzināmā.

Pētījumā izmantotās apgrieztās fāzes kolonnas (izmēri 125 × 4,6 mm) un to izgatavotāji

N	Kolonna	Izgatavotājs
1	Aluspher RP SelectB, 5 μm	Merck KGaA, Darmstadt, Vācija
2	LiChrospher 60 RP SelectB, 5 μm	Merck KGaA, Darmstadt, Vācija
3	LiChrospher100 RP8, 5 μm	Merck KGaA, Darmstadt, Vācija
4	Hypersil ODS, 5 μm	Hypersil, Apvienotā Karaliste
5	Nucleosil 120-5-C18	Macherey Nagel, Düren, Vācija
6	Nucleosil 100-5-C18	Macherey Nagel, Düren, Vācija
7	Spherisorb S ODS-2, 5 μm	Phase Separation, Apvienotā Karaliste
8	Lichrosorb RP18, 5 μm	Merck KGaA, Darmstadt, Vācija
9	Kromasil 100 C18, 5 μm	Eco Nobel, Zviedrija
10	Zorbax ODS, 5 μm	Rocland Technology, ASV
11	Eurospher 100-5-C18	Knauer GmbH, Berlin, Vācija
12	Supherspher100R P18, 4 μm	Merck KGaA, Darmstadt, Vācija
13	LiChrospher100 RP18, 5 μm	Merck KGaA, Darmstadt, Vācija
14	Superspher100R P18e, 4 μm	Merck KGaA, Darmstadt, Vācija
15	Purospher RP18e, 5 μm	Merck KGaA, Darmstadt, Vācija
16	LiChrospher100 RP18e	Merck KGaA, Darmstadt, Vācija
17	TSKgel SuperODS, 2 μm	TosoHaas GmbH, Vācija

2.3. Lamotrigīna un tā atvasinājumu hromatogrāfiskās atdalīšanas apstākļi

Eksperimenti veikti ar AEŠH iekārtu *Agilent 11000*. Kolonna (*Inertsil ODS-3* (4,6 x 150 mm) i.d., 5 µm daļiņu izmērs, *GL Sciences Inc.*, Torrance, ASV) izmantota ar kustīgās fāzes plūsmas ātrumu 1,5 ml/min. Par kustīgo fāzi izmantots acetoniitrila-TEA / perhlorskābes šķīdums, kura pH 2. Detektorā uzstādītais viļņa garums bija 250 nm, kolonnas temperatūra - 30°C.

Programpakete: *ChromSword*[®]*Auto* programnodrošinājums analīzes metodes izstrādei ar AEŠH (*VWR International GmbH*, Darmstadt, Vācija) tika izmantots savienojumu parametru aprēķināšanai no struktūrformulām, hromatogrammu simulācijai un sorbcijas parametru iegūšanai. Datu statistiskai apstrādei izmantots *Microsoft Excel*.

2.4. Hromatogrāfiskās analīzes apstākļi pētītajiem herbicīdu maisījumiem

Eksperimenti veikti ar AEŠH iekārtu *LaChrom HPLC System*, kas sastāvēja no sūkņa *L-7200*, diožu matricas detektora *L-7455*, pārejas moduļa *D-7000*, kolonnu termostata *L-7350* un automātiskās parauga ievadīšanas iekārtas *L-7200* (*Merck, Hitachi*). Izmantoti apgrieztās fāzes kolonnu sorbenti ar oktadecil-, oktil-, fenil- un cianogrupām: *Purospher RP-18e* un *Lichrospher SelectB* (125 x 4) mm i.d., 5 µm daļiņu izmēru (*Merck KGaA*, Darmstadt, Vācija), *XTerraPhenyl* (125 x 4.6) mm i.d., 5 µm daļiņu izmēru (*Waters*, Millford, ASV), *Inertsil CN – 3* (150 x 4.6) mm i.d., 5 µm daļiņu izmēru (*GL Sciences Inc.*, Torrance, ASV) ar kustīgās fāzes plūsmas ātrumu 1,00 ml/min. Par kustīgajās fāzēs izmantoti acetoniitrila-ūdens un metanola ūdens šķīdumi. Detektora darbībai izmantotais viļņa garums bija 220 nm, bet kolonnu termostata temperatūra - 30°C.

Programpakete: *ChromSword*[®]*Auto* programnodrošinājums metodes izstrādei AEŠH (*VWR Scientific Instruments GmbH*, Darmstadt, Vācija) tika izmantots savienojumu parametru aprēķināšanai no struktūrformulām, hromatogrammu simulācijai un sorbcijas parametru noteikšanai. Datu statistiskai apstrādei izmantots *Microsoft Excel*.

3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

3.1. AF AEŠH kolonnu raksturošana un salīdzināšana

Kā jau minējām darba 1. daļā, analītiskās ķīmijas žurnālos ir aprakstītas vairākas testēšanas metodes apgrieztās kolonnu raksturošanai. Tajās plaši izmantoti tādi kolonnu parametri kā hidrofobitātes selektivitāte, polaritāte u.c., lai gan tie nav saistīti ar specifiskajām sorbcijas teorijām vai sorbcijas un selektivitātes procesu termodinamiskajām funkcijām. Būtībā katra autoru kopa lieto atšķirīgu kolonnas parametru definējumu [5,13,113,114]. Šajā pētījumā tiek piedāvāts apgrieztās fāzes kolonnu raksturošanai izmantot gan solvātu sorbcijas modeli, gan dažus empīriskus testus. Solvātu sorbcijas modelis ļauj vairākas kolonnu īpašības izteikt termodinamiski korektākā veidā, balstoties uz brīvās enerģijas maiņu hromatogrāfiskajā procesā. Hromatogrāfiskos testus nepieciešams lietot tādu kolonnu īpašību novērtēšanai, kuras ir grūti aprakstāmas ar enerģijā balstītiem jēdzieniem. Ievēriības vērtas ir kolonnu salīdzināšanas iespējas. Tāpēc ir nepieciešams korektāks dažu parametru definējums, lai būtu iespējams salīdzināt dažādas kolonnas vai vienas kolonnas dažādus stāvokļus. Tālāk sekos daži jēdzieni un definīcijas, kas ir izmantojami apgrieztās fāzes kolonnu salīdzināšanai un raksturošanai.

3.1.1. Teorija

Jēdzieni un definīcijas

Vielu sorbcijas aprakstam AF AEŠH iepriekš esam izmantojuši solvātu sorbcijas divu slāņu kontinuma modeli un ieguvuši sakarību 1.11, kas vienkāršākajā versijā ir attēlojama šādi :

$$\ln k = a(V)^{2/3} + b(\Delta G_w) + c, \quad (3.1)$$

kur V ir sorbāta parciālais mola tilpums (cm^3/mol); ΔG_w ir sorbāta mijiedarbības enerģija ar ūdeni (kJ/mol); a, b un c ir parametri, kurus nosaka apgrieztās fāzes sorbents ar izmantoto kustīgo fāzi.

Jāatzīmē, ka vienādojumu (3.1) var izmantot gan kolonnas raksturlielumu a , b un c noteikšanai (kolonnas kalibrācijai), gan sorbātu parametru noteikšanai kalibrētā kolonnā. Kolonnas raksturlielumu noteikšanai var izmantot references savienojumu grupu ar zināmām vai definētām V un ΔG_w vērtībām. Saprotams, ka viena un tā pati references savienojumu kopa ir jālieto dažādu kolonnu īpašību salīdzināšanai. Solvātu sorbcijas modeļa ietvaros tiks definēti tādi jēdzieni kā kolonnas polaritātes selektivitāte, polaritāte, izmēra selektivitāte un hidrofobitātes selektivitāte.

Polaritātes selektivitāte

Ja vienādojumu (3.1) izmanto divu vienāda izmēra sorbātu 1 un 2 atdalīšanai ($V_1 = V_2$), kuru polaritāte ir dažāda ($\Delta G_{w,1}$ un $\Delta G_{w,2}$), tad identiskos apstākļos ($c = \text{const}$):

$$\ln \alpha = b(\Delta \Delta G_w), \text{ un } b = \ln \alpha / (\Delta \Delta G_w),$$

kur α ir sorbātu atdalīšanas selektivitāte un $\Delta \Delta G_w = \Delta G_{w,1} - \Delta G_{w,2}$

Tādā veidā lielumu b var definēt kā kolonnas polaritātes selektivitāti ar dimensiju $\frac{\text{mol}}{\text{J}}$.

No praktiskiem apsvērumiem *polaritātes selektivitātes vienību var definēt kā atdalīšanas faktora logaritma maiņu, ja sorbāta un ūdens mijiedarbības enerģija mainās par 1,0 kJ/mol.*

Citādi izsakoties, polaritātes selektivitāte ir kolonnas spēja noteiktos apstākļos atdalīt vienāda izmēra sorbātus ar atšķirīgu polaritāti. Sorbāta polaritātes mērs turpmāk tiks definēts kā tā mijiedarbības enerģija ar ūdeni (ΔG_w), bet kolonnas polaritātes selektivitātes mērvienība ir lielums $b \left(\frac{\text{mol}}{\text{kJ}} \right)$.

Polaritāte

Parametra b vērtību nosaka virsmas slāņa (VS) dielektriskās caurlaidības funkciju starpība nekustīgajai (NF, $f(\varepsilon_s)$) un kustīgajai fāzei (KF $f(\varepsilon_m)$). Lielums ε_s ir attiecīgi virsmas slāņa un kustīgās fāzes dielektriskā caurlaidība eksperimenta apstākļos, ko izsaka izteiksmes 1.10 un 1.11.

Nekustīgās fāzes *polaritāti definē kā virsmas slāņa dielektrisko caurlaidību eksperimenta apstākļos.*

Izmēra selektivitāte

Ja vienādojumu (3.1) izmanto divu vienādas polaritātes ($\Delta G_{w,1} = \Delta G_{w,2}$), sorbātu 1 un 2 atdalīšanai, kuru izmēri V_1 un V_2 ir dažādi, tad identiskos apstākļos ($c = \text{const}$):

$$\ln \alpha = a(\Delta V^{2/3}) \text{ un } a = \ln \alpha / (\Delta V^{2/3}),$$

kur $\Delta V^{2/3} = V_1^{2/3} - V_2^{2/3}$

Lielumu a var definēt kā sorbenta izmēra selektivitāti ar dimensiju mol/cm^2 .

Tādējādi, solvātu sorbcijas modeļa ietvaros *izmēra selektivitātes vienību definē kā atdalīšanas faktora logaritma maiņu, ja sorbāta virsmas veidotais dobums ūdenī izmainās par $1,0 \text{ cm}^2/\text{mol}$* . Būtībā, izmēra selektivitāte ir kolonnas spēja noteiktos apstākļos atdalīt savienojumus ar vienādu polaritāti, bet dažādu virsmas laukumu.

Lieluma a vērtību nosaka nekustīgās fāzes slāņa un kustīgās fāzes virsmas spraugumu starpība (izteiksmes 1.10 un 1.11).

Kolonnas konstante

Vienādojumā 3.1 parametrs c ir *kolonnas konstante* noteiktos apstākļos, kuru, galvenokārt, nosaka fāzu attiecību logaritms, virsmas slāņa vidējais mola tilpums un citi lielumi.

Hidrofobo iedarbību selektivitāte

Hidrofobo iedarbību (jeb metilen-) selektivitāte ir bieži izmantots sorbentu raksturlielums AF AEŠH [5,13,113,114]. Aplūkosim šo jēdzienu solvātu sorbcijas modeļa ietvaros, ko izsaka vienādojums 3.1. Lai noteiktu kolonnas parametrus a , b un c , tika izmērītas sorbcijas faktoru vērtības benzolam, toluolam un fenolam, par kustīgajām fāzēm izmantojot metanola ūdens šķīdumus ar metanola saturu 60, 70 un 80%. Tādos pat apstākļos tika noteiktas ΔG_w vērtības šiem savienojumiem (3.1 tab.).

Alkilbenzolu ΔG_w vērtības, iegūtas ar sorbentu *Nucleosil C18*

Savienojums	ΔG_w , kJ/mol
Etilbenzols	30,5 – 32,5
Propilbenzols	29,8 – 32,0
Butilbenzols	28,4 – 31,2

Tabulā 3.1 atrodamās ΔG_w vērtības ļauj secināt, ka tās praktiski nav atkarīgas no $-\text{CH}_2$ -grupu skaita alkilķēdē. Tādēļ var uzskatīt, ka sorbcijas faktoru pieaugumu nosaka vielu molekulu izmēra palielināšanās. Šis apstāklis liek izdarīt praktiski svarīgu secinājumu, ka ar homologiem vien nav iespējams raksturot kolonnas polaritātes selektivitāti (vienādojumam 3.1 šādā gadījumā nav atrisinājumu). Alkilmetilengrupu parciālā mola tilpuma inkrementu vidējā eksperimentālā vērtība ūdenī ir $15,68 \text{ cm}^3/\text{mol}$. Ievērojot šo vērtību, jāsecina, ka *hidrofobo iedarbību (jeb metilen-) selektivitāte ir izmēra selektivitātes īpašs gadījums un to var definēt kā atdalīšanas faktora maiņu, sorbāta izmēram mainoties par $15,68 \text{ cm}^3/\text{mol}$, ja vienlaikus nemainās elektrostatisko iedarbību enerģija ar ūdeni.*

Hidrofobitāte

Hidrofobitāte ir parametrs, kuru pagaidām nav izdevies izvest un definēt ar fizikāli ķīmisko mērvienību palīdzību. Bieži vien *hidrofobitātes, kā kolonnas spējas raksturošanai noteiktos apstākļos sorbēt apolārus savienojumus*, izmanto benzola un toluola izdalīšanas faktorus [5]. Šādā gadījumā kolonnas hidrofobitāti labāk ir saistīt ar apolāro alkil- un arilgrupu absolūto daudzumu kolonnā, nekā ar šo grupu koncentrāciju uz ķīmiski saistītās fāzes virsmas. Kolonnu hidrofobitātes salīdzināšanai esam ieteikuši izmantot šādu vienkāršu izteiksmi:

$$H = \frac{k_{\text{toluols}} + k_{\text{benzols}}}{2}, \quad (3.2)$$

kur

k_{toluols} un k_{benzols} ir izdalīšanas koeficientu vērtības attiecīgi toluolam un benzolam.

Silanolaktivitāte (NH_2 – iedarbības)

Silanolaktivitāte ir empīrisks kolonnas raksturlielums. Lai raksturotu silanolaktivitāti kā sorbenta virsmas slāņa spēju noteiktos apstākļos specifiski iedarboties ar analītu, kurā ir slāpekļa atoms ar elektronu pāri nesaistošajā orbitālē, ir ieteikti dažādi testēšanas maisījumi [5, 7, 8, 13, 115]. Mēs uzskatījām, ka, no praktiskā redzes viedokļa, piemērotākais ir maisījums, kuru ieteikuši Engelhart un Jungheims [5], kas ieviesa vairākas likumības kolonnu silanolaktivitātes raksturošanai. Viena šāda likumība nosaka, ka labi deaktivētā kolonnā anilīns sorbējas vājāk nekā fenols. Anilīna un fenola relatīvā sorbcija var arī raksturot analītu specifiskās iedarbības, kas realizējas starp ar benzola gredzenu saistītām aminogrupām un silanolgrupas nesaturošu nekustīgās fāzes virsmas slāni. Cita likumība raksturo sorbenta atdalīšanas selektivitāti attiecībā pret o-, m- un p-toluidīniem. Minēto likumību priekšrocība ir apstākļi, ka tās ir kvantitatīvi formalizējamas.

Ātrai silanolaktivitātes (specifiskās NH_2 – iedarbības, NI) novērtēšanai esam ieteikuši šādu izteiksmi:

$$NI = 1 + 3 \left[\frac{k_{anil.}}{k_{fenols}} - 1 \right], \quad (3.3)$$

kur $k_{anil.}$ un k_{fenols} ir attiecīgie izdalīšanas faktori anilīnam un fenolam. Izteiksme ir piemērota empīriskai nelineārai NI skalai:

$$NI = 0,0, \text{ ja } \frac{k_{fenols}}{k_{anil.}} = 1,5$$

$$NI = 0,5, \text{ ja } \frac{k_{fenols}}{k_{anil.}} = 1,2$$

$$NI = 1,0, \text{ ja } \frac{k_{fenols}}{k_{anil.}} = 1,0$$

Detalizētākiem pētījumiem lietojamas ir arī citas likumības [5].

Kolonnu salīdzināšana

Dažādu kolonnu salīdzināšanai ir divas daļas: 1) atšķirības starp kolonnām un 2) rezultātu atkārtojamība, pārejot no vienas kolonnas uz citu (starpkolonnu atkārtojamība).

Abi lielumi tiek izmantoti, lai gan kvantitatīvi nav definēti. Īsi aplūkosim abu faktoru atšķirības. Kolonnas var salīdzināt pēc viena (i) vai vairākiem parametriem. Kvantitatīvai atšķirību novērtēšanai ir izmantojams šāds integrāls kritērijs:

$$DKV = \frac{\sum_i W_i \Delta_i}{\sum_i W_i}, \quad (3.4)$$

Kur DKV ir *differences kritērija vērtība*, W ir parametra i ieguldījums un Δ_i ir relatīvā starpība starp parametriem. Tas ļāva izveidot kolonnu atšķirību skalu (3.2. tab.).

3.2. tabula

Kolonnu atšķirību skala

<i>Atšķirība</i>	<i>DKV</i>
Ļoti nozīmīga	>0,125
Nozīmīga	0,100-0,125
Vidēja	0,075-0,100
Nenozīmīga	0,050-0,075
Ignorējama	<0,025

Tas nozīmē, ka salīdzinot 2 parametrus, par ļoti nozīmīgām jāuzskata atšķirības, kas pārsniedz 12,5 %. Analītiķis pēc vajadzības var izveidot jebkādu DKV .

Divu parametru P_1 un P_2 *starpkolonnu reproducējamību* (Rp) var raksturot kvantitatīvi:

$$Rp = 1 - \frac{2|P_1 - P_2|}{|P_1| + |P_2|} \quad (3.5)$$

Tādējādi var izveidot starpkolonnu reproducējamības skalu, balstītu uz viena parametra vērtībām (3.3. tab.)

Kolonnu reproducējamību skala

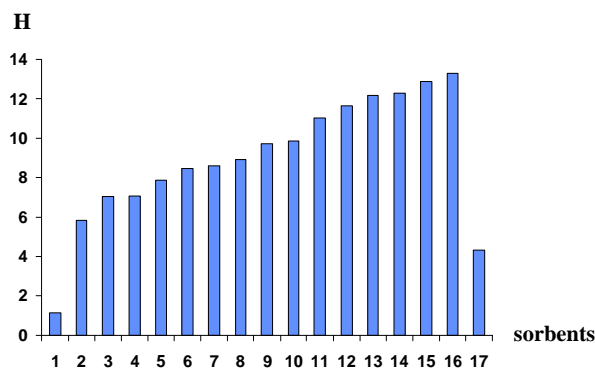
Reproducējamība	<i>R_p</i>
Augsta	0-0,05
Vidēja	0,05-0,100
Zema	>0,100

3.1.2 Rezultātu izvērtējums

Darbā tika pārbaudītas tabulā 2.1 uzskaitītās kolonnas.

Kolonnu raksturojums***Hidrofobitāte (H)***

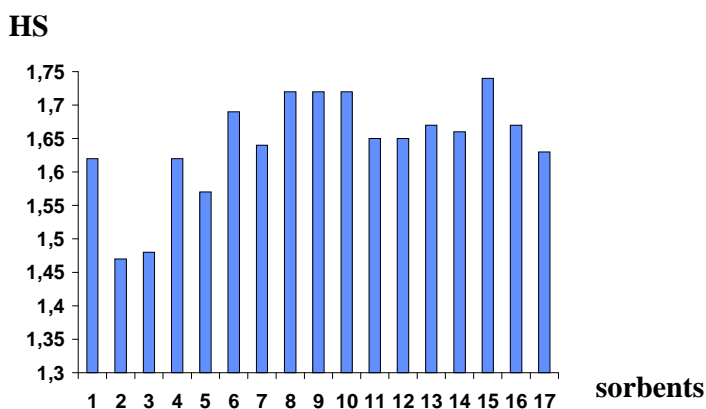
Kolonnu hidrofobitāte (*H*) mainās starp 1,1 (*Aluspher RP Select B*) un 13,3 (*LiChrospher 100 RP18*). Turklāt, pamanāms, ka nav stingru robežu starp sorbentiem ar oktil- un oktadecilgrupām, kas ķīmiski saistītas ar silikagēla virsmu: oktadecilgrupas saturošajam *TSK Super ODS* piemīt zemākas *H* vērtības nekā *LiChrospher C8* un *Lichrospher 60 RP Select B*, kuros ir oktilgrupas (3.1. att.). Redzams, ka sorbenti *C18 LiChrospher*, *Superspher* un *Purosher* ir izmantojami relatīvi hidrofīlu savienojumu atdalīšanai, kurus raksturo zema sorbcijas pakāpe un kad praktiski svarīgas ir augstas *H* vērtības.



3.1. att. Sorbentu hidrofobitāte (H) (kolonnu numerācija atbilst tab. 2.1)

Hidrofobitātes (izmēra) selektivitāte

Kolonnu hidrofobitātes selektivitāte (HS) mainās no 1,47-1,48 (*LiChrospher 60 RP Select B*, *LiChrospher RP8*) līdz 1,72-1,75 (*Zorbax ODS*, *Kromasil-100 C18*, *Purospher RP18*) (3.2. att.). Trīs pēdējie sorbenti ir iesakāmi metodes izstrādei, ja ir svarīga maksimāla selektivitāte pret analizējamās vielas daļiņu izmēru, kā tas ir homologu atdalīšanā, vai tādu vielu analīzē, kurām ir vienāda polaritāte un tikai nedaudz atšķirīgs izmērs.

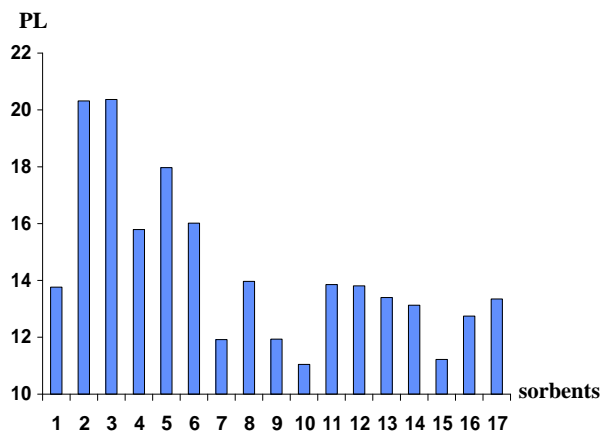


3.2. att. Sorbentu hidrofobitātes selektivitāte (HS)(kolonnu numerācija atbilst tab.2.1)

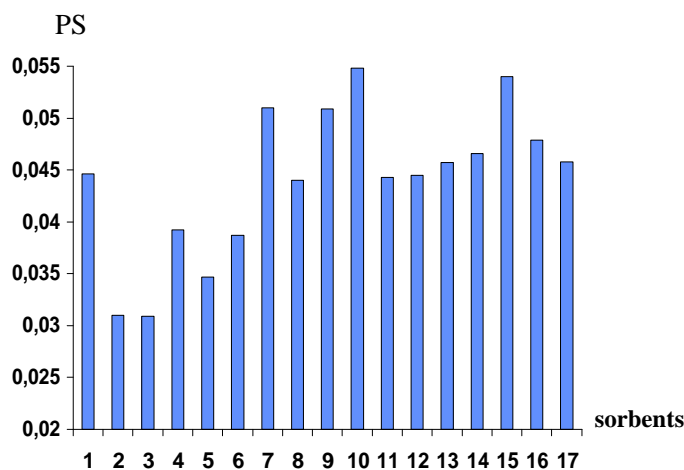
Polaritāte un polaritātes selektivitāte

Kolonnu polaritāte (PI) mainās no 11,1 (*Purospher RP18*, *Zorbax ODS*) līdz 20,3 (*LiChrospher60 RP Select B*, *LiChrospher RP8*) (3.3. att.). Jo zemāka ir sorbenta virsmas slāņa polaritāte, jo augstāka ir polaritātes selektivitāte (3.4. att.). Tas nozīmē, ka pirmos

divus sorbentus ir vērts pārbaudīt, izstrādājot analīzes metodi vienāda izmēra savienojumiem ar nedaudz atšķirīgu polaritāti.



3.3. att. Sorbentu polaritāte (Pl) (kolonnu numerācija atbilst tab.2.1)

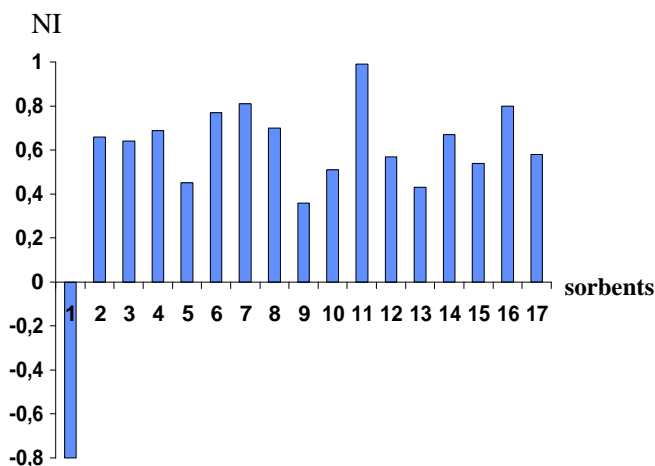


3.4. att.Sorbentu polaritātes selektivitāte (PS) (kolonnu numerācija atbilst tab.2.1)

NH_2 – iedarbības(NI)

Sorbcijas parametru starpību anilīnam un fenolam var saistīt ar silanolaktivitāti sorbentiem, kas iegūti uz silikagēla pamata [6]. Daudzos gadījumos liela ($k_{anilīns} / k_{fenols}$) attiecība ir raksturīga bāziskām vielām, kuru veidotās joslas hromatogrammās ir platas un asimetriskas [5, 21]. Jāuzskata, ka NI vērtību kritiskais lielums sorbentiem uz silikagēla pamata ir $>0,9-1,1$. Izmantojot bāzisku vielu analīzē kolonnas ar $NI >1,0$ gandrīz vienmēr iegūst platas un asimetriskas joslas. Balstoties uz šādu apsvērumu, jāsecina, ka bāzisku analītu atdalīšanai, piemērotākās ir kolonnas ar zemām NI vērtībām. No pārbaudītajiem sorbentiem uz silikagēla pamata, vismazākās NI vērtības novērotas sorbentam *Kromasil*

C18 (0,36), bet lielākās – *Eurospher C18* (0,99). Samērā zema *NI* vērtība piemīt sorbentiem *LiChrospher 100 RP 18 e*, *Nucleosil 120 C18*, *Zorbax ODS* un *Purospher C18* (0,4-0,5) (3.5. att.). Acīmredzams, ka skābjām silanolgrupām nav ieguldījuma atdalīšanas selektivitātē, ja izmanto sorbentus, kuru pamatā nav silikagēls. Piemēram, uz *Aluspher RP Select B* (ar polibutadiēnu pārklāts alumīnija oksīds) virsmas nav silanolgrupu. Tādēļ sorbāti pārsvarā iedarbojas ar virsmas slāņa fragmentu $(-CH_2-CH=CH-CH_2-)_n$ metilengrupām. Tāpēc mazu molekulu analīzes gadījumā, kurās nav protonizētu aminogrupu, uz šāda tipa sorbentiem $((-CH_2-)_n-CH_3)$ ir sagaidāma līdzīga atdalīšanas selektivitāte. Iespējams, ka *NI* vērtība sorbentam *Aluspher RP Select B* (*NI*=-0,80) ir uzskatāma par zemāko robežvērtību $(-CH_2-)_n$ tipa sorbentiem, ja, sorbējoties anilīnam, nenotiek joniskas dabas iedarbības ar sorbenta virsmu.



3.5. att. NH_2 – iedarbības(*NI*) (kolonnu numerācija atbilst tab.2.1)

Kolonnu salīdzinājums

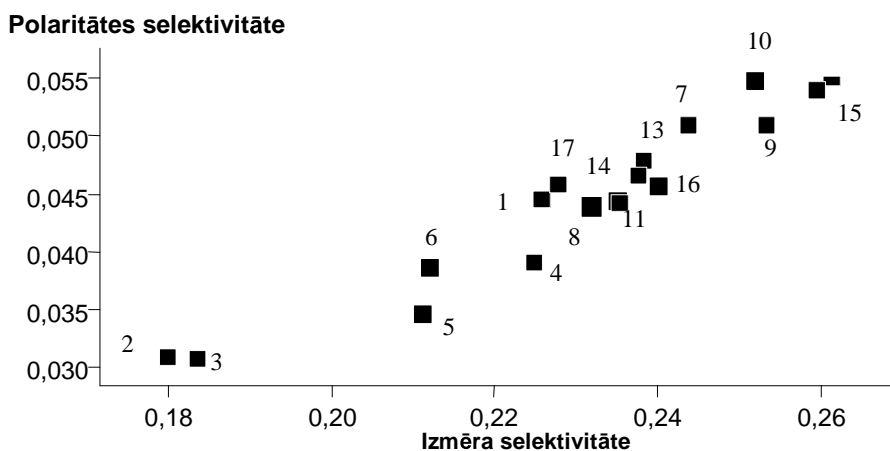
Atšķirības starp dažādiem sorbentiem var novērtēt kvantitatīvi, pamatojoties uz *DKV* vērtībām. Kādu no sorbentiem jāizvēlas kā references materiālu un pārējie ir jāsalīdzina attiecībā pret to. Izvēloties par references sorbentu *Purospher RP 18*, var pamanīt, ka tam līdzīgākais ir *Zorbax ODS* (3.4. tab.), bet atšķirīgākais – *LiChrospher 60 RP Select B*. Tas nozīmē, ka metodes pārnesei vislabāk izmantojams pāris ir *Purospher RP 18/Zorbax ODS*, bet metodes izstrādei būtu jāizvēlas pāris *Purospher RP 18* (vai *Zorbax ODS*)/ *LiChrospher 60 RP Select B*.

Kolonnu salīdzinājums ar *Purospher RP 18* kā references sorbentu

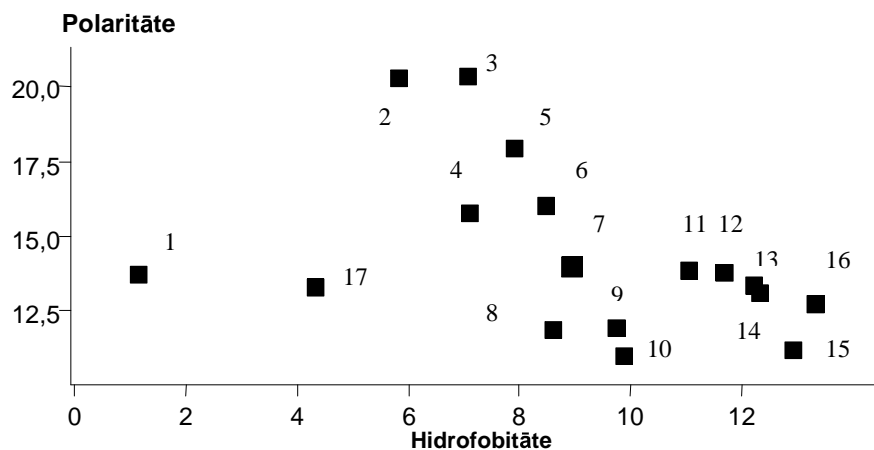
Sorbents	Δa , %	Δb , %	Δc , %	ΔH , %	ΔNI , %	ΔPI , %	ΔHS , %	DKV
Purospher RP-18	0	0	0	0	0	0	0	0,000
Zorbax ODS	-3	1	-4	-27	-7	-2	-2	0,075
Superspher 100 RP 18	-10	-19	11	-10	5	21	-5	0,116
Superspher 100 RP 18e	-9	-15	14	-5	21	16	-5	0,121
LiChrospher100-5 RP 18e	-8	-17	9	-6	24	18	-4	0,121
Kromasil 100 C18	-2	-6	-12	-28	-40	6	-1	0,137
LiChrospher100-5 RP 18	-9	-12	21	3	38	13	-5	0,142
Spherisorb S ODS-2	-6	-6	-7	-40	40	6	-3	0,154
Lichrosorb RP-18	-11	-20	-1	-36	26	22	-6	0,176
Eurospher 100-5- C18	-10	-20	7	-16	58	21	-5	0,194
Hypersil ODS	-14	-32	-12	-58	24	34	-8	0,260
Nucleosil 100-5- C18	-20	-33	13	-42	34	35	-10	0,268
TSKgel SuperODS (2um)	-13	-16	-28	<-99	7	17	-7	0,270
Nucleosil 120-5- C18	-21	-43	3	-48	-19	46	-11	0,274
LiChrospher100 RP-8	-34	-54	30	-59	16	58	-16	0,382
LiChrospher60RP selectB	-36	-54	23	-76	19	58	-17	0,403
Aluspher RP SelectB	-14	-19	-69	<-99	<-99	20	-7	0,711

Sorbentu kartes

Kolonnu raksturojumu var pārveidot to parametru divu dimensiju kartēs (3.6.-3.7. att.).



3.6. att. Sorbentu polaritātes selektivitātes un izmēra selektivitātes karte.

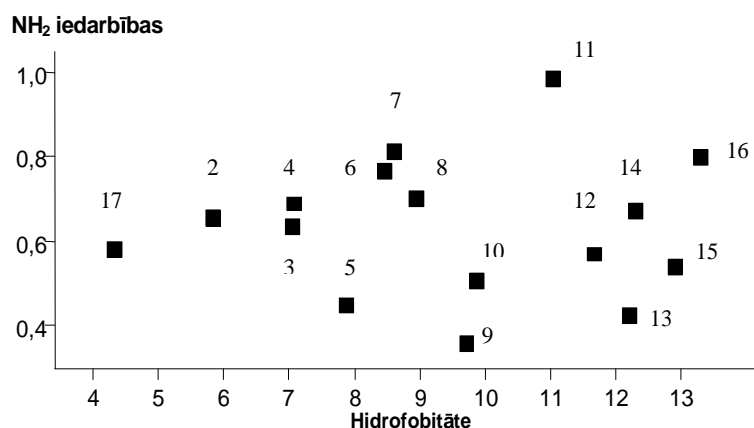


3.7. att. Sorbentu polaritātes un hidrofobitātes selektivitātes karte.

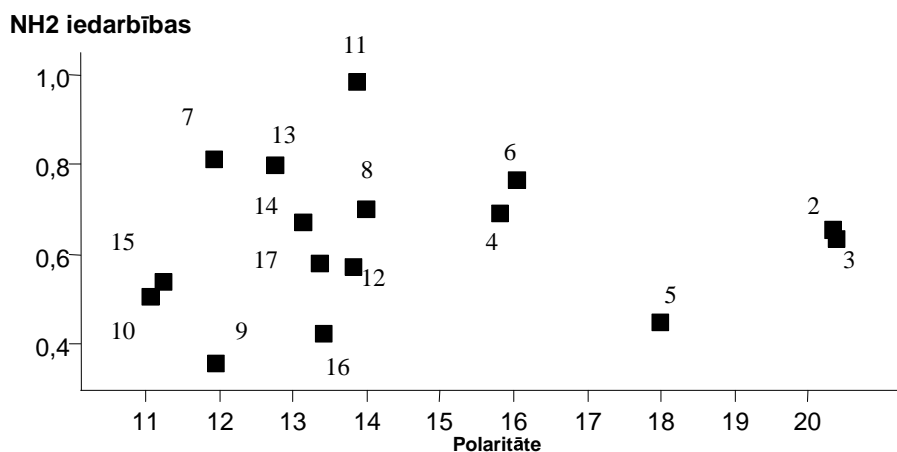
Šāda veida kartes ir izmantojamas sorbenta izvēlei metodes izstrādes procesā vai metodes pārnesēi no viena sorbenta uz citu. Balstoties uz polaritātes selektivitātes - izmēra selektivitātes karti (3.6. att.), var izvēlēties kolonnas ar atdalīšanas īpašību vislielākajām atšķirībām: *Purospher RP 18e* un *LiChrospher60 RP Select B* ir viens no iespējamajiem kolonnu komplektiem metodes izstrādē, kuru izmantošana ļautu iegūt maksimāli atšķirīgas selektivitātes vērtības.

Polaritātes – hidrofobitātes karti (3.7. att.) var izmantot, lai izvēlētos kolonnas ar līdzīgu hidrofobitāti, bet būtiski atšķirīgu polaritāti un polaritātes selektivitāti. Tās var būt *LiChrospher C8* (3) un *LiChrosorb C18* (8) vai *LiChrospher 60 RP Select* (2) un *TSK Gel Super ODS* (17). Atzīmēšanas vērts ir fakts, ka *TSK Gel Super ODS* un *Aluspher RP Select B* piemīt daudz mazāka hidrofobitāte nekā citām C18 kolonnām, bet visai augsta polaritātes un izmēra selektivitāte.

Pamanāma ir sakarība starp polaritātes un izmēra selektivitāti (3.6. att.), savukārt, starp NH_2 – iedarbībām un hidrofobitāti (hidrofobo selektivitāti, polaritāti) saistības praktiski nav (3.8. att.). *NI-H* un *NI – Pl (HS)* kartes (3.8.-3.9. att.) ir izmantojamas, lai izvēlētos kolonnas bāziskas dabas vielu atdalīšanai vai pārnestu analīzes metodi no vienas kolonnas uz citu. Šādā gadījumā ir vērts izvēlēties kolonnas ar tuvām *NI*, *Pl* un *HS* vērtībām. Tomēr, ir iespējams, ka kolonnas ar vienādiem parametriem, kas iegūti, izmantojot noteiktu testa maisījumu, uzrādīs nedaudz atšķirīgas atdalīšanas īpašības citam maisījumam. Iespējams, ka ideālu testa maisījumu un testēšanas metožu vienkārši nav, vai tās ir pārāk sarežģītas. Mūsu pieredze rāda, ka, ja kolonnas uzrāda atšķirīgas *NI* un selektivitātes parametru vērtības, izmantojot vienkāršu testēšanas maisījumu, nav vērts ar tām pūlēties, mēģinot panākt daudzu komponentu maisījuma atdalīšanu.



3.8. att. Sorbentu NH_2 –iedarbību un hidrofobitātes karte.



3.9.att. Sorbentu NH_2 –iedarbību un polaritātes karte.

3.2 Analīzes apstākļu prognozēšana AF AEŠH, izmantojot sorbātu uzbūvi un kolonnu raksturlielumus nemainīga kustīgās fāzes sastāva (izokrātiskos) apstākļos

Kā jau minējām nodaļā 1.2, solvātu sorbcijas modelis apgrieztās fāzes šķidrums hromatogrāfijā mūsdienās ir uzskatāms par piemērotāko sorbcijas un selektivitātes paredzēšanai. Tā pamatā ir vienkāršs divu slāņu hromatogrāfiskās sistēmas kontinuma modelis, kas sīkāk raksturots nodaļā 1.3. Modelis ir izmantots sākotnējo izokrātisko apstākļu prognozēšanai, pamatojoties uz vielas struktūrformulu un kolonnu īpašībām („pirmā viesā” metode).

Diemžēl, modelis nespēj sniegt precīzu izdalīšanas laiku prognozi, balstoties uz struktūrformulu un kolonnas īpašībām, kas būtu izmantojami atdalīšanas optimizācijai. No pieredzes ir zināms, ka kompleksu maisījumu hromatogrāfiskās atdalīšanas optimizācijai ar datorprogrammu palīdzību, nepieciešams, lai atkāpes lielums starp eksperimentālajām un prognozētajām vērtībām nepārsniegtu 15%. Šādā gadījumā mēs iesakām izmantot metodi „solī pa solim” (secīgu tuvinājumu metode) eksperimentu skaita samazināšanai, kas nepieciešami optimālu analīzes apstākļu noskaidrošanai. Vispirms solvātu sorbcijas modeli izmanto kā „pirmā viesā” metodi, savukārt, nākošajos soļos notiek modeļa parametru korekcija.

Metodes izstrādē ar datorprogrammas palīdzību kā arī sorbcijas parametru aprēķināšanai AF AEŠH, sākuma punkts ir sorbāta uzbūve un kolonnas īpašības (nulles tuvinājums), kam seko modeļa smalkāka pielāgošana (pirmais tuvinājums), balstoties uz pirmā mēģinājuma datiem un izmantojot solvātu sorbcijas modeli (izteiksme 3.1). Metodes lietošanai nepieciešams, lai būtu zināmi abi sorbāta parametri (tilpums un iedarbību enerģija ar ūdeni) un apgrieztās fāzes raksturlielumi. Dažādu kolonnu sorbcijas spēju kvantitatīvai raksturošanai nepieciešami 3 lielumi – a, b un c, kas nosaka sorbātu atdalīšanas selektivitāti, ja tiem atšķiras tilpums (V) un polaritāte ($\Delta G_{e.s.H_2O}$). Apgrieztās fāzes kolonnu raksturlielumus noteicām vispirms plašā metanola un acetonitrila ūdens šķīdumu diapazonā, kā aprakstīts [2, 10]. Rezultāti, kas iegūti pie 2 acetonitrila un ūdens koncentrācijām, ir atrodami tabulā 3.5 un norāda uz mūsu darbā lietoto kolonnu īpašību atšķirībām.

Apgrieztās fāzes kolonnu raksturlielumi, iegūti ar 50 un 30% acetnitrila ūdens šķīdumiem

Sorbents	Kustīgā fāze					
	50% acetnitrila			30% acetnitrila		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>
Purosphere RP 18e	0,2535	0,0441	-2,130	0,4031	0,0583	-3,336
Lichrosorb SelectB	0,1649	0,0292	-0,905	0,2947	0,0407	-1,9695
Xterra Phenyl	0,1336	0,0227	-0,8767	0,2620	0,0363	-2,000

Redzams, ka *XTerra Phenyl* parametri pie 30% ACN ūdenī ir tuvi *Purospher RP 18e* atbilstošajiem lielumiem, ja ACN koncentrācija ir 50%.

Metodes pārbaudei tika izpētīta dažādu savienojumu (3.18. tab.) hromatogrāfiskā izturēšanās, par kustīgām fāzēm izmantojot acetnitrila ūdens šķīdumus plašā koncentrāciju diapazonā (. 3.6.-3.8. tab).

Sorbcijas faktoru (*k*) vērtības, kas iegūtas ar acetnitrila ūdens šķīdumus saturošiem eluentiem

Sorbents: *Purospher RP 18e*

Vielas	Acetnitrila koncentrācija kustīgajā fāzē, %									
	80	60	45	38	33	28	23	18	12	7
Deizopropil-atrazīns	0,05	0,14	0,30	0,44	0,57	0,93	1,34	1,78	3,72	8,35
Dezetil-atrazīns	0,11	0,26	0,58	0,86	1,17	1,97	2,61	4,76	9,95	23,0
Bromacils	0,17	0,44	1,12	1,81	2,73	4,34	7,50	14,3		
Simazīns	0,27	0,68	1,78	2,68	3,72	5,46	8,58	15,0		
Izoproturons	0,30	0,90	2,47	4,44	7,36	13,8				
Atrazīns	0,39	1,09	3,05	4,73	7,09	11,3				
Diurons	0,34	0,87	3,12	5,32	8,03	14,4				
Dihlobenils	0,59	1,94	5,63	10,6	16,6	28,9				
Linurons	0,57	1,90	5,89	11,8	20,3	37,7				

Sorbcijas faktoru (*k*) vērtības, kas iegūtas par eluentiem izmantojot acetonitrila ūdens šķīdumus

Sorbents: *Lichrospher Select B*

Vielas	Acetonitrila koncentrācija kustīgajā fāzē, %						
	94	84	44	37	32	29	20
Deizopropil-atrazīns	0,41	0,42	0,79	0,88	1,02	1,33	-
Dezetil-atrazīns	0,42	0,41	0,96	1,35	1,65	2,17	-
Bromacils	0,44	0,46	1,41	2,12	2,88	3,90	7,13
Simazīns	0,50	0,55	1,93	2,70	3,85	4,61	7,67
Izoproturons	0,53	0,57	2,77	4,67	6,84	9,46	21,1
Atrazīns	0,53	0,62	2,89	4,27	5,80	7,82	17,0
Diurons	0,54	0,59	2,89	4,58	6,58	9,48	24,1
Dihlobenils	0,48	0,67	4,99	7,84	11,6	15,7	39,0
Linurons	0,52	0,66	5,10	8,14	13,0	20,0	52,7

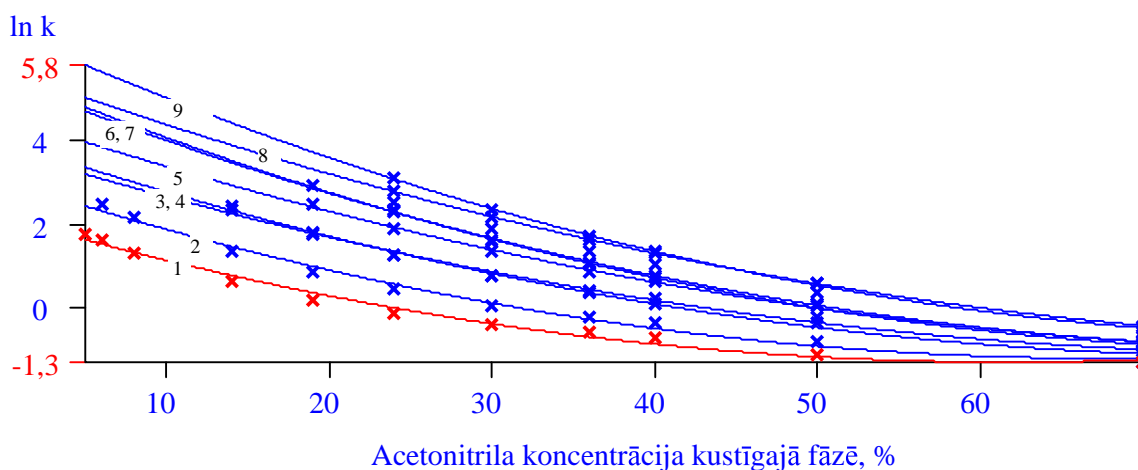
Sorbcijas faktoru (*k*) vērtības, kas iegūtas par eluentiem izmantojot acetoni-trila ūdens šķīdumus.

Sorbents: *XTerraPhenyl*

Vielas	Acetonitrila koncentrācija kustīgajā fāzē, %										
	70	50	40	36	30	24	19	14	8	6	5
Deizopropil-atrazīns	0,28	0,33	0,50	0,56	0,69	0,90	1,24	1,87	3,77	5,07	5,86
Dezetil-atrazīns	0,28	0,46	0,71	0,82	1,09	1,57	2,35	3,87	8,61	11,8	-
Dihlobenils	0,66	1,84	3,70	5,09	8,77	16,2	-	-	-	-	-
Bromacils	0,33	0,72	1,14	1,43	2,15	3,50	6,03	11,3	0,49	0,51	0,51
Izoproturons	0,42	1,09	2,07	2,82	4,92	9,75	18,6	-	-	-	-
Diurons	0,45	1,13	2,15	2,95	5,15	10,2	-	-	-	-	-
Linurons	0,63	1,80	3,87	5,55	10,5	22,2	-	-	-	-	-
Atrazīns	0,44	1,09	1,88	2,42	3,81	6,70	11,8	-	-	-	-
Simazīns	0,36	0,80	1,25	1,54	2,22	3,58	5,78	10,5	-	-	-

Apgrieztās fāzes šķīdumu hromatogrāfijā savienojumu sorbcijas likumības parasti apraksta ar lineārajiem vai kvadrātiskajiem (otrās pakāpes) modeļu vienādojumiem. Kā tas redzams attēlā 3.10, vairāku pētīto savienojumu sorbcijas parametru atkarība no organiskā modifikatora koncentrācijas ir nelineāra.

Izmantojot analīzes metodes izstrādi ar datorprogrammu palīdzību, sorbcijas modeļus izmanto analītu izdalīšanas parametru prognozēšanai ar dažādu organiskā modifikatora koncentrāciju kustīgajā fāzē, nolūkā izveidot izšķiršanas kartes optimālu atdalīšanas apstākļu noskaidrošanai. Datorsimulācijas uzsākšanai ar lineāru vai kvadrātisku modeļu vienādojumu izmantošanu, nepieciešams iegūt datus no vismaz 2-3 sorbcijas parametru mērījumiem. Lietojot pieeju „soli pa solim” solvātu sorbcijas modelī- sākot ar nulles tuvinājumu (bez eksperimentālo mērījumu izmantošanas) un turpinot ar pirmo tuvinājumu (ar viena mērījuma datiem), iespējams ietaupīt metodes izstrādei un optimizācijai nepieciešamo laiku.



3.10. att. Deizopropilatrazīna (1), dezetilatrazīna (2), bromacila(3) simazīna (4), atrazīna (5), izoproturona (6), diurona(7), dihlobenila (8), linurona (9) izdalīšanas faktoru atkarība no ACN satura kustīgajā fāzē (sorbcijas modeļi). Kolonna: XTerra Phenyl.

“Nulles tuvinājuma” līmenis

“Nulles tuvinājuma” līmenis apzīmē sākotnējo apstākļu prognozēšanu, balstoties uz savienojuma struktūrformulu un apgrieztās fāzes sorbentu raksturlielumiem (izteiksme 3.1). Šajā līmenī nav vajadzīgi eksperimentu rezultāti – datorsimulāciju veic, izmantojot vielas struktūrformulu un iepriekš kalibrētu kolonnu raksturlielumu datu bāzi. Šī metodes stadija (kā jebkura pusempīriska pieeja) ir tuvināta un ir sagaidāma prognozēto rezultātu novirze no eksperimentālajiem. Mūsu ieskatā, struktūrformulas izmantošanas mērķis nav saistīts ar precīzu sorbcijas parametra prognozi šādā „pirmā viesā” eksperimentā. Tā uzdevums ir paredzēt organiskās piedevas koncentrāciju kustīgajā fāzē, kas ļautu iegūt analīzei pieņemamus izdalīšanas faktoros. Veiksmīga sākotnējā kustīgās fāzes sastāva prognoze ļauj ietaupīt organisko šķīdinātāju un tālākai optimizācijai nepieciešamo laiku. Piemēram, izmantojot prognozes rezultātus gradienta vai izokrātiskos analīzes apstākļos, iespējams iegūt vēlamo organiskā modifikatora koncentrāciju intervālu, kuru tālākajā darba gaitā iespējams optimizēt. Praksē tas nozīmē iegūt sorbcijas faktoru vērtības robežās no 1-30, kuras var optimizēt tālākajā metodes izstrādes procesā. Eksperimenti parādīja, ka ar kolonnas parametru un analītu struktūrformulu palīdzību prognozētā organiskās piedevas koncentrācija atšķiras no eksperimentālās par $\pm 5-7\%$, 70-80% gadījumos (3.9.-3.11. tab.).

Prognozētās (C_c) un eksperimentālās (C_{exp}) acetonitrila koncentrācijas kustīgajā fāzē eksperimentāli iegūtajām sorbcijas faktora (k_e) vērtībām.

Sorbents: *Purospher RP 18e*. $C_c(0)$ – prognoze nulles tuvinājumā; $C_c(1,33)$, $C_c(1,45)$ un $C_c(1,60)$ - prognozes pirmajā tuvinājumā. Izdalīšanas faktora vērtības pie 33, 45 un 60% acetonitrila kustīgajā fāzē tika izmantotas modeļa koriģēšanai.

Vielas	k_{exp}	C_{exp}	$C_c(0)$	$C_c(1,33)$	$C_c(1,45)$	$C_c(1,60)$
Deizopropilatrazīns	8,32	7	2	7	4	0
Dezetilatrazīns	9,95	12	9	14	13	9
Dihlobenils	10,6	38	50	38	38	34
Bromacils	7,50	23	44	28	25	22
Izoproturons	4,44	38	52	37	38	36
Diurons	5,32	38	41	37	38	32
Linurons	11,8	38	38	38	38	37
Atrazīns	4,73	38	30	37	39	37
Simazīns	8,58	23	21	26	28	25
Vidējā novirze, %			5	1,0	1,7	4,4

Prognozētās (C_c) un eksperimentālās (C_{exp}) acetonitrila koncentrācijas kustīgajā fāzē eksperimentāli iegūtajām sorbcijas faktora (k_e) vērtībām.

Sorbents: *Lichrospher Select B*. $C_c(0)$ – prognoze nulles tuvinājumā; $C_c(1,32)$ un $C_c(1,44)$ prognozes pirmajā tuvinājumā. Izdalīšanas faktora vērtības attiecīgi pie 32 un 44 % acetonitrila kustīgajā fāzē, tika izmantotas modeļa koriģēšanai.

Vielas	k_{exp}	C_{exp}	$C_c(0)$	$C_c(1,32)$	$C_c(1,44)$
Deizopropilatrazīns	1,33	29	28	27	27
Dezetilatrazīns	2,17	29	28	29	28
Dihlobenils	7,84	37	48	37	37
Bromacils	7,13	20	43	24	22
Izoproturons	9,46	29	40	29	29
Diurons	9,48	29	34	29	29
Linurons	8,14	37	39	37	38
Atrazīns	7,82	29	29	29	29
Simazīns	4,61	29	29	30	29
Vidējā novirze, %			6	0,9	0,7

Prognozētās (C_c) un eksperimentālās (C_{exp}) acetonitrila koncentrācijas kustīgajā fāzē eksperimentāli iegūtajām sorbcijas faktora (k_e) vērtībām.

Sorbents: *XTerra Phenyl*. $C_c(0)$ – prognoze nulles tuvinājumā; - $C_c(1,36)$, $C_c(1,45)$ un $C_c(1,60)$ - prognozes pirmajā tuvinājumā. Izdalīšanas faktora vērtības attiecīgi pie 36 un 40 % acetonitrila kustīgajā fāzē, tika izmantotas modeļa koriģēšanai.

Vielas	k_{exp}	C_{exp}	$C_c(0)$	$C_c(1,36)$	$C_c(1,40)$
Deizopropilatrazīns	5,07	6	9	3	7
Dezetilatrazīns	11,8	6	9	3	7
Dihlobenils	16,2	24	32	21	27
Bromacils	3,50	24	48	24	24
Izoproturons	9,75	24	35	23	23
Diurons	10,2	24	28	21	21
Linurons	22,2	24	25	22	23
Atrazīns	6,70	24	25	24	24
Simazīns	3,58	24	27	24	24
Propazīns	12,6	24	19	24	24
Vidējā novirze, %			5,3	1,7	1,1

No praktiskiem apsvērumiem ir svarīgi, lai metodes izmantošana ļautu iegūt reālas prognozētās vērtības dažādu tipu apgrieztās fāzes kolonnām.

„Pirmā tuvinājuma” līmenis

Pirmā tuvinājuma līmenis sastāv no korekcijām un prognozēm. Eksperimenti sastāv no viena mēģinājuma. Izmantojot sorbcijas mērījumu datus, kas iegūti pirmajā mēģinājumā izokrātiskos apstākļos, iespējams koriģēt gan mijiedarbību enerģiju ($\Delta G_{e.s.H_2O}$), gan parciālo mola tilpumu (V) izteiksmē 3.1 un koriģētās vērtības izmantot organiskās piedevas koncentrācijas prognozēšanai kustīgajā fāzē, lai iegūtu optimālus sorbcijas un atdalīšanas apstākļus. Vērtības $\Delta G_{e.s.H_2O}$ tika koriģētas, pieņemot, ka mola tilpumu no struktūrformulas iespējams aprēķināt precīzāk [51]. Svarīgs ir apstāklis, ka sorbcijas faktora vērtību izmanto sorbcijas modeļa koriģēšanai. Mūsu pētījumiem savienojumiem sorbcijas faktoru vērtības bija robežās no 0,5-40 ar būtiskām lietoto koncentrāciju atšķirībām modeļu koriģēšanai (C_0) un vērtībām (C_1), kādas vajadzīgas sorbcijas faktoru vērtību iekļaušanai intervālā no 1,0-20. Piemēram, acetonitrila koncentrācijas prognozei kustīgajā fāzē, kāda ir nepieciešama bromacila sorbcijas faktora vērtībai $k = 7,5$ kolonnā ar *Purospher RP 18e*, tika izmantota vērtība $k = 1,12$ (3.6. tab.), kas iegūta, ja kustīgajā fāzē acetonitrila koncentrācija bija 45%. Prognozētā koncentrācija bija 25%, bet eksperimentāli noteiktā vajadzīgā sorbcijas faktora iegūšanai – 23%. Eksperimentāli

iegūtās un prognozētās vērtības apkopotas tabulās 3.9-3.11. Dati ļauj izteikt vispārinājumu, ka pēc pirmā tuvinājuma stadijas, atšķirības starp prognozētajām un eksperimentālajām organiskā šķīdinātāja koncentrācijām kustīgajā fāzē (C_1) parasti nepārsniedz $\pm 1 - 2\%$, pie nosacījuma, ka modeļa koriģēšanai izmantotās sorbcijas faktora vērtības pārsniedz 0,5-1,0 un $|C_0 - C_1| \leq 20$. Šādas atkāpes praksē ir pieņemamas, ja ne lineāras, ne kvadrātiskas sorbcijas faktoru atkarības no organiskā modifikatora koncentrācijas nav izmantojamas pirmā vai otrā mēģinājuma prognozēšanai. Ja pieejamie pirmo divu izmēģinājumu dati norāda uz pieņemamu sorbciju, smalkākai kustīgās fāzes sastāva piemeklēšanai ir izmantojami gan solvātu sorbcijas, gan lineārās sorbcijas modeļi, veidojot izšķiršanas kartes galīgo analīzes apstākļu noteikšanai.

3.3. Sorbcijas parametru prognozēšana AF AEŠH mainīga kustīgās fāzes sastāva apstākļos (gradientā)

Parasti hromatogrāfiskās analīzes ar nemainīgu kustīgās fāzes sastāvu (izokrātiskos apstākļos) ir izmantojamas paraugiem, kuru komponentu izdalīšanas faktori atrodas šaurā vērtību diapazonā. Savukārt, ja attiecīgo lielumu diapazons ir plašs, kā tas nereti ir ar reāliem ķīmiskās, farmaceitiskās, bioloģiskās izcelsmes vai apkārtējās vides paraugiem, analīzēm izmanto kustīgās fāzes ar mainīgu sastāvu (gradientu). AEŠH metodes izstrāde un optimizācija kustīgās fāzes gradienta apstākļos parasti ir laikietilpīga, jo prasa ievērojamu eksperimentu skaitu, īpaši tad, ja kompleksu maisījumu atdalīšanai nepieciešama eluācija daudzu stadiju gradienta apstākļos [1-6]. Sorbcijas parametru prognozēšanas iespēja kustīgās fāzes gradienta apstākļos, pamatojoties uz analītu ķīmisko uzbūvi un kolonnu īpašībām, var sniegt ievērojamu laika ietaupījumu, samazinot metodes izstrādei nepieciešamo eksperimentu skaitu.

Solvātu sorbcijas modeļa izmantošanas iespēju noskaidrošanai izdalīšanas parametru prognozēšanai gradienta apstākļos, tika izpētītas dažāda veida apgrieztās fāzes kolonnas ar 5 μm diametra silikagēla daļiņām piesaistītām oktadecil-, oktil-, fenil- un cianogrupām. Par analītiem tika izvēlēti 6-(2,3-dihlorofenil)-1,2,4-triazīn-3,5-diamīns (lamotrigīns) un tā atvasinājumi, kā arī dažādi herbicīdi : triazīna un fenilurīnvielas atvasinājumi un daži aromātiskie savienojumi, ievērojot, ka tie pieder dažādām organisko vielu klasēm un ir ar praktisku izmantošanas nozīmi farmācijā, medicīnā un lauksaimniecībā. Lamotrigīns ir feniltriazīna grupas preparāts, ko izmanto psihisku

saslimšanu gadījumā. Tā paraugi var saturēt zināmu daudzumu piemaisījumu, ieguves starpproduktu un izejvielu, kas ir jākontrolē tā ražošanas procesā. Lauksaimniecībā izmantoto herbicīdu atlikumu daudzumi ir jākontrolē augos, augsnē, ūdenī un pārtikā.

Analīzes metode ar AEŠH un datorsimulāciju.

Visas analizētās vielas tika eluētas dažāda lineāra gradienta profila apstākļos, izmērot to izdalīšanas laikus. Sākotnējo eksperimentu sorbcijas dati (3.12.-3.17. tab.), struktūras parametri (tab.3.18) un kolonnu parametri tika izmantoti kā sākuma dati sorbcijas lielumu prognozēšanai un hromatogrammu simulēšanai citāda gradienta (lineāra un daudzstadiju) apstākļos. Pētījuma mērķis bija prognozēt praktiski izmantojamus hromatogrāfiskās analīzes apstākļus (optimālu gradienta laiku un gradienta diapazonu). Pēc tam tika veikti eksperimenti šajos izvēlētajos apstākļos un iegūtie rezultāti salīdzināti ar tiem, ko ieguvām ar datorsimulāciju palīdzību (prognozētajiem rezultātiem).

3.12. tabula

Lamotrigīna un tā atvasinājumu izdalīšanas laiki lineāra gradienta profilam, kas izmantoti $\Delta G_{e.s.H_2O}$ vērtību koriģēšanai.

Gradients: 0,0 min -0 % B, 40,0 min – 72 % B; plūsmas ātrums 1,5 ml/min.

Sorbents: *Inertsil ODS-3*, (4,6 x 150) mm kolonnā.

Eluents B: acetonitrils.

N	Savienojumi	Izd. laiks t_R (min.)	$\Delta G_{e.s.H_2O}$ (kJ/mol)	$\Delta G_{e.s.H_2O}$ correct (kJ/mol)
1	2-Hloroamotrigīns	10,11	-151,2	-175,4
2	3-Hloroamotrigīns	12,38	-151,2	-162,5
3	4-2-Hloroamotrigīns	12,94	-151,2	-159,5
4	2,5-Dihloroamotrigīns	13,91	-149,8	-172,5
5	Lamotrigīns	14,97	-149,8	-166,5
6	2,4-Dihlorolamotrigīns	15,42	-149,8	-164,1
7	3,5- Dihlorolamotrigīns	16,87	-149,8	-156,3
8	3,4- Dihlorolamotrigīns	17,09	-149,8	-155,2
9	2,3,5- Trihlorolamotrigīns	19,12	-148,5	-160,1
10	Lamotrigīna vaļējā forma	20,08	-146,9	-106,1

Herbicīdu izdalīšanas laiki lineāra profila gradienta, kas izmantoti $\Delta G_{e.s.H_2O}$ vērtību koriģēšanai.

Gradients: 0,0 min – 10 %B, 14,5 min. – 59 % B, 21,1 min – 59%; plūsmas ātrums 1,0 ml/min

Sorbents: *Purospher RP 18e*, (4,6x125) mm kolonnā. Eluents B: acetonitrils.

Savienojumi	Izd. laiks t_R (min.)	$\Delta G_{e.s.H_2O}$, (kJ/mol)	$\Delta G_{e.s.H_2O}$ correct, (kJ/mol)
Deizopropilatrazīns	2,89	-134,5	-132,1
Dezetilatrazīns	5,15	-137,4	-135,5
Bromacils	7,91	-95,9	-145,8
Simazīns	8,09	-132,8	-133,9
Atrazīns	10,29	-135,7	-131,3
Izoproturons	10,74	-108,4	-141,1
Diurons	10,95	-99,60	-111,3
Dihlobenils	12,88	-44,0	-70,0
Linurons	13,31	-107,6	-111,5

Herbicīdu izdalīšanas laiki lineāra profila gradientam, kas izmantoti $\Delta G_{e.s.H_2O}$ vērtību koriģēšanai.

Gradients: 0,0 min – 10 %B, 25,0 min. – 75 % B, 32,1 min – 75%; plūsmas ātrums 1,0 ml/min

Sorbents: *Purospher RP 18e* 4,6x125 mm kolonnā. Eluents B: metanols

Savienojumi	Izd. laiks t_R (min.)	$\Delta G_{e.s.H_2O}$, (kJ/mol)	$\Delta G_{e.s.H_2O}$ correct, (kJ/mol)
Deizopropilatrazīns	6,62	-134,5	-126,3
Dezetilatrazīns	10,29	-137,4	-131,3
Bromacils	14,54	-95,9	-146,5
Simazīns	15,01	-132,8	-132,1
Atrazīns	18,15	-135,7	-132,3
Izoproturons	18,52	-108,4	-145,8
Dihlobenils	19,18	-44,0	-73,3
Diurons	19,18	-99,6	-108,8
Linurons	21,22	-107,1	-117,0

Herbicīdu izdalīšanas laiki lineāra profila gradientam, kas izmantoti $\Delta G_{e.s.H_2O}$ vērtību koriģēšanai.

Gradients: 0,0 min – 0 % B, 48,4 min. – 60 % B, 53,1 min – 60%; plūsmas ātrums 1,0 ml/min

Sorbents: *Inertsil CN-3*, 5 μ m, (4,6x150) mm kolonnā

Eluents B: metanols

Savienojumi	Izd. laiks t_R (min.)	$\Delta G_{e.s.H_2O}$, (kJ/mol)	$\Delta G_{e.s.H_2O}$ correct, (kJ/mol)
Deizopropilatrazīns	7,91	-134,5	-186,5
Dezetilatrazīns	10,39	-137,4	-198,7
Simazīns	15,35	-132,8	-203,5
Bromacils	15,35	-95,9	-221,7
Atrazīns	19,35	-135,7	-209,3
Izoproturons	20,38	-108,4	-228,5
Propazīns	23,35	-139,9	-189,2
Dihlobenils	26,71	-44,0	-100,7
Diurons	27,43	-99,6	-149,7
Linurons	31,46	-107,1	-162,2

Herbicīdu izdalīšanas laiki lineāra profila gradientam, kas izmantoti $\Delta G_{e.s.H_2O}$ vērtību koriģēšanai.

Gradients: 0,0 min – 10 % B, 15,1 min. – 56 % B, 29,1 min – 56%; plūsmas ātrums 1,0 ml/min

Sorbents: *LiChrospher 60 RP SelectB*, (125 x 4.0) mm kolonnā.

Eluents B: metanols.

Savienojumi	Izd. laiks t_R (min.)	$\Delta G_{e.s.H_2O}$, (kJ/mol)	$\Delta G_{e.s.H_2O}$ correct, (kJ/mol)
Deizopropilatrazīns	9,78	-134,5	-130,9
Dezetilatrazīns	12,21	-137,4	-139,6
Bromacils	14,98	-95,9	-159,0
Simazīns	15,57	-132,8	-140,1
Linurons	18,66	-107,1	-128,1
Propazīns	18,98	-139,9	-120,3

Herbicīdu izdalīšanas laiki lineāra profila gradientam, kas izmantoti $\Delta G_{e.s.H_2O}$ vērtību koriģēšanai.

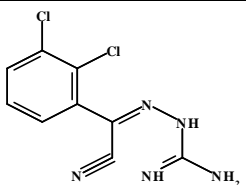
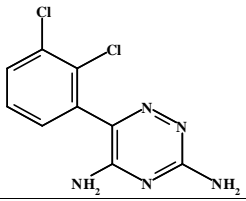
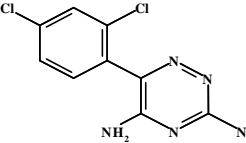
Gradients: 0,0 min – 10 %B, 11,1 min. – 40 % B, 27,1 min – 40%; plūsmas ātrums 1,0 ml/min

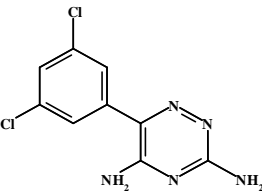
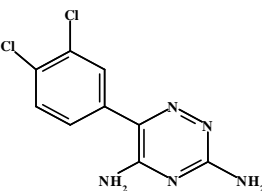
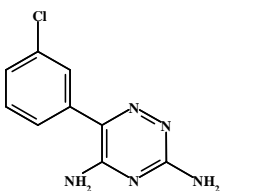
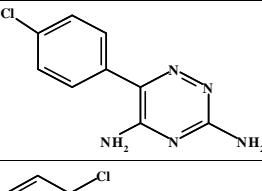
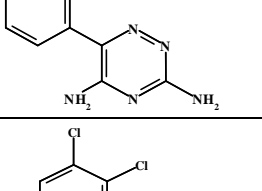
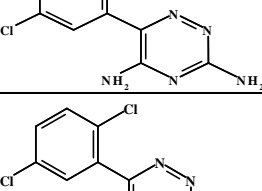
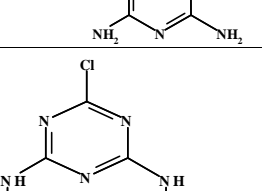
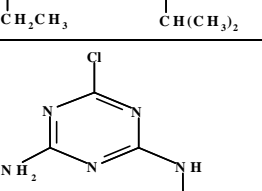
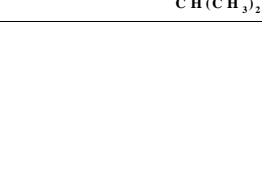
Sorbents: *Xterra phenyl* 150 x 3,0 mm

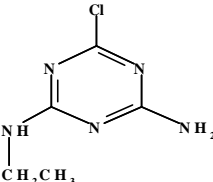
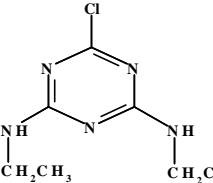
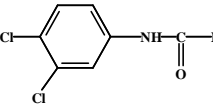
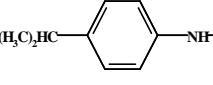
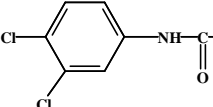
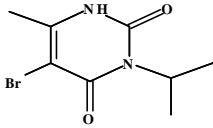
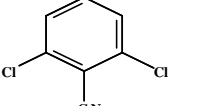
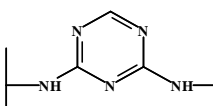
Eluents B: acetonitrils

Savienojumi	Izd. laiks t_R (min.)	$\Delta G_{e.s.H_2O}$, (kJ/mol)	$\Delta G_{e.s.H_2O}$ correct, (kJ/mol)
Deizopropilatrazīns	4,77	-134,5	-146,8
Dezetilatrazīns	7,48	-137,4	-150,0
Simazīns	10,77	-132,8	-147,4
Bromacils	11,05	-95,9	-157,1
Atrazīns	13,07	-135,7	-145,4
Diurons	14,14	-99,6	-120,2
Izoproturons	14,27	-108,4	-150,9
Propazīns	15,18	-139,9	-127,8
Dihlobenils	16,32	-44,0	-73,2
Linurons	17,11	-107,1	-117,8

Analizēto savienojumu struktūrformulas, daļējie mola tilpumi un mijiedarbību enerģija

Savienojums	Struktūrformula	V, cm ³ /mol	$\Delta G_{e.s.H_2O}$
Lamotrigīna valējā forma		145,0	-146,9
Lamotrigīns (6-(2,3-dihlorofenil)- 1,2,4-triazīn-3,5-diamīns)		182,3	-149,8
2,4-Dihlorolamotrigīns		182,3	-149,8

3,5-Dihlorolamotrigīns		182,3	-149,8
3,4-Dihlorolamotrigīns		182,3	-149,8
3-Hlorolamotrigīns		165,0	-151,2
4-hlorolamotrigīns		165,0	-151,2
2-Hlorolamotrigīns		165,0	-151,2
2,3,5-Trihlorolamotrigīns		199,6	-148,5
2,5-Dihlorolamotrigīns		182,3	-149,8
Atrazīns (2-Hloro-4-etilamino-6-izopropilamino-1,3,5-triazīns)		178,9	-135,7
Dezetilatrazīns (4-amino-2-hloro-6-etilamino-s-triazīns)		145,7	-137,4

Deizopropilatrazīns (6-hloro- <i>N</i> -etil-1,3,5-triazīna-2,4-diamīns)		130,4	-134,5
Simazīns (6-hloro- <i>N,N'</i> -dietil-1,3,5-triazīna-2,4-diamīns)		163,7	-132,8
Diurons (3-(3,4-dihlorofenil)-1,1-dimetilurīnviela)		160,7	-99,6
Izoproturons (3-(4-izopropilfenil)-1,1-dimetilurīnviela)		195,1	-108,4
Linurons (3-(3,4-dihlorofenil)-1-metoksi-1-metilurīnviela)		181,3	-107,1
Bromacils (5-Bromo-3- <i>sec</i> -butil-6-metiluracils)		175,0	-95,9
Dihlobenils (2,6-Dihlorobenzonitrils)		126,8	-44,0
Propazīns (2-Hloro-4,6- <i>bis</i> -(izopropilamino) triazīns)		176,9	-139,9

Sorbcijas prognozēšana balstīta solvātu sorbcijas modeļa izmantošanā (izteiksme 3.1) sorbcijas parametru aprēķināšanai AF AEŠH no vielu struktūrformulām un kolonnu īpašībām, lai paredzētu gradienta sākuma apstākļus („pirmā viesā” lineāro gradientu), kam seko modeļa smalkāka koriģēšana ar vienā eksperimentā iegūtiem datiem. Metodes izmantošanai nepieciešams, lai abi sorbāta parametri eksperimenta apstākļos (tūpums un mijiedarbības enerģija ar ūdeni) būtu zināmi. Sākotnējo apstākļu prognozēšanai („pirmā viesā” metode) sorbātu parametrus var aprēķināt, izmantojot to struktūrformulas un kolonnu raksturlielumus, kas iepriekš tiek kalibrētas plašā metanola un acetonitrila koncentrāciju diapazonā kustīgajās fāzēs. Praksē izmanto dažādu tipu apgrieztās fāzes kolonnas ar metanolu un acetonitrilu kā organiskajiem modifikatoriem. Tāpēc bija svarīgi un interesanti pārbaudīt vai solvātu sorbcijas modelis darbojas, lietojot dažāda veida

apgrieztās fāzes kolonnas un organiskos šķīdinātājus, ko izmanto praktiskajā AEŠH. Šajā pētījumā tika izvēlētas kolonnas, kuras būtiski atšķirās cita no citas gan pēc ķīmiskās uzbūves, gan īpašībām. *Purospher[®] RP-18e* ir veidots no augstas tīrības silikagēla daļiņām ar deaktivētu (*end-capped*) virsmu un ir modificētas ar C18. *LiChrospher[®] RP-select B* ir daudzpusīgs apgrieztās fāzes sorbents, ko veido sfēriskas silikagēla daļiņas ar saistītām oktilgrupām (C8). Tas ir īpaši piemērots bāzisku vielu noteikšanai. *Inertsil CN-3* ir ar propilcianogrupām modificēts, tīrāks, lielāka virsmas laukuma silikagēls, kas speciāli izstrādāts maksimāla saistītās fāzes pārklājuma iegūšanai. *Inertsil CN-3* daudzpusība padara to par izmantojamu alternatīvu, ja rezultātu neizdodas sasniegt ar ODS vai C8 tipa fāzēm. *XTerra[®] Phenyl* sorbenti ar aromātiskajām fenilgrupām pie silikagēla virsmas apvieno labākās silikagēla un polimēru īpašības, jo ir iegūti ar daļiņu hibrīdu tehnoloģiju (*Hybrid Particle Technology*).

Izmantojot sorbcijas lielumus, kas iegūti no vienas analīzes lineāra gradienta apstākļos, struktūrformulu un kolonnas parametrus, ir iespējams koriģēt vai nu iedarbību enerģijas vērtību ($\Delta G_{e.s.H_2O}$) vai parciālo mola tilpumu (V) izteiksmē 3.1 un izmantot koriģētās vērtības sorbcijas prognozēšanai cita lineāra vai no vairākiem segmentiem sastāvoša daudzpakāpju gradienta apstākļos. Tāpat kā veicot optimizāciju izokrātiskos apstākļos, tika koriģētas ($\Delta G_{e.s.H_2O}$) vērtības, uzskatot, ka parciālo mola tilpumu pēc struktūrformulas var izrēķināt precīzāk nekā iedarbību enerģijas vērtību. Jāatzīmē, ka koriģētās $\Delta G_{e.s.H_2O}$ vērtības (3.12.-3.17. tab.) nav būtiski atšķirīgas no tādām, kas aprēķinātas vienīgi no struktūrformulas un tāpēc solvātu sorbcijas modelis var tikt izmantots sākuma un beigu koncentrācijas, kā arī gradienta laika prognozēšanai lineāra gradienta apstākļos dažādām apgrieztās fāzes kolonnām un organiskajiem modifikatoriem. Pirmā mēģinājuma mērķis ir iegūt praktiski izmantojamas izdalīšanas laiku vērtības analizējamā maisījuma sastāvdaļām. Otrā eksperimenta mērķis ir daudz precīzāka izdalīšanas laika prognoze atdalīšanas optimizācijas uzsākšanai.

3.3.1. Lamotrigīna un tā atvasinājumu analīzes.

Izdalīšanas laiku vērtības lamotrigīnam un tā atvasinājumiem tika eksperimentāli noteiktas 10 dažādiem gradienta profiliem. Izdalīšanas laiki, kas iegūti eksperimentāli vienā no sākotnējiem mēģinājumiem (3.12. tab.) tika izmantoti šo lielumu paredzēšanai 9

pārējiem gradienta profiliem. Lielumu $\Delta G_{e.s.H_2O}$ vērtības tika koriģētas, izmantojot izdalīšanas laikus lineāram gradienta profilam. Eksperimentālie un prognozētie rezultāti otrajam mēģinājumam parādīti tabulā 3.19, kas liecina, ka starpība starp izmērītajām un simulācijā iegūtajām izdalīšanas laiku vērtībām nepārsniedz 0,37 min.

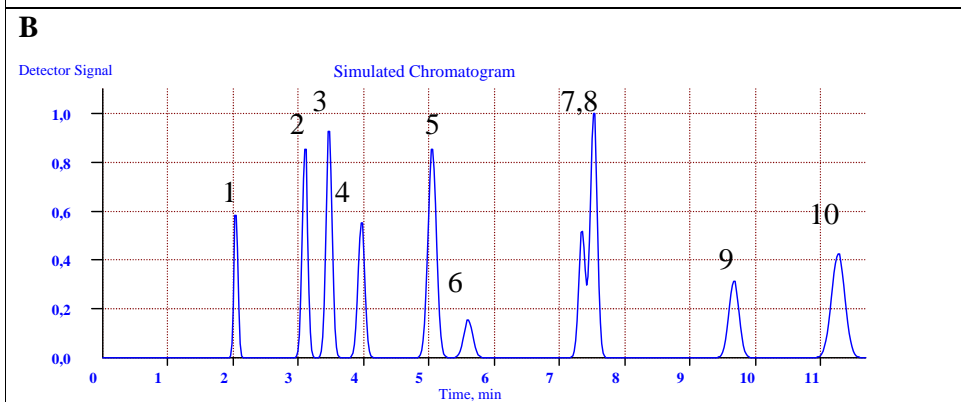
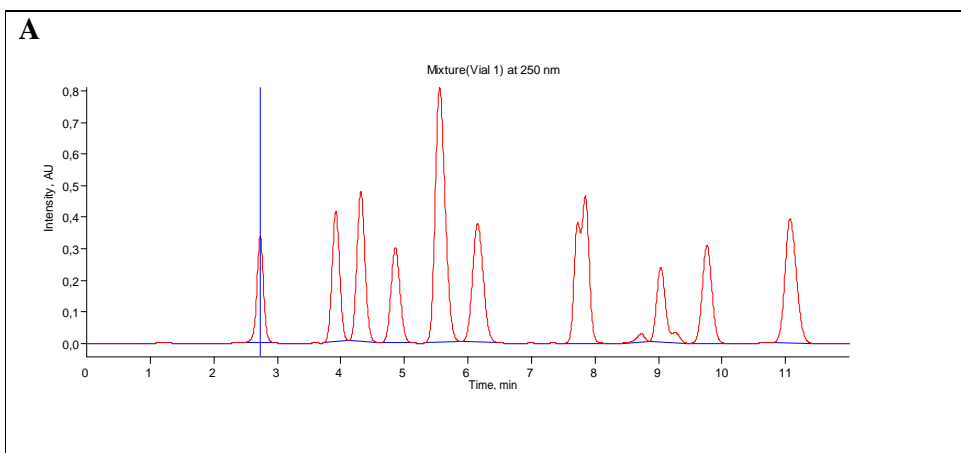
3.19. tabula

Eksperimentāli noteikto un prognozēto izdalīšanas laiku vērtības lamotrigīnam un tā atvasinājumiem

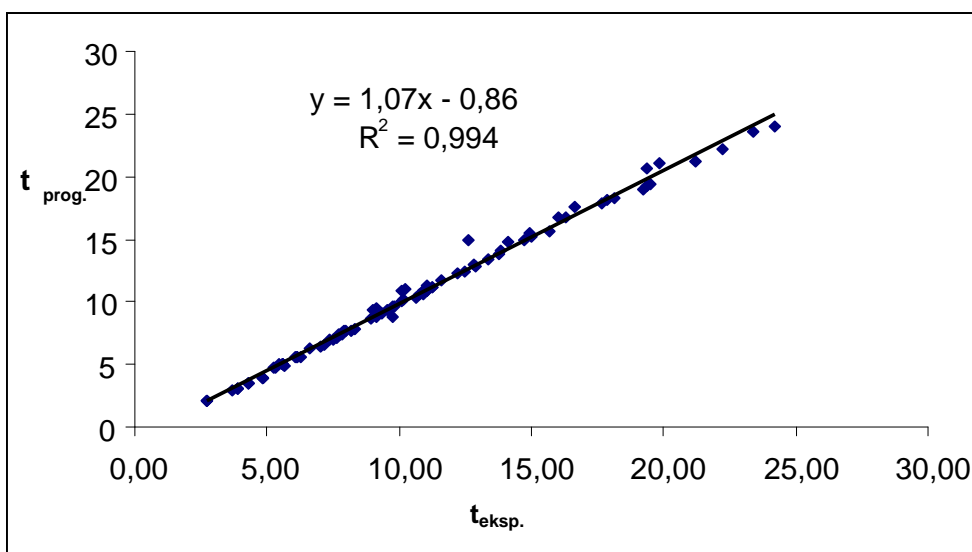
Gradienta profils: 0,0 min – 9 %B, 40,8 min – 59 %B, 46,0 min – 59 %B

Savienojums	Eksperimentālas $t_R(\text{min})$	Simulētās $t_R(\text{min})$	Starpība
2-Hlorolamotrigīns	6,62	6,25	0,37
3- Hlorolamotrigīns	9,13	8,91	0,22
4- Hlorolamotrigīns	9,78	9,61	0,17
2,5-Dihlorolamotrigīns	10,9	10,9	0,00
Lamotrigīns	12,2	12,3	-0,10
2,4-Dihlorolamotrigīns	12,8	12,9	-0,12
3,5- Dihlorolamotrigīns	14,73	14,9	-0,15
3,4- Dihlorolamotrigīns	15,03	15,2	-0,15
2,3,5- Trihlorolamotrigīns	17,9	18,1	-0,19
Lamotrigīna vaļējā forma	19,2	19,0	0,25

Starpību lielumi liek domāt, ka izmantotā metode ir uzskatāma par pieņemamu izdalīšanas laiku paredzēšanai optimāla gradienta profila meklējumos. Simulētā un eksperimentāli iegūtā hromatogramma vairāku segmentu gradienta profilam parādīta attēlā 3.11. Pētīto savienojumu prognozētā izdalīšanās secība, izdalīšanas laiki un izšķiršana praktiski neatšķiras no eksperimentāli iegūtās. Attēlā 3.12 ir apkopots lamotrigīna un tā atvasinājumu eksperimentālo un prognozēto izdalīšanas laiku vērtību salīdzinājums visiem 9 gradienta profiliem. No attēla 3.12 redzams, ka solvātu sorbcijas modelis ļauj iegūt labu korelāciju starp eksperimentālajiem un prognozētajiem izdalīšanas laikiem, ko raksturo korelācijas koeficienta vērtība 0,994.



3.12. att. Lamotrigīna un tā atvasinājumu atdalīšana vairāku segmentu gradientā AEŠH 0,0 min - 22 %B, 4,3 min - 23 %B, 5,5 min - 26 %B, 5,6 min - 29 %B, 14,1 min - 29 %B, 14,2 min - 44 %B, 29,3 min - 44 %B: (A) eksperimentālā hromatogramma, (B) simulētā hromatogramma. Savienojumi: 1 - 2-hloroamotrigīns, 2 - 3-Hloroamotrigīns, 3 - 4-2-Hloroamotrigīns, 4 - 2,5-dihloroamotrigīns, 5 - lamotrigīns, 6 - 2,4-dihlorolamotrigīns, 7 - 3,5- dihlorolamotrigīns, 8 - 3,4- dihlorolamotrigīns, 9 - 2,3,5- trihlorolamotrigīns, 10 - lamotrigīna vaļējā forma. Kolonna: Inertsil ODS-3, (4,6 x 150) mm



3.13. att. Eksperimentālo un prognozēto izdalīšanas laiku savstarpējā korelācija 10 lamotrigīna atvasinājumiem. Izdalīšanas laiki noteikti, izmantojot dažādus gradienta profilus.

3.3.2. Triazīna grupas, aromātisko herbicīdu un fenilurīnvielas atvasinājumu analīze.

Eksperimentālie sorbcijas dati, kas iegūti no pieciem eksperimentiem gradienta apstākļos (3.13.-3.17. tab.) tika izmantoti kā sākotnējie dati mijiedarbības enerģijas $\Delta G_{e.s.H_2O}$ vērtību koriģēšanai vienādojumā 3.1, kā arī sorbcijas lielumu paredzēšanai citāda gradienta apstākļos (3.20. tab.). Eksperimentālo un prognozēto sorbcijas rezultātu salīdzinājums ir sniegts tabulā 3.21. Redzams, ka starpības vērtības eksperimentālajiem un prognozētajiem lielumiem mainās robežās no 0,01 līdz 2,27 minūtēm. Attēls 3.13 apliecina, ka izmantotā pieeja ļauj iegūt labu korelāciju starp eksperimentālajiem un prognozētajiem izdalīšanas laikiem, ko raksturo korelācijas koeficienta vērtība 0,990.

Gradianta profili

Gradianta profili		Sorbents
1a		Purospher RP 18e 4,6 x 125 mm
Laiks, min	Acetonitrils, %	
0,0	22	
6,6	22	
6,7	27	
7,5	28	
7,6	45	
18,9	45	
24,1	45	
1b		Purospher RP 18e 4,6 x 125 mm
Laiks, min	Acetonitrils, %	
0,0	27	
6,6	27	
6,7	41	
9,6	41	
9,7	59	
18,3	59	
23,1	59	
1c		Purospher RP 18e 4,6 x 125 mm
Laiks, min	Metanols, %	
0,0	38	
4,1	38	
6,0	43	
10,8	43	
10,9	69	
21,0	69	
26,1	69	
1d		Purospher RP 18e 4,6 x 125 mm
Laiks, min	Metanols, %	
0,0	38	
3,8	38	
3,9	44	
10,4	44	
10,5	68	
20,4	68	
25,1	68	
2a		Inertsil CN-3 5µm 4,6 x 150 mm
Laiks, min	Metanols, %	
0,0	20	
28,1	20	
28,2	54	
48,9	54	
54,1	54	
2b		Inertsil CN-3 5µm 4,6 x 150 mm
Laiks, min	Metanols, %	

0,0	19	
25,8	19	
25,9	56	
45,0	56	
50,1	56	
2c		Inertsil CN-3 5µm 4,6 x 150 mm
Laiks, min	Metanols, %	
0,0	3	
17,8	3	
17,9	30	
24,5	34	
51,8	34	
57,1	34	
3a		LiChrospher 60 RP SelectB 125 x 4,0 mm
Time, min	Methanol, %	
0,0	39	
13,2	39	
13,3	50	
28,2	50	
33,1	50	
3b		LiChrospher 60 RP SelectB 125 x 4,0 mm
Laiks, min	Metanols, %	
0,0	39	
13,2	39	
13,3	55	
26,3	55	
31,1	55	
3c		LiChrospher 60 RP SelectB 125 x 4,0 mm
Time, min	Methanol, %	
0,0	0	
5,4	0	
6,9	42	
12,9	43	
13,3	53	
28,5	53	
33,1	53	
4a		Xterra phenyl 150 x 3,0 mm
Laiks, min	Metanols, %	
0,0	24	
8,1	24	
8,2	38	
24,5	38	
30,1	38	
4b		Xterra phenyl 150 x 3,0 mm
Laiks, min	Acetonitrils, %	
0,0	0	
0,1	38	
17,0	38	
22,1	38	

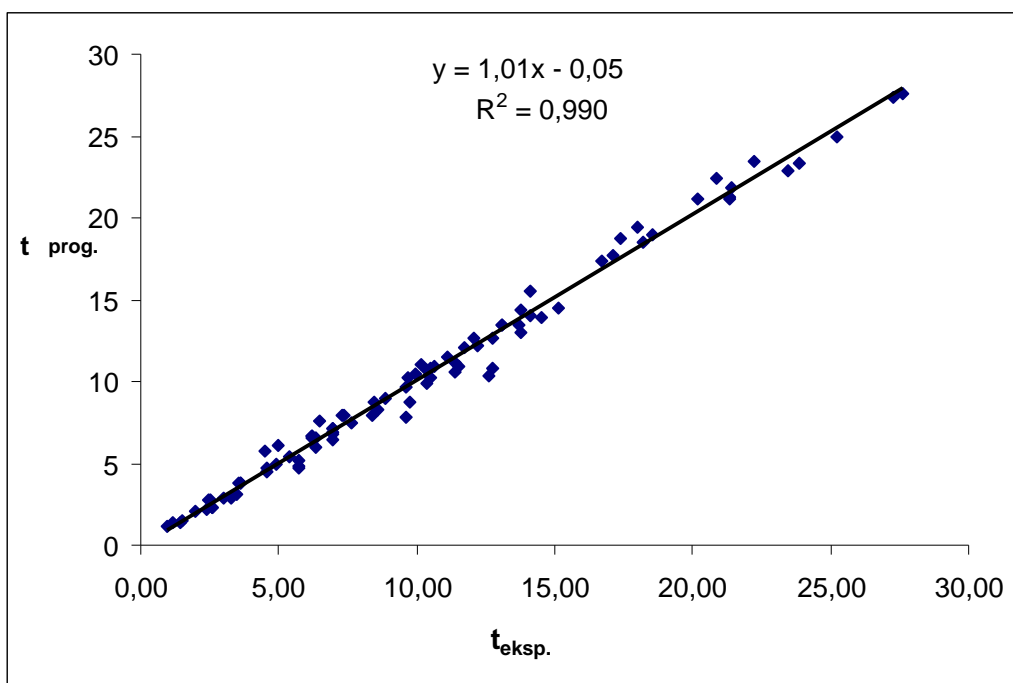
Herbicīdu eksperimentālo un prognozēto izdalīšanas laiku vērtības dažādos eluācijas apstākļos

Hromatogrāfiskās analīzes apstākļi atbilst tabulā 3.20 minētajiem.

Sorbenti	Eluenti	Gradienta profili	Savienojumi	Eksp. izdalīšanas laiks	Progn. izdalīšanas laiks	Starpība
<i>Purospher RP 18e</i> 4,6x125	Acetonitrils	1a	Deizopropilatrazīns	1,16	1,34	0,18
			Dezetilatrazīns	2,01	2,07	0,06
			Bromacils	4,94	4,95	0,01
			Simazīns	5,37	5,38	0,01
			Atrazīns	9,96	10,49	0,53
			Izoproturons	10,38	10,74	0,36
			Diurons	10,53	10,81	0,28
			Dihlobenils	12,22	12,24	0,02
			Linurons	12,74	12,65	-0,09
		1b	Deizopropilatrazīns	0,97	1,14	0,17
			Dezetilatrazīns	1,48	1,54	0,06
			Bromacils	3,02	2,86	-0,16
			Simazīns	3,45	3,16	-0,29
			Atrazīns	6,95	7,08	0,13
			Izoproturons	8,43	8,74	0,31
			Diurons	8,87	8,99	0,12
			Dihlobenils	11,37	11,17	-0,20
			Linurons	11,76	12,03	0,27
<i>Purospher RP 18e</i> 4,6x125	Metanols	1c	Deizopropilatrazīns	1,45	1,40	-0,05
			Dezetilatrazīns	2,59	2,31	-0,28
			Bromacils	5,73	5,19	-0,54
			Simazīns	6,32	6,03	-0,29
			Atrazīns	11,08	11,53	0,45
			Izoproturons	12,04	12,70	0,66
			Dihlobenils	13,06	13,46	0,40
			Diurons	13,06	13,49	0,43
			Linurons	14,09	14,02	-0,07
		1d	Deizopropilatrazīns	1,45	1,40	-0,05
			Dezetilatrazīns	2,58	2,31	-0,27
			Bromacils	5,71	5,19	-0,52
			Simazīns	6,21	6,03	-0,18
			Atrazīns	10,24	10,43	0,19
			Izoproturons	11,07	11,38	0,31
			Dihlobenils	12,50	12,69	0,19
			Diurons	12,50	12,90	0,40
			Linurons	13,70	13,62	-0,08
<i>Inertsil CN-3</i> 5µm 4,6x150	Metanols	2a	Deizopropilatrazīns	3,64	3,74	0,10
			Dezetilatrazīns	4,59	4,49	-0,10
			Bromacils	6,95	6,48	-0,47
			Simazīns	6,95	6,81	-0,14
			Atrazīns	9,58	9,60	0,02

			Izoproturons	10,51	10,21	-0,30		
			Propazīns	13,77	14,42	0,65		
			Dihlobenils	20,18	21,17	-0,01		
			Diurons	21,43	21,88	0,45		
		2b	Deizopropilatrazīns	3,63	3,84	0,21		
			Dezetilatrazīns	4,58	4,66	0,08		
			Bromacils	6,95	6,84	-0,11		
			Simazīns	6,95	7,18	0,23		
			Atrazīns	9,67	10,24	0,57		
			Izoproturons	10,65	10,96	0,31		
			Propazīns	14,10	15,48	1,38		
			Dihlobenils	20,85	22,40	0,45		
		2c	Diurons	22,23	23,47	0,24		
			Deizopropilatrazīns	6,47	7,56	1,09		
			Dezetilatrazīns	10,13	11,03	0,90		
			Simazīns	21,33	21,20	-0,13		
			Bromacils	21,33	21,29	-0,04		
			Atrazīns	23,46	22,92	-0,54		
			Izoproturons	23,85	23,35	-0,50		
			Propazine	25,26	24,93	-0,33		
			Dihlobenil	27,25	27,31	0,06		
			Diurons	27,64	27,63	-0,01		
		<i>LiChrospher 60 RP SelectB</i> 125x4,0	Metanols	3a	Linurons	30,72	30,86	0,14
					Deizopropilatrazīns	2,50	2,72	0,22
					Dezetilatrazīns	3,61	3,76	0,15
					Bromacils	6,33	6,55	0,22
					Simazīns	7,35	7,89	0,54
					Linurons	17,40	18,77	0,37
3b	Propazīns			17,99	19,47	1,48		
	Deizopropilatrazīns			2,45	2,72	0,27		
	Dezetilatrazīns			3,55	3,76	0,21		
	Bromacils			6,23	6,55	0,32		
	Simazīns			7,27	7,89	0,62		
	Linurons			16,72	17,37	0,65		
3c	Propazīns			17,11	17,74	0,63		
	Deizopropilatrazīns			10,35	9,91	-0,44		
	Dezetilatrazīns			11,50	10,88	-0,62		
	Bromacils			13,74	12,97	-0,77		
	Simazīns			14,51	13,89	-0,62		
	Linurons			18,20	18,51	0,31		
<i>Xterra phenyl</i> 150x3,0	Acetonitrils	4a	Propazīns	18,56	18,98	0,42		
			Deizopropilatrazīns	2,42	2,23	-0,19		
			Dezetilatrazīns	3,24	2,82	-0,42		
			Simazīns	5,70	4,72	-0,98		
			Bromacils	5,70	4,85	-0,85		
			Atrazīns	9,60	7,86	-1,74		
			Diurons	12,59	10,32	-2,27		
			Izoproturons	12,75	10,83	-1,92		

4b	Propazīns	13,69	13,47	-0,22
	Dihlobenils	15,12	14,46	-0,66
	Linurons	16,26	15,69	-0,57
	Deizopropilatrazīns	4,51	5,79	1,28
	Dezetilatrazīns	4,99	6,07	1,08
	Bromacils	6,19	6,65	0,46
	Simazīns	6,19	6,67	0,48
	Atrazīns	7,64	7,42	-0,22
	Izoproturons	8,41	7,93	-0,48
	Diurons	8,56	8,26	-0,30
	Propazīns	9,77	8,78	-1,01
	Dihlobenils	11,38	10,55	-0,83
Linurons	12,11	10,55	-1,56	



3.13. att. Korelācija starp eksperimentāli iegūtajiem un prognozētajiem izdalīšanas laikiem, kas iegūti pētītajiem herbicīdiem, lietojot dažādas kolonnas ar dažādiem gradientu profiliem. Hromatogrāfisko analīžu apstākļi aprakstīti eksperimentālajā daļā.

3.4. Herbicīdu maisījuma atdalīšanas optimizācija ar apgrieztās fāzes augsti efektīvo šķidrums hromatogrāfiju

Hromatogrāfiskā atdalīšanas procesa optimizācijai bieži izmanto analīzes metožu izstrādei domātās datorprogrammas. Šādā gadījumā jāveic virkne eksperimentu dažādos apstākļos un tad sorbcijas lielumi (izdalīšanas laiks, joslas laukums, joslas platums) un

apstākļus nosakošie mainīgie (modifikatora koncentrācija, temperatūra, pH u.c.) ir jāizmanto sorbcijas modeļa izveidei, jāveic hromatogrammu simulācija un jānosaka optimāli analīzes apstākļi. Hromatogrāfiskā procesa optimizācija var izrādīties laikietilpīga, jo bieži vien nepieciešams veikt lielu skaitu eksperimentu pat tad, ja izmanto datorprogrammas. Sorbcijas lielumu veiksmīga prognoze, izmantojot analīta struktūrformulu un kolonnas īpašības, ļauj ievērojami samazināt veicamo eksperimentālā darba apjomu. No teorētiskā un no praktiskā redzes viedokļa bija interesanti salīdzināt divas pieejas metodes optimizācijai - klasisko un uz savienojumu uzbūvi balstīto analīzes metodes izstrādi ar datorprogrammu palīdzību. Īsumā aprakstīsim abas pieejas optimālu analīzes apstākļu atrašanai izokrātiskam kustīgās fāzes sastāvam vielu atdalīšanai ar apgrieztās fāzes AESH.

Abu optimizācijas metožu salīdzināšanai tika izvēlēts plaši izmantotu herbicīdu maisījums, kas sastāvēja no atrazīna, simazīna, dezetilatrazīna, deizopropilatrazīna, izoproturona, diurona, linurona, bromacila un dihlobenila. Savienojumi tika atdalīti ar (*LiChroCART Purospher RP-18e*, (4,0x125)mm) kolonnu, izmantojot par kustīgajām fāzēm acetoni-trila un metanola ūdens šķīdumus.

3.4.1. „Klasiskā” optimizācija.

Savienojumu izdalīšanas laiki tika izmērīti, lietojot kustīgās fāzes ar plašu acetoni-trila vai metanola koncentrāciju diapazonu ūdenī (attēli 3.14 un 3.15). Apgrieztās fāzes šķīdumu hromatogrāfijā savienojumu sorbciju parasti apraksta ar lineāras sorbcijas modeļvienādojumu:

$$\ln k = \ln k_0 + a \cdot C \quad (3.6)$$

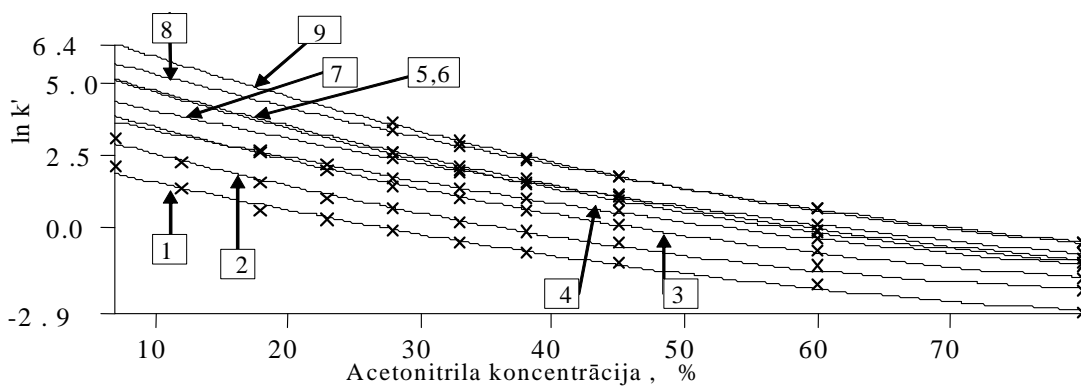
kur k – izdalīšanas faktors un C – organiskā šķīdinātāja koncentrācija kustīgajā fāzē.

Jāuzsver, ka pētīto savienojumu sorbcijas parametru atkarība no organiskā modifikatora koncentrācijas diezgan stipri atkāpjas no minētā lineārās sorbcijas modeļa, īpaši, ja par kustīgām fāzēm izmanto acetoni-trila ūdens šķīdumus.

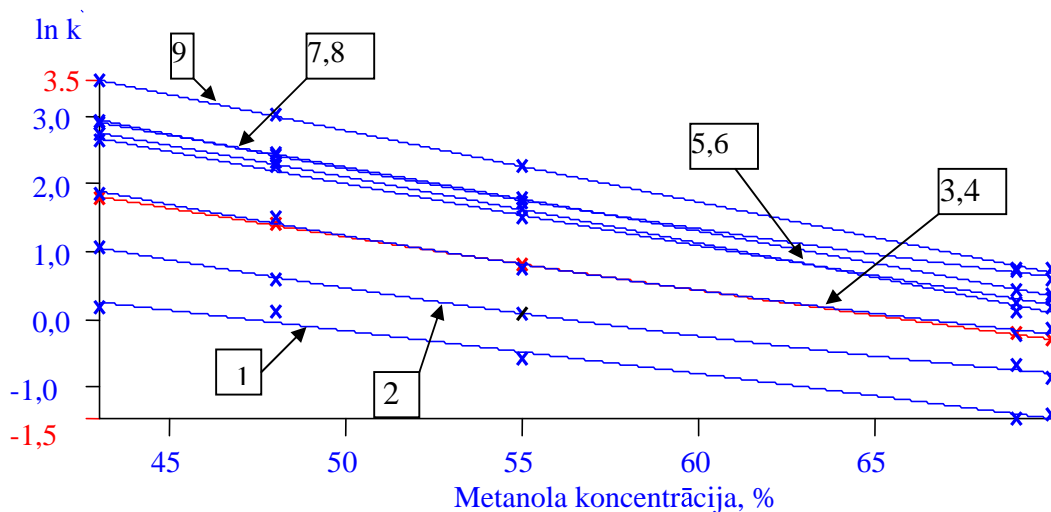
Organiskā modifikatora koncentrācijas ietekmi uz izdalīšanas faktoriem atbilstošāk apraksta modelis kvadrātvienādojuma formā:

$$\ln k = \ln k_0 + a_1 \cdot C + a_2 \cdot C^2 \quad (3.7)$$

Vienādojuma (3.7) parametri tika aprēķināti ar mazāko kvadrātu metodi un ir atrodami tabulā 3.22



3.14. att. *Herbicīdu izdalīšanas faktoru atkarība no acetonitrila koncentrācijas kustīgajā fāzē (sorbcijas modeļi). Apzīmējumi: 1 - deizopropilatrazīns, 2 - dezetilatrazīns, 3 - bromacils, 4 - simazīns, 5,6 – izoproturons, diurons, 7 - atrazīns, 8 – dihlorbenils, 9 – linurons. Sorbents: LiChroCART Purospher RP-18e, (125x4)mm kolonnā.*



3.15. att. *Herbicīdu izdalīšanas faktoru atkarība no metanola koncentrācijas kustīgajā fāzē (sorbcijas modeļi). Apzīmējumi: 1 - deizopropilatrazīns, 2 - dezetilatrazīns, 3,4 – bromacils, simazīns, 5,6 – atrazīns, izoproturons, 7,8 – dihlorbenils, diurons, 9 – linurons. Sorbents: LiChroCART Purospher RP-18e, (125x4)mm kolonnā.*

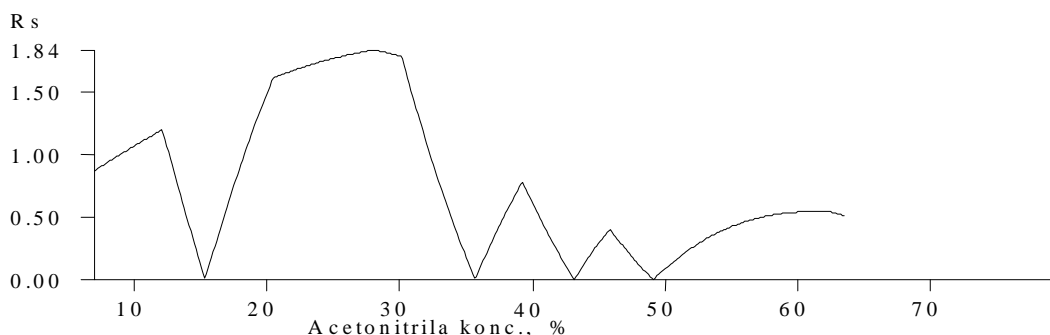
Sorbcijas modeļa (kvadrātvienādojuma formā, 3.7) parametri, kas iegūti par eluentiem izmantojot metanola un acetoneitrila ūdens šķīdumus

N	Savienojumi	Metanols			Acetonitrils		
		ln k ₀	a ₁	a ₂	ln k ₀	a ₁	a ₂
1	Deizopropilatrazīns	3,36	-0,0780	0,0001	2,63	-0,1115	0,0005
2	Dezetilatrazīns	4,65	-0,0960	0,0003	3,81	-0,1325	0,0007
3	Dihlobenils	9,31	-0,1865	0,0009	6,60	-0,1320	0,0005
4	Bromacils	6,09	-0,1130	0,0003	4,76	-0,1340	0,0007
5	Izoproturons	6,19	-0,0690	0,0003	6,08	-0,1450	0,0007
6	Diurons	6,91	-0,0925	0,0000	6,10	-0,1410	0,0006
7	Linurons	8,24	-0,1120	0,0001	7,45	-0,1590	0,0007
8	Atrazīns	7,32	-0,1190	0,0002	5,08	-0,1070	0,0004
9	Simazīns	6,99	-0,1450	0,0006	4,39	-0,1060	0,0004

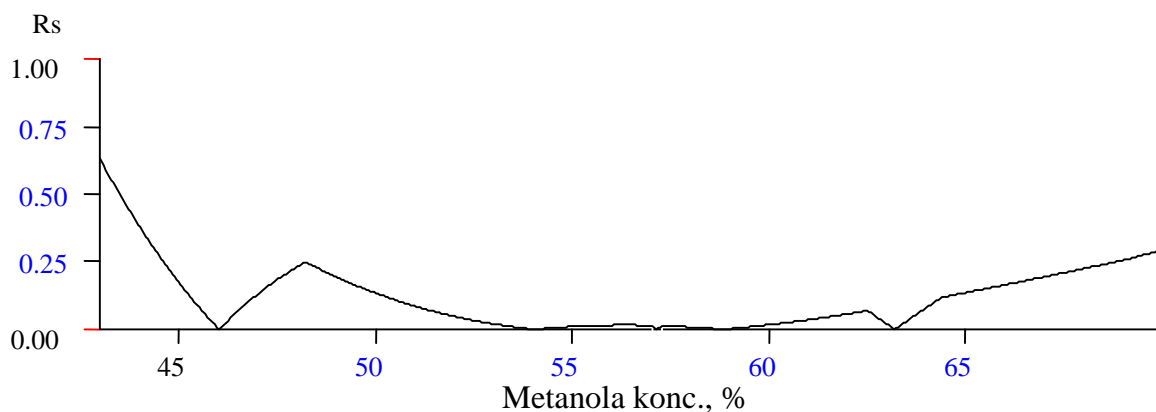
Jāatzīmē, ka virziena koeficienti atkarībās $\ln k = f(C)$ ir ievērojami augstāki acetoneitrila šķīdumu gadījumā attiecībā pret metanolu (salīdzinot absolūtās vērtības attēlos 3.14 un 3.15). Tādēļ praksē noderīgs ir visai šaurš acetoneitrila šķīdumu koncentrāciju diapazons, kas ļauj iegūt pieņemamas izdalīšanas faktoru vērtības ($k = 1,0 - 20$). Vielu izdalīšanās secība abu šķīdinātāju gadījumā ir vienāda, lai gan acetoneitrila šķīdumu izmantošana par kustīgām fāzēm ļauj sasniegt ievērojami augstāku atdalīšanas selektivitāti pāriem bromacils-simazīns, atrazīns-izoproturons un diurons-dihlobenils (attēli 3.14 un 3.15). Mazākos izdalīšanas laikus novēro polārākajam triazīna atvasinājumam deizopropilatrazīnam, bet lielākos – linuronam, kura sastāvā ir tādi hidrofobi fragmenti kā Cl-, fenil-, metil- un metoksigrupas. Izteiksmi (3.7) var izmantot vielu izdalīšanas laiku prognozēšanai, ja kustīgajā fāzē ir dažāda organiskā šķīdinātāja koncentrācija, kā arī izšķiršanas karšu iegūšanai ($R_s = f(C)$). Šādas izšķiršanas kartes ir ļoti piemērotas sarežģītu maisījumu optimālu atdalīšanas apstākļu noskaidrošanai. Blakus esošu joslu izšķiršanu R_s aprēķina saskaņā ar izteiksmi:

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{0,5(w_1 + w_2)} \quad (3.8)$$

kur t_{R1} un t_{R2} – ir izdalīšanas laiki attiecīgi pirmajai un otrajai blakus esošai joslai, bet w_1 un w_2 to platumi pie pamatnes. Attēlos 3.16 un 3.17 parādītas izšķiršanas kartes maisījuma vissliktāk atdalītajiem pāriem.

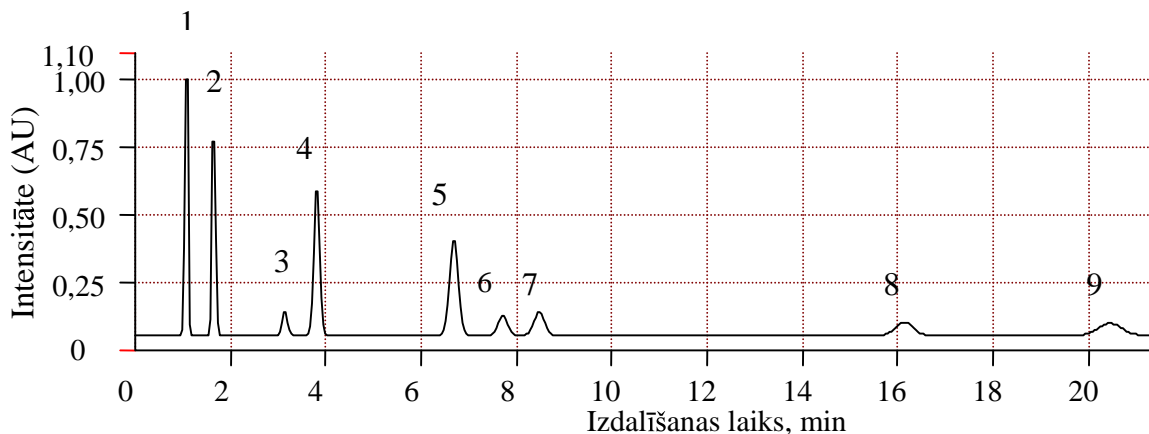


3.16. att. Pāru izšķiršanas karte 9 herbicīdu maisījuma atdalīšanai, par kustīgajām fāzēm izmantojot acetonitrila ūdens šķīdumus.

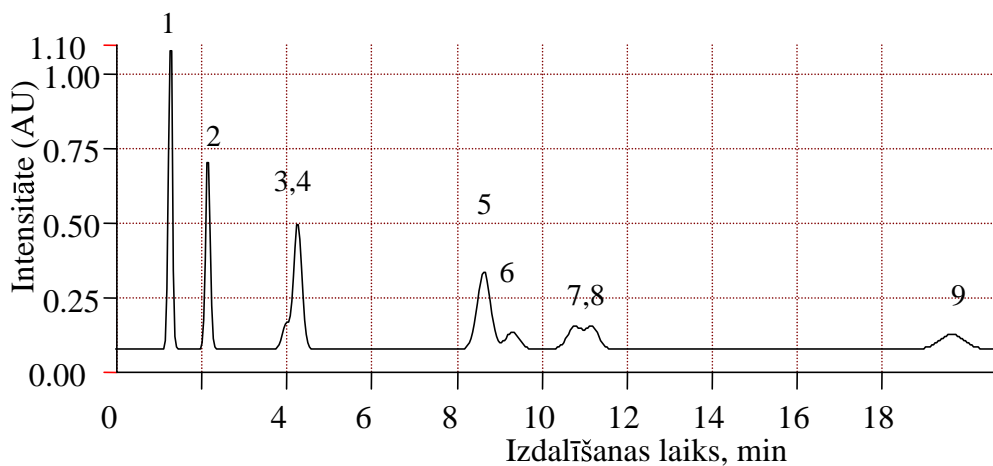


3.17. att. Pāru izšķiršanas karte 9 herbicīdu (att.3.10) maisījuma atdalīšanai, par kustīgajām fāzēm izmantojot metanola ūdens šķīdumus.

Kā redzams no attēliem 3.16 un 3.17, pētīto savienojumu izšķiršana, par kustīgo fāzi izmantojot acetonitrila ūdens šķīdumus, ir ievērojami augstāka ($R_s \geq 1,5$) nekā tad, ja par eluentu izmanto metanola šķīdumus ($R_s = 0,63$). Ar acetonitrila koncentrāciju 20-30% robežās kustīgajā fāzē visus savienojumus var pilnīgi atdalīt, augstāko izšķiršanu sasniedzot pie $28 \pm 2\%$ (att. 3.18). Izmantojot par kustīgajām fāzēm metanola ūdens šķīdumus, pilnīgāko pētīto savienojumu atdalīšanu var sasniegt pie 43% metanola, kaut arī joslu pāri bromacils/simazīns un diurons/dihlobenils ir ievērojamā mērā pārklājušies (att. 3.19).



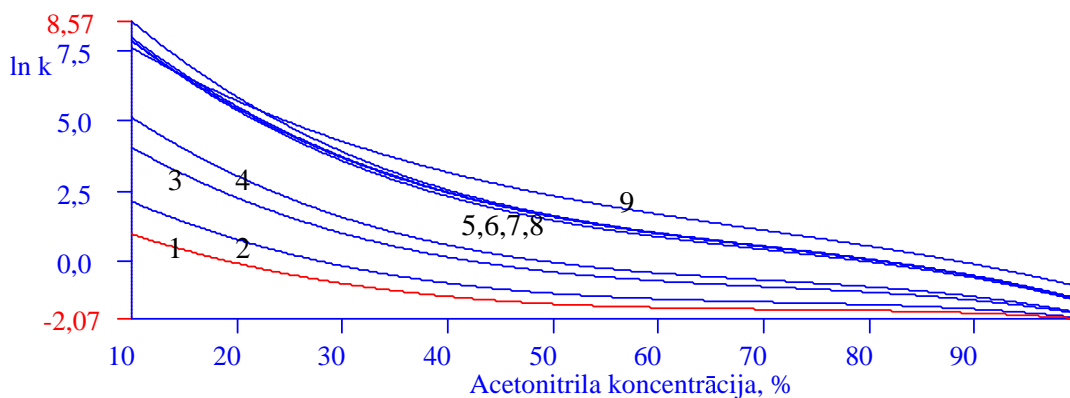
3.18. att. Triazīna atvasinājumu atdalīšana, izmantojot par kustīgo fāzi 28% acetoni-trila šķīdumu ūdenī. Savienojumi: 1 – deizopropilatrazīns, 2 - dezetilatrazīns, 3 – bromacils, 4 - simazīns, 5- atrazīns, 6 – izoproturons, 7 - diurons, 8 – dihlobenils, 9 – linurons. Kolonna : LiChroCART Purospher RP-18e (125x4mm)



3.19. att. Triazīna atvasinājumu atdalīšana, izmantojot par kustīgo fāzi 43% metanola šķīdumu ūdenī. Savienojumi: 1 – deizopropilatrazīns, 2 - dezetilatrazīns, 3 – bromacils, 4 - simazīns, 5- atrazīns, 6 – izoproturons, 7 - diurons, 8 – dihlobenils, 9 – linurons. : Kolonna: LiChroCART Purospher RP-18e (125x4mm)

3.4.2. Analīzes metodes izstrāde, izmantojot savienojumu uzbūvi un datora programmas

Nodaļā 3.2 aprakstījām divu slāņu kontinuuma sorbcijas (solvātu sorbcijas) modeli izdalīšanas parametru prognozēšanai apgrieztās fāzes šķidrums hromatogrāfijā. „Nulles tuvinājuma” līmenim nepieciešama sorbāta struktūrformula un kolonnas īpašības, bet pirmajam un nākošajiem tuvinājuma līmeņiem – eksperimentāli iegūti dati, kurus tālākajā darbā izmanto modeļa parametru koriģēšanai. Šajā nodaļā tiks aprakstīta minētās pieejas izmantošana deviņu triazīna atvasinājumu izokrātiskas atdalīšanas optimizācijai ar apgrieztās fāzes AEŠH. Pirmais veicamais uzdevums, izmantojot izokrātiskas analīzes metodes, ir sorbcijas optimizācija, nolūkā sasniegt reālus savienojumu izdalīšanas laikus. „Nulles tuvinājuma” līmenī, kad zināmas vienīgi analizējamo vielu formulas un kolonnu īpašības, var izmantot „pirmā viesā” metodes apstākļus, kas nosaka samērā zemas vielu izdalīšanas laiku vērtības. Izdalīšanas faktora vērtība $k = 5$ ir uzskatāma par pieņemamu sākuma punktu optimizācijas uzsākšanai [46]. Izmantojot savienojumu struktūrformulas un kolonnu īpašības, tika iegūti visu savienojumu sorbcijas modeļi (3.20. att.) un aprēķināts, ka šādas k vērtības ir iegūstamas ar 60% acetonitrila kustīgajā fāzē (3.23. tab.).



3.20. att. Triazīna atvasinājumu sorbcijas modeļi, kas iegūti „nulles tuvinājuma” līmenī, izmantojot uzbūves parametrus (tabula 3.18) un kolonnu īpašības. Apzīmējumi: 1 - deizopropilatrazīns, 2 - dezetilatrazīns, 3 – simazīns, 4 -atrazīns, 5, 6, 7, 8 – linurons, bromacils, diurons, izoproturons, 9 – dihlorbenils.

Jāatzīmē, ka prognozējamā savienojumu sorbcija ir visai līdzīga eksperimentāli iegūtajai (3.14. att.). Pirmajā eksperimentā iegūtie sorbcijas dati ir izmantojami enerģijas vērtības

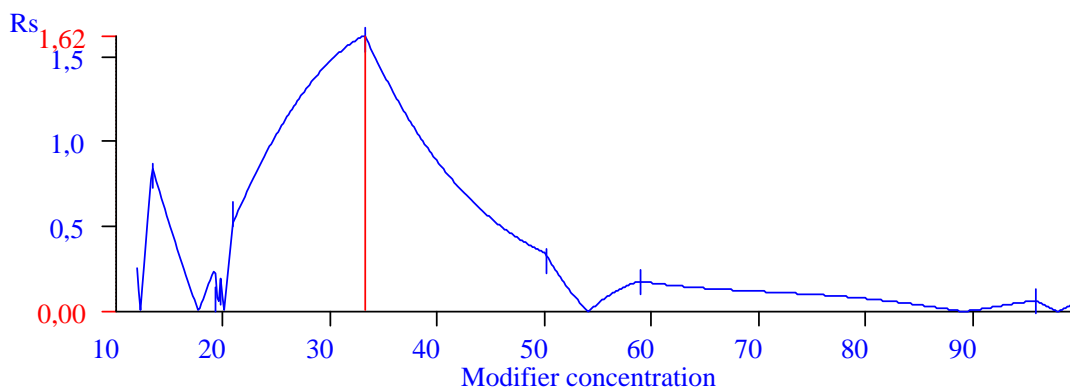
koriģēšanai izteiksmē 3.1 (pirmais tuvinājums) un ir lietojami izšķiršanas karšu izveidei (att. 3.22).

3.23. tabula

Prognozētie k (k_{prog}), kas iegūti, izmantojot vielu struktūrformulas un kolonnu īpašības (nulles tuvinājums).

Prognozētie hromatogrāfiskās analīzes apstākļi: eluents 60% AcN; kolonna: *Purospher 18e*

Savienojumi	$k_{prog.}$
Deizopropilatrazīns	0,19
Dezetilatrazīns	0,26
Simazīns	0,49
Atrazīns	0,65
Linurons	2,36
Bromacils	2,65
Diurons	2,66
Izoproturons	2,71
Dihlorbenils	5,30



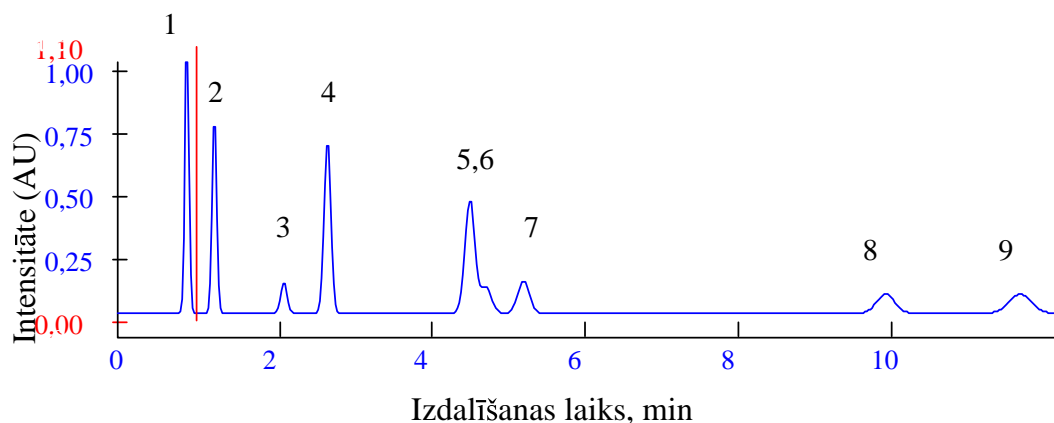
3.22. att. Izšķiršanas karte, kas iegūta no pirmā tuvinājuma datiem. Enerģijas koriģēšanai izteiksmē 3.1 izmantoti viena eksperimenta dati, par kustīgo fāzi lietojot 60% acetonitrila ūdens šķīdumu. Kolonna: *Purospher 18e*

Prognozētie izdalīšanas laiki, kas iegūti pirmā tuvinājuma stadijā (60% acetnitrila ūdenī) Prognozētie hromatogrāfiskās analīzes apstākļi: eluents: 33% AcN; kolonna:

Purospher RP 18e

Savienojumi	$t_{R,prog}$ (min.)
Deizopropilatrazīns	0,69
Dezetilatrazīns	0,94
Bromacils	1,61
Simazīns	2,39
Diurons	3,47
Izoproturons	4,00
Atrazīns	4,60
Dihlorbenils	6,89
Linurons	9,95

No attēla 3.21 izriet, ka prognozētie vielu optimālas atdalīšanas apstākļi sasniedzami, ja acetnitrila koncentrācija kustīgajā fāzē 33%. Šī koncentrācija tika izvēlēta otrajam eksperimentam. Neraugoties uz visai labi prognozētajiem izdalīšanas laikiem pirmajā tuvinājuma stadijā (3.21. tab.), šādos apstākļos iegūtā hromatogrammā ir pārklājušās atrazīna un izoproturona joslas (4,61/4,82 min., 3.22. att.), kas norāda uz tālākas optimizācijas nepieciešamību.



3.22. att. Eksperimentāli iegūtā hromatogramma ar 33% acetoniātrila kustīgajā fāzē.

Savienojumi: 1 - deizopropilatrazīns, 2 – dezetilatrāzīns, 3 – bromacils, 4 – simazīns, 5 – atrāzīns, 6 - izoproturons, 7 – diurons, 8 – dihlorbenils, 9 - linurons. Kolonna: Purospher 18e

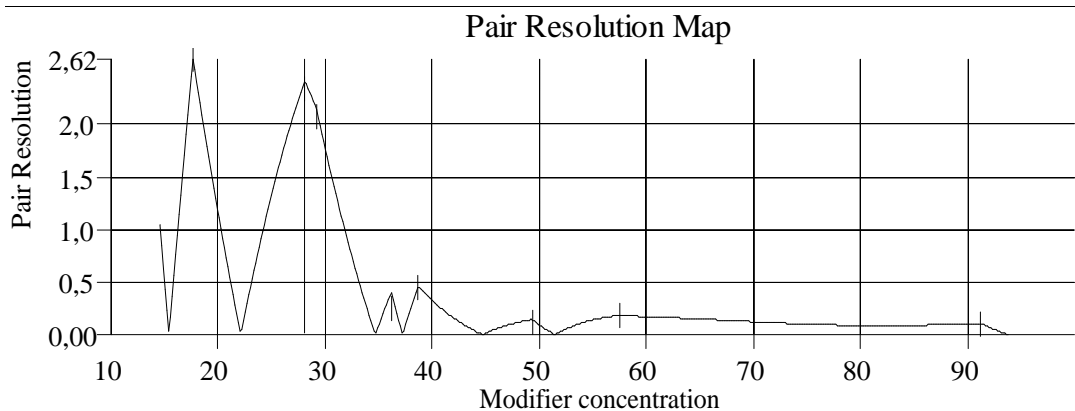
Pirmajā un otrajā eksperimentā iegūtie dati tika izmantoti enerģijas un mola tilpuma aprēķināšanai izteiksmē 3.1 (3.25. tab.) (otrais tuvinājuma līmenis) un koriģētas joslu pāru izšķiršanas kartes izveidošanai (3.23. att.).

3.25. tabula

Vielu parametri, kas aprēķināti, izmantojot divu eksperimentu datus (otrais tuvinājuma līmenis).

Kolonna: Purospher RP-18e, 5 μm; eluenti: 33% acetoniātrila un 60% acetoniātrila ūdens šķīdumi.

Savienojumi	$V_m, \text{cm}^3 / \text{mol}$	$E_{\text{int}}, \text{KJ/mol}$
Deizopropilatrazīns	251,2	-221,1
Dezetilatrazīns	220,1	-185,9
Dihlobenils	176,0	-104,9
Bromacils	228,8	-177,1
Izoproturons	220,4	-153,3
Diurons	240,5	-166,3
Linurons	209,1	-126,7
Atrāzīns	176,0	-120,0
Simazīns	180,8	-135,4



3.23. att. Atrazīna atvasinājumu joslu pāru izšķiršanas karte, kas iegūta, izmantojot otro tuvinājuma līmeni. Divu eksperimentu dati ar 60 un 33% acetonitrila kustīgajā fāzē izmantoti enerģijas un mola tilpuma koriģēšanai izteiksmē 3.1

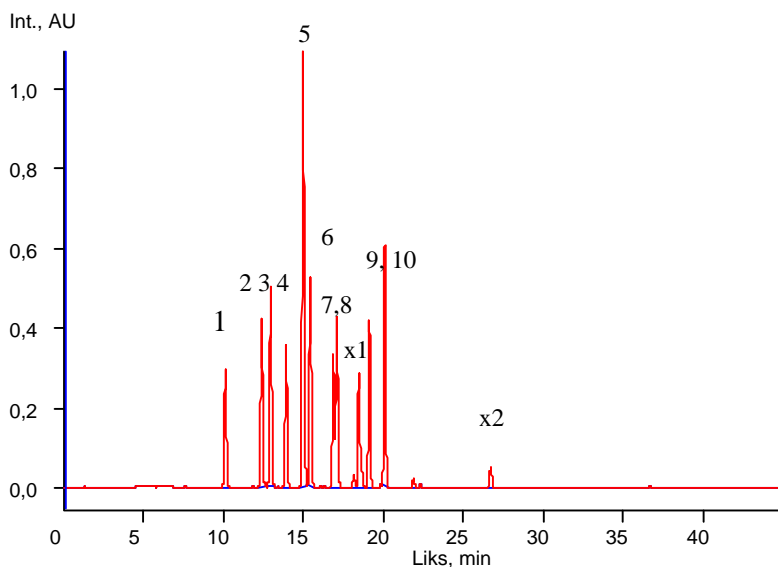
Kā redzams attēlā 3.23, izšķiršanas maksimums, vienlaikus ar praktiski pieņemamiem izdalīšanas laikiem, novērojams pie 28% acetonitrila kustīgajā fāzē. Būtībā šāda optimālā koncentrācija ir atrasta pēc detalizētas savienojumu sorbcijas izpētes (3.16. un 3.18. att.). Iepriekš teiktais ļauj uzskatīt, ka pieeja „soli pa solim” no „pirmā viesā” (nulle tuvinājums) līdz galīgai atdalīšanai (otrais tuvinājums) var palīdzēt atrast optimālus maisījumu atdalīšanas apstākļus ar minimālu ieguldījumu eksperimentālajā darbā.

3.5. Optimizācija gradienta apstākļos

Atdalīšanas optimizācija kustīgās fāzes gradienta apstākļos prasa daudzu eksperimentu izpildi ar „mēģinājumu un kļūdu” metodi, balstoties uz intuitīviem priekšstatiem par hromatogrāfiskā procesa norisi. Jāuzsver, ka šāds optimizācijas process ir stipri laiktelpīgs. Dažiem visai „grūtiem” paraugiem „mēģinājumu un kļūdu” eksperimenti vien var būt nepietiekami gradienta analīzes metodes izstrādei, savukārt, datorsimulācija var būt sekmīga arī ar relatīvi nelielu laiku un pūļu patēriņu. Metodes izstrāde ar datoru programmu palīdzību pamatojas uz divām vai vairākām „izlūkošanas režīmā” iegūtām eksperimentālām hromatogrammām.

Metodes matemātisko pamatu veido šķīdinātāja stipruma linearitātes modelis. Metodes izstrāde ar datoru programmu palīdzību, ņemot vērā analizējamās viela struktūrformulu, pamatojas uz solvātu sorbcijas modeli (izteiksme 3.1). Tā ļauj aprēķināt izdalīšanas

lielumus apgrieztās fāzes AEŠH no sorbāta uzbūves un kolonnu īpašībām sākotnējo gradienta apstākļu paredzēšanai („pirmā viesa” lineārais gradients), bet pēc tam veikt modeļa smalkāku „pieregulēšanu”, ievadot vienā mēģinājumā iegūtos datus. Solvātu sorbcijas modeli var izmantot, lai paredzētu organiskā modifikatora sākuma un beigu koncentrācijas, kā arī gradienta laiku pirmajai analīzei gradienta apstākļos. Izmantojot vielu struktūrformulas un kolonnu īpašības, ir izdevies paredzēt sākotnējo lineārā gradienta profilu (3.12. tab.) lamotrigīnam un tā atvasinājumiem, iegūstot izdalīšanas laikus, kas nepārsniedz 20 min ($k \approx 20$). Kā redzams attēlā 3.24, praksē izmantojamus izdalīšanas laikus tiešām izdevās iegūt, kaut gan vielas 7 un 8 pilnībā izšķīrtas netika. Eksperimentāli iegūtās izdalīšanas laiku vērtības sākotnējam gradientam (3.9. tab.) tika izmantotas enerģijas sastāvdaļas koriģēšanai izteiksmē 3.1, kā arī hromatogrammu simulācijai un atdalīšanas apstākļu optimizācijai gradientā ar Monte-Karlo metodi [116]. Kā redzams attēlā 3.25, daudzu stadiju gradienta profils, kas tika paredzēts tikai no viena eksperimenta datiem, ļauj panākt visu savienojumu atdalīšanu.



3.24. att. Lamotrigīna un tā atvasinājumu eksperimentāla hromatogramma. Hromatogrāfiskās analīzes apstākļi un savienojumi aprakstīti tabulā 3.12; x_1 un x_2 - nezināmi piemaisījumi.

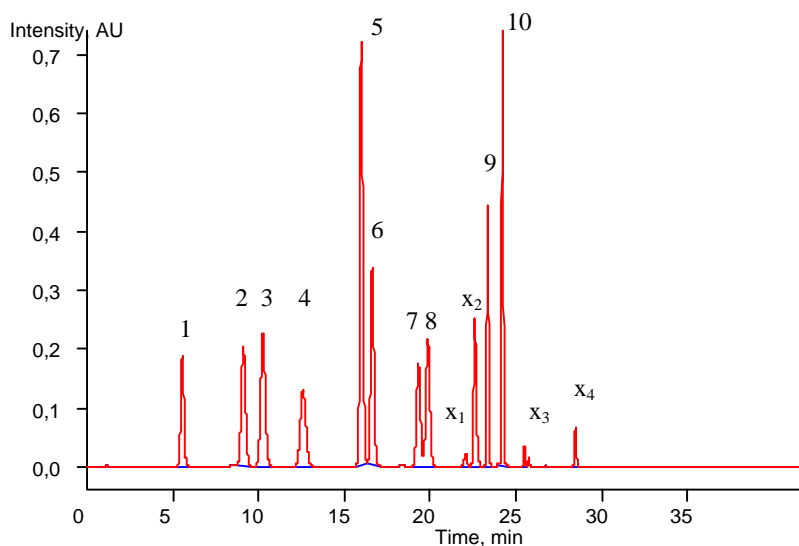


Fig. 3.25. Lamotrigīna un tā atvasinājumu eksperimentāli iegūta hromatogramma. Hromatogrāfiskās analīzes apstākļi: 0.0 min-13% B, 13.5 min-14% B, 13.6 min-20% B, 19.0 min-22% B, 25.9 min-49% B; B ir acetonitrils. Savienojumi: 1 - 2-hloroamotrigīns, 2 - 3-Hloroamotrigīns, 3 - 4-2-Hloroamotrigīns, 4 - 2,5-dihloroamotrigīns, 5 - lamotrigīns, 6 - 2,4-dihlorolamotrigīns, 7 - 3,5- dihlorolamotrigīns, 8 - 3,4- dihlorolamotrigīns, 9 - 2,3,5-trihlorolamotrigīns, 10 - lamotrigīna vaļējā forma, x_1 , x_2 , x_3 un x_4 - nezināmi piemaisījumi. Kolonna: Inertsil ODS-3 (4.6x150 mm)

3.6. Secinājumi

1. Balstoties uz solvātu sorbcijas modeli, iegūta virkne kolonnas parametru (izmēra, polaritāte un hidrofobitātes selektivitāte, polaritāte, kolonnu konstante, NH_2 iedarbības), kas ir izmantojami apgrieztās fāzes sorbentu salīdzināšanai.

2. Vienkāršs testa maisījums, sastāvošs no benzola, fenola, anilīna un toluola, kopā ar datorprogrammu ļauj ātri aprēķināt kolonnu parametrus un vizualizēt atšķirības starp kolonnām.

3. Noskaidrots, ka izmantojot kolonnu kartes un parametrus, kas kvantitatīvi apraksta atšķirības starp kolonnām, iespējams salīdzināt kolonnas, novērtēt starpkolonnu atkārtojamību, kā arī pārbaudīt kolonnu parametru stabilitāti.

4. Solvātu sorbcijas modelis ļauj prognozēt sākotnējos analīzes apstākļus, lietojot izokrātisku kustīgās fāzes sastāvu vai tās gradientu, balstoties uz analizējamās vielas

struktūrformulu un kolonnu parametriem, kā arī uzsākt optimizācijas procesu ar viena eksperimenta datiem.

5. Atrasti plaši izmantotu herbicīdu (atrazīna, simazīna, dezetilatrazīna, deizopropilatrazīna, izoproturona, diurona, linurona, bromacila un dihlobenila) maisījuma optimālas atdalīšanas apstākļi (kolonna *LiChroCART Purospher RP-18e* (4,0 x 125) mm i.d., 5 μm; kustīgā fāze: 1) 28% acetonitrila ūdenī; 2) 43% metanola ūdenī; plūsmas ātrums 1ml/min; detektora viļņa garums – 220 nm).

6. Izstrādātā sorbcijas parametru prognozēšanas metode ļauj panākt optimālu lamotrigīna un tā atvasinājumu maisījuma atdalīšanu apgrieztās fāzes šķidrumu hromatogrāfijas apstākļos.

SECINĀJUMI

1. Izstrādāta metode apgrieztās fāzes kolonnu novērtēšanai un salīdzināšanai, kas ļāva eksperimentāli raksturot un salīdzināt 17 apgrieztās fāzes sorbentus, izmantojot parametrus, kas iegūti ar solvātu sorbcijas modeļa palīdzību (izmēra selektivitāte, hidrofobitāte, hidrofobitātes selektivitāte, polaritātes selektivitāte, polaritāte, kolonnu konstante, NH_2 iedarbības).
2. Izstrādātā secīgo tuvinājumu metode ļauj izmantot solvātu sorbcijas modeli sorbcijas parametru precīzai prognozei gan darbā ar kustīgās fāzes izokrātisku, gan gradienta sastāvu AF AEŠH.
3. Parādīts, ka precīza izdalīšanas laiku prognozēšana AF AEŠH, lietojot izokrātisku vai kustīgās fāzes gradienta sastāvu, ir iespējama, izmantojot vienā eksperimentā iegūtos datus un mijiedarbības enerģijas lieluma korekciju solvātu sorbcijas modelī.
4. Izmantojot analizējamo savienojumu struktūras elementus un kolonnu īpašības sorbcijas īpašību prognozēšanai, iespējams būtisks laika ietaupījums, kas nepieciešams optimālu analīzes apstākļu izstrādei metodēs ar izokrātisku kustīgās fāzes sastāvu, kā arī gradienta apstākļos.
5. Izpētot sorbcijas raksturu 20 triazīna, fenilurīnvielas un aromātiskas funkcionalitātes herbicīdu atvasinājumiem, izmantojot dažādus oktadecil-, oktil-, nitril- un fenilgrupas saturošus apgrieztās fāzes sorbentus izokrātiskos un gradienta apstākļos, par kustīgajām fāzēm lietojot acetonitrila un metanola ūdens šķīdumus, parādītas solvātu sorbcijas modeļa izmantošanas iespējas hromatogrāfisko parametru prognozēšanai.
6. Noskaidrots, ka triazīna, fenilurīnvielas un aromātiskas funkcionalitātes herbicīdu maisījuma optimāla atdalīšana ir iespējama AF AEŠH apstākļos.
7. Parādīta lamotrigīna (6-(2,3-dihlorofenil)-1,2,4-triazīn-3,5-diamīns), tā piemaisījumu, starpproduktu un izejvielu maisījuma optimālas atdalīšanas iespējamība AF AEŠH apstākļos. Metode ir izmantojama aktīvās zāļu formas lamotrigīna ražošanas kontrolei.

8. Secīgo tuvinājumu metode hromatogrāfiskās atdalīšanas optimizācijai ievērojami samazina laiku, kas nepieciešams analīzes metodes izstrādei ar apgrieztās fāzes AEŠH.
9. Izstrādājot hromatogrāfiskās analīzes metodi ar datorprogrammas palīdzību, kura spēj ievērot analizējamās vielas uzbūves īpatnības, ir iespējams ne vien ievērojami ietaupīt laiku, bet arī uzlabot AEŠH kvalitāti un produktivitāti rutīnas analīzēs.

LITERATŪRAS SARAKSTS

1. *Ganetsos G., Barker P.*, 1992, Preparative and production scale chromatography. Marcel Dekker, Inc., New York.
2. *Grüner R.*, 2001, Charakterisierung und Anwendung stationärer Phasen in der Umkehrphasenchromatographie. *Dissertation*, Universität des Saarlandes, Saarbrücken.
3. *Engelhardt H., Blay Ch., Saar J.*, 2005, *Chromatographia*, **62**, 19.
4. *Neue U.*, HPLC columns, Theory, Technology, and Practice. Wiley-VCH, New York, 1997
5. *Jungheim M., Engelhardt H.*, *Chromatographia*, 1990, **29**, 59.
6. *Kirkland J., Henderson J., DeStefano J., Straten M., Claessens H.*, *J.Chromatogr.*, A 1997, **762**, 97.
7. *Claessens H., Vermeer E., Cramers C.*, *LC-GC Intern.*, 1993, **11**, 6, 692
8. *Neue U., Phillips D., Walter T., Capparella M., Bonie A., Raymond P.*, *LC-GC Intern.*, 1994, **6**, 12, 468
9. *D.Barret, V.Brown, Nicholas Shaw P., Davies M.*, *J. Chromatogr. Sci.*, 1996, **34**, 146.
10. *Wieland G., Cabrera K., Eymann W.*, *LC-GC Intern.* 6, 1993, **11**, 692.
11. *A. Goldberg.*, *Anal.Chem.*, 1982, **54**, 342.
12. *Sander L., Wise S.*, *J. High.Resolut.Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, 1988, **11**, 383.
13. *Kimata K., Iwagushi K., Onoshi S., Jinno K., Exteen R., Hosoya K., Araki M., Tanaka N.*, *J. Chromatogr. Sci.*, 1989, **27**, 721.
14. *Sander L., Wise S.*, *Journal of Separation Science*, 2003, **26**, 283.
15. *Engelhardt H., Jungheim M.*, *Chromatographia*, 1990, **29**, 59.
16. *Engelhardt H., Arangio M., Lobert T.*, *LC-GC*, 1997, **15**, 856.
17. *Euerby M., Petersson P.*, *J. Chromatogr. A*, 2003, **994**, 13.
18. *Euerby M., Petersson P.*, *J. Chromatogr. A*, 2005, **1088**, 1.
19. *Neue U., VanTran K., Iraneta P., Alden B.*, *Journal of Separation Science*, 2003, **26**, 174.
20. *Olsen B., Sullivan G.*, *J.Chromatogr.*, 1995, **692**, 147.
21. *Cruz E., Euerby M., Jonson C., Hackett C.*, *J. Chromatogr.*, 1997, **44**, 151.
22. *Du C., Valko K., Bevan C., Reynolds D., Abraham M.*, *J. Chromatogr. Sci.*, 2000, **38**, 503.

23. *Kaliszan R.*, Structure and Retention in Chromatography. A Chemometric Approach, Harwood, 1997.
24. *Wilson N., Nelson M., Dolan J., Snyder L., Wolcott R., Carr P.*, J. Chromatogr. A , 2002, **961**, 171.
25. *Wilson N., Nelson M., Dolan J., Snyder L., Carr P.*, J. Chromatogr. A, 2002, **961**, 195.
26. *Wilson N., Dolan J., Snyder L., Carr P., Sander L.*, J. Chromatogr. A, 2002, **961**, 217.
27. *Gilroy J., Dolan J., Snyder L.*, J. Chromatogr. A, 2003, **1000**, 757.
28. *Gilroy J., Dolan J., Carr P., Sander L.*, J. Chromatogr. A , 2004, **1026**, 77.
29. *Wilson N., Gilroy J., Dolan J., Snyder L.*, J. Chromatogr. A, 2004, **1026**, 91.
30. *Claessens H.*, Characterization of stationary phases for reversed-phase liquid chromatography. Column testing, classification and chemical stability, Ph.D. thesis, TUE, 6 January 1999.
31. *Eymann W.*, Chromatographia, 1997, **45**, 235.
32. *Walters M.*, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1987, **70**, 465.
33. *Daldrup T., Kardel B.*, Chromatographia, 1984, **18**, 81.
34. *Smith R.*, J. Chromatogr., 1995, **57**.
35. *Nahum A., Horv?th Cs.*, J. Chromatogr., 1981, **203**, 53.
36. *Tan L., Carr P., Abraham M.*, J. Chromatogr. A, 1996, **752**, 1.
37. *Abraham M., Chadha H., Leitao R., Mitchell R., Lambert W., Kaliszan R., Nasal A., Haber P.*, J. Chromatogr. A, 1997, **766**, 35.
38. *Galushko S.*, Chromatographia, 1993, **36**, 39.
39. *Abraham M., Rozés M., Poole C., Poole S.*, J. Phys. Org. Chem., 1997, **10**, 358.
40. *Carr P.*, Microchem. J., 1993, **48**, 4.
41. *Bolliet D., Poole C.*, Chromatographia, 1997, **46**, 381.
42. *Buszewski B., Gadzala-Kopciuch R, Markuszewski M., Kaliszan R.*, Anal.Chem., 1997, **69**, 3277.
43. *Hsieh Mei-Ming, Dorsey J.*, J. Chromatogr., 1993, **631**, 63.
44. *M.H. Abraham*, University College London Data Base, 1996.
45. *M.H. Abraham*, Chem. Soc. Rev. 1993, **22**, 73.
46. *Snyder L, Kirkland J, Glajch J.*, Practical HPLC Method Development, Wiley, New York, 1997.
47. *Tisser R., Billet H., Schoenmakers P.*, J. Chromatogr., 1976, **22**, 185.
48. *Baker J.*, Anal. Chem., 1979, **51**, 1693.
49. *Smith R.*, J. Chromatogr., 1982, **236**, 313.

50. *Smith R.*, *Anal. Chem.*, 1984, **56**, 256.
51. *Jandera P., Colin H., Guiochon G.*, *Anal. Chem.*, 1982, **54**, 435.
52. *Colin H., Guiochon G., Jandera P.*, *Anal. Chem.*, 1983, **55**, 442.
53. *Jinno K.*, *Chromatographia*, 1983, **17**, 367.
54. *Grygorjeva V., Shatz V., Brivkalne L., Chipens G.*, *Biorg. Khim.*, 1983, **9**, 869
55. *Koopmans R., Rekker R.*, *J. Chromatogr.*, 1984, **285**, 267.
56. *Smith R.*, *J. Chromatogr.*, 1981, **209**, 1.
57. *Thus J., Kraak J.*, *J. Chromatogr.*, 1985, **320**, 271.
58. *Horvath Cs., Melander W.*, *J. Chromatogr. Sci.*, 1977, **15**, 393.
59. *Kiselev A., Poshkus D., Yashin Ya.*, *Molekularnyi Osnovy Khromatografii, Khimiya, Moskva*, 1986, 272.
60. *Tchara A., Colin H., Guiochon G.*, *Anal. Chem.*, 1984, **56**, 621.
61. *Karger B., Gant J., Nartkopf A., Weiner P.*, *J. Chromatogr.*, 1976, **122**, 185.
62. *Karger B., Gant J., Nartkopf A., Weiner P.*, *J. Chromatogr.*, 1976, **128**, 65.
63. *Lentonen P.*, *J. Chromatogr.*, 1983, **267**, 277.
64. *Petric S., Logic S., Refer J.*, *J. Chromatogr.*, 1985, **348**, 49.
65. *Jandera P.*, *J. Chromatogr.*, 1986, **352**, 112.
66. *Jandera P.*, *J. Chromatogr.*, 1986, **352**, 91.
67. *Smith R., Burr C.*, *J. Chromatogr.*, 1989, **481**, 85.
68. *Smith R., Burr C.*, *J. Chromatogr.*, 1989, **485**, 325.
69. *Colin H., Guiochon G.*, *J. Chromatogr.*, 1977, **141**, 289.
70. *Renak V., Smolkova E.*, *Chromatographia*, 1976, **9**, 219.
71. *Renak V., Smolkova E.*, *J. Chromatogr.*, 1980, **191**, 71.
72. *Snyder L., Kirkland J.*, *Introduction to modern liquid chromatography, Wiley, New York*, 1979, 863.
73. *Knox J., Pryde A.*, *J. Chromatogr.*, 1975, **121**, 171.
74. *Colin H., Guiochon G.*, *J. Chromatogr.*, 1978, **158**, 183.
75. *Murakami F.*, *J. Chromatogr.*, 1979, **178**, 393.
76. *Horvath Cs., Melander W., Molnar I.*, *J. Chromatogr.* 1976, **125**, 129.
77. *Horvath Cs., Melander W., Molnar I.*, *Anal. Chem.*, 1977, **49**, 142.
78. *Horvath Cs., Melander W.*, *J. Chromatogr. Sci.*, 1977, **15**, 393.
79. *Sinanoglu O.*, *In Molecular interaction, Vol. 3, Wiley, New York*, 1982, 284.
80. *Martire D., Boehl R.*, *J. Phys. Chem.*, 1983, **87**, 1045.
81. *Jaromis M., Martire D.*, *J. Chromatogr.*, 1986, **351**, 1.

82. *Jaromis M., Martire D.*, J. Chromatogr., 1987, **387**, 55.
83. *Galushko S., Kamenchuk A., Pit G.*, J. Chromatogr.A, 1994, **660**, 47.
84. *Smith R.*, Retention and selectivity studies in liquid chromatography: prediction, standardization and phase comparisons, Elsevier Science Ltd, Amsterdam, 1995.
85. *Siouffi A, Phan-Tan-Luu A.*, J. Chromatogr.A, 2000, **689**, 75.
86. *Baczek T., Kaliszan R.*, J. Chromatogr.A, 2002, **962**, 41.
87. *Galushko S., Kamenchuk A., Pit G.*, American Laboratory, 1995, **27**, 421.
88. *Csok?n P, Darvas F, Csizmadia F, Valkó K*, LC-GC Int., 1994, **1**, 40.
89. *Delaurent C., Bennier-Maurel C*, Spectra Analyse, 2002, **224**, 34.
90. *Dolan J., Snyder L., Blanc T., Heukelem L.*, J. Chromatogr A, 2000, **897**, 37.
91. *Dolan J., Snyder L., Djordjevic N., Hill D., Waeghe T.*, J. Chromatogr A, 1999, **857**, 1.
92. *Dolan J., Snyder L., Djordjevic N., Hill D., Waeghe T.*, J. Chromatogr A, 1999, **857**, 21.
93. *Dolan J., Snyder L., Wolcott R., Haber P., Baczek T., Kaliszan R., Sander L.*, J. Chromatogr A, 1999, **857**, 41.
94. *Dolan J., Snyder L., Djordjevic N., Hill D., Saunders D., Heukelem L., Waeghe T.*, J. Chromatogr A, 1998, **803**, 1.
95. *Dolan J., Snyder L., Saunders D., Heukelem L.*, J. Chromatogr A, 1998, **803**, 33.
96. *Kaliszan R., Baczek T., Bucinski A., Buszewski B., Sztupecka M.*, J. Sep. Sci., 2003, **26**,3-4, 271.
97. *Lisichkin G., Kudryavtsev G., Serdan A., Staroverov C., Yuffa A.*, Modifitsyrovannye kremnezemy v sorbtsii, katalize i khromatografii, Khimija, Moskva, 1986, 248.
98. *Giplin R., Gangoda M., Krishen A.*, J. Chromatogr., 1982, **20**, 345.
99. *Lochmuller., Wilder D.*, J. Chromatogr., 1976, **17**, 233.
100. *Colin H., Guiochon G.*, J. Chromatogr., 1977, **141**, 289.
101. *Knox J., Pryde A.*, J. Chromatogr., 1975, **112**, 171.
102. *Haligoglu T., Sinanoglu O.*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 1969, **158**, 310.
103. *Belousov V.*, Termodinamika vodnyh rastvorov neelektrolitov, Khimiya, Leningrad, 1983, 264.
104. *Teresawa S., Itsuki H., Arakawa S.*, J. Phys. Chem., 1975, **79**, 2345.

105. *Rein R., Renugopalakrishnan V., Nir S., Swissler T.*, Int. J. Quantum chem. quantum biol. Symp., 1975, **2**, 99.
106. *Kitaygorodskii A.*, Molekulyarnaya kristally, Nauka, Moskva, 1971, 424.
107. *Salem L.*, Elektrony v khimicheskikh reaktsiyakh, Mir, Moskva, 1985, 283.
108. *Klopman G.*, Chem. Phys. Lett., 1967, 200.
109. *Constansiel R.*, Theoret. Chem. Acta bul., 1980, **54**, 123.
110. *Rivail J., Rinaldi D.*, Chem. Phys., 1976, **18**, 233.
111. *Minkin V., Osipov O., Zhdanov Yu.*, Dipolnye momenty v organicheskoi khimii, Khimiya, Leningrad, 1963, 248.
112. *Exner O.*, Dipole moments in organic chemistry, Georg Thieme, Stuttgart, 1975, 33.
113. *Pasechnik V., Solovyova L., Gorbuniv A., Mitrifanov Ye., Karabanova Ye.*, Chromatographia, 1989, **28**, 258.
114. *Breuer M., Claessens H, Cramers C.*, Chromatographia, 1994, **38**, 137.
115. *Vervoort R., Maris F., Hindriks H.*, J. Chromatogr., 1992, **623**, 207.
116. *Galushko S., Kamenchuk S, Pit G.*, LC-GC Int., 1995, **8**, 10, 581.

PUBLIKĀCIJU SARAKSTS

Raksti:

1. *Golushko J., Mekšs P., Shishkina I., Galushko S.* Separation of triazine, phenylurea and some other herbicides by reverse-phase high-performance liquid chromatography. *Latv. Ķīm. Žurn.*, 2005, 4, 357.
2. *Golushko J., Mekšs P., Shishkina I., Galushko S.* Prediction of conditions in reverse-phase liquid chromatography using chemical structure and column characteristics. *Latv. Ķīm. Žurn.*, 2006, 4, 356.
3. *Golushko J., Mekšs P., Shishkina I., Galushko S.* Computer-aided method for characterization and comparison of reverse-phase HPLC columns. I theory. *Latv. Ķīm. Žurn.*, 2007, 1, 43.
4. *Golushko J., Mekšs P., Shishkina I., Galushko S.* Computer-aided method for characterization and comparison of reverse-phase HPLC columns. II. Column characterization. *Latv. Ķīm. Žurn.*, 2007, 2, 147.
5. *Golushko J., Mekšs P., Shishkina I., Galushko S.* Prediction of retention in gradient reverse-phase liquid chromatography using chemical structure and column characteristics. *Latv. Ķīm. Žurn.*, (pieņemta publicēšanai).

Referāti tēžu krājumos:

1. *S. Galushko, I. Shishkina, J. Galushko.* Comparison of different retention models for describing retention behaviour of compounds in RP-HPLC on a monolithic column. FUND 008. Abstracts 4 international symposiums on chromatography. Leipzig, Sept. 15-20, 2002.
2. *S. Galushko, I. Shishkina, J. Galushko.* RP-HPLC some herbicides on monolithic Chromolith Performance RP 18 and particle 18e columns. PHAS 016. Abstracts 4 international symposium on chromatography. Leipzig, Sept. 15-20, 2002.
3. *S. Galushko, I. Shishkina, J. Galushko and W.D. Beinert.* Practical experiences with fully automated HPLC method development system for pharmaceutical and chemical samples. Pittsburg conferences on analytical chemistry and applied spectroscopy. Orlando, USA, March 9-14, 2003.

4. *S. Galushko, I. Shishkina, J. Galushko, V. Tanchuk.* Prediction of retention in RP-LC with the lack of experimental data. 27th symposium on high performance liquid separations and related techniques. Nice, France, 15-19 June, 2003, p.37.
5. *S. Galushko, I. Shishkina, J. Galushko.* From chemical structures to final gradient methods. 27th symposium on high performance liquid separations and related techniques. Nice, France, 15-19 June, 2003, p.85.
6. *S. Galushko, I. Shishkina, J. Galushko, Patrick Lukulay.* Rapid Automatic HPLC Method Development with Different Columns, Solvents and pH for Pharmaceutical Samples. 25th International Symposium on Chromatography (ISC).Paris, France, 4-8 Oct., 2004.
7. *S. Galushko, I. Shishkina, J. Galushko.* RDPA 2005, 11th Meeting on Recent Devel. in Pharm. Anal.”, Rimini, Italy, 25-28 Sept., 2005.
8. *S. Galushko, I. Shishkina, J. Galushko.* Rapid automatic HPLC method development with 2-3 μ particle short columns for pharmaceutical samples. 29th International symposium on high performance liquid phase separations and related techniques. Stockholm, Sweden, 26-30 June, 2005.
9. *J. Goluško, P. Mekšs.* Apgrieztās fāzes AEŠH kolonnu salīdzinājums ar datoru palīdzību. Latvijas Universitātes 63. konference, Latvijas Universitāte, 4. februāris, 2005.