ЖУРНАЛ ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2023, том 97, № 5, с. 718–729

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ ПРОЦЕССОВ РАЗДЕЛЕНИЯ. ХРОМАТОГРАФИЯ

УДК 543.544.5.068.7

ОСОБЕННОСТИ ЗАВИСИМОСТИ ИНДЕКСОВ УДЕРЖИВАНИЯ СОРБАТОВ В ОБРАЩЕННО-ФАЗОВОЙ ВЭЖХ ОТ СОДЕРЖАНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ В СОСТАВЕ ЭЛЮЕНТА

© 2023 г. И. Г. Зенкевич[a],*, А. Деруиш[a], Д. А. Никитина[a]

[a]*Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии, Санкт-Петербург 198504, Россия*

**e-mail: izenkevich@yandex.ru*

Поступила в редакцию 15.09.2022 г.
После доработки 09.11.2022 г.
Принята к публикации 10.11.2022 г.

В результате характеристики зависимости индексов удерживания (RI) сорбатов разной химической природы от содержания (C) органических растворителей (метанол, ацетонитрил) в составе используемых в обращенно-фазовой ВЭЖХ элюентов установлено, что значения коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ одних и тех же соединений для элюентов разного состава заметно отличаются. Диапазон вариаций значений коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ для водно-метанольных элюентов (от –5.6 до +4.6) приблизительно вдвое больше, чем для водно-ацетонитрильных (от –4.5 до +0.8). Кроме того, выявлено, что для неполярных соединений значения $d\mathrm{RI}/dC$ при использовании водно-ацетонитрильных элюентов, как правило, меньше, чем для водно-метанольных, а для полярных – наоборот. Знаки и абсолютные величины коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ в наибольшей степени определяются полярностью сорбатов: для неполярных типичны значения $d\mathrm{RI}/dC > 0$, тогда как для более полярных – $d\mathrm{RI}/dC < 0$. Следовательно, определение даже знака этого коэффициента обеспечивает важную информацию о химической природе сорбатов. Показано отсутствие корреляции коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ как со значениями RI, так и с факторами гидрофобности, lg P, однако для элюентов любого состава коэффициенты $d\mathrm{RI}/dC$ коррелируют с гомологическими инкрементами факторов гидрофобности, $i_{\mathrm{lg}P}$, и гомологическими инкрементами индексов удерживания, i_{RI}. Величины $i_{\mathrm{lg}P}$ и i_{RI} характеризуют полярность не конкретных сорбатов, а соответствующих им гомологических рядов.

Ключевые слова: Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография, состав элюентов, метанол, ацетонитрил, неполярные и полярные сорбаты, индексы удерживания, зависимость индексов от состава элюента

DOI: 10.31857/S0044453723050321, **EDN:** HMQSTF

Хроматографическая и хромато-спектральная идентификация органических соединений преимущественно основана на использовании параметров, обладающих межлабораторной воспроизводимостью. Именно для этих целей была введена концепция индексов удерживания (RI), поскольку абсолютные параметры удерживания требуемой воспроизводимостью не обладают. Во всех известных системах RI времена удерживания целевых сорбатов представляют в подвижной "системе координат", задаваемой временами удерживания реперных компонентов. В газовой хроматографии чаще всего это *н*-алканы C_nH_{2n+2}, а в обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) – *н*-алкилфенилкетоны $C_6H_5COC_nH_{2n+1}$ [1]. Реперным компонентам обычно присваивают значения RI = $= 100n_C$, где n_C – число атомов углерода в молекуле:

$$\mathrm{RI}_x = \mathrm{RI}_n + (\mathrm{RI}_{n+k} - \mathrm{RI}_n) \times \\ \times [f(t_{\mathrm{R},x}) - f(t_{\mathrm{R},n})] / [f(t_{\mathrm{R},n+k}) - f(t_{\mathrm{R},n})], \quad (1)$$

где t_R, $t_{R,n}$ и $t_{R,n+k}$ – времена удерживания целевого сорбата (индекс x) и ближайших к нему по параметрам удерживания реперных компонентов с индексами удерживания RI_n и RI_{n+k}. Функция $f(t_R)$ определена режимом разделения: $f(t_R) = \lg(t_R - t_0)$ (изотермический или изократический, t_0 – время удерживания несорбируемого компонента), $f(t_R) = t_R$ (программирование температуры или градиентное элюирование), $f(t_R) = t_R + q\lg(t_R)$ (q = var) – любой режим (так называемые линейно-логарифмические индексы удерживания).

Концепция RI наиболее “популярна” в газовой хроматографии несмотря на существование нескольких причин, снижающих межлабораторную воспроизводимость таких параметров (иначе – некоторая зависимость RI от условий разделения). В газовой хроматографии это температурная зависимость индексов, $d\mathrm{RI}/dT$, которую часто полагают линейной, ограничиваясь первым членом разложения функции $\mathrm{RI}(T)$ в ряд Тейлора (T_0 – условно стандартное значение температуры):

$$\mathrm{RI}(T) = \mathrm{RI}(T_0) + d\mathrm{RI}/dT(T - T_0). \quad (2)$$

Из других факторов можно отметить зависимость RI от относительных количеств целевых и реперных компонентов [2, 3], а также (для наиболее полярных соединений) – от проявления эффектов сорбции в хроматографических системах. Известны попытки аппроксимации зависимостей $\mathrm{RI}(T)$ более сложными нелинейными функциями [4], но они не получили распространения. Для большинства органических соединений коэффициенты температурной зависимости газохроматографических индексов удерживания $\beta = d\mathrm{RI}/dT$ удовлетворяют неравенству $\beta > 0$ и возрастают при увеличении числа циклов, их размеров и количества разветвлений углеродного скелета молекул [1, 4–6]. Иными словами, в величинах β проявляются различия топологической связности молекул целевых сорбатов и реперных *н*-алканов, которые не содержат циклов и не имеют разветвлений углеродного скелета.

В обращенно-фазовой (ОФ) ВЭЖХ концепцию RI применяют существенно реже из-за меньшего диапазона вариаций значений этих параметров, бóльшего числа влияющих на них экспериментальных условий [7–11] и преобладания задач контроля соединений, для которых доступны образцы сравнения. Тем не менее, и в этом методе индексы удерживания оказываются наиболее воспроизводимыми по сравнению с другими характеристиками удерживания [10]. Наибольшее влияние на значения RI оказывает состав элюента, прежде всего – соотношение его органической (C, об. %) и водной составляющих. Следовательно, эквивалентом коэффициентов β в газовой хроматографии оказываются коэффициенты, отражающие зависимость значений RI от содержания органического растворителя в составе элюента $d\mathrm{RI}/dC$, (C_0 – условно стандартное значение концентрации):

$$\mathrm{RI}(C) = \mathrm{RI}(C_0) + d\mathrm{RI}/dC(C - C_0). \quad (3)$$

Известны примеры определения значений RI при разных C для некоторых соединений, в основном, с целью контроля их “чувствительности” к вариациям экспериментальных условий [9]. Однако, в отличие от газовой хроматографии, факторы, влияющие на коэффициенты $d\mathrm{RI}/dC$, специально не рассматривали, что, скорее всего, обусловлено объективно меньшей информативностью индексов удерживания в ОФ ВЭЖХ. Тем не менее, при выявлении образования и детектирования гидратов органических соединений в ОФ ВЭЖХ с использованием рекуррентной аппроксимации параметров удерживания сорбатов [12] значения коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ оказались полезными и, следовательно, заслуживают обсуждения.

Настоящая работа посвящена обсуждению физико-химических характеристик и/или молекулярных параметров сорбатов в обращенно-фазовой ВЭЖХ, влияющих на значения коэффициентов зависимостей их индексов удерживания от концентраций органических растворителей (метанол и ацетонитрил) в составе элюентов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты, растворители. В работе использованы препараты следующих соединений: толуол, *п*-ксилол, хлорбензол и нитробензол (“х.ч.”, для хроматографии, Реахим, Москва), 2-метилбензальдегид, 4-метилбензальдегид, 4-метилацетофенон, 2-гидроксибензальдегид и 1-фенилпиразолидин-3-он (“х.ч.”, Реахим, Москва), бензотриазол (“для фотографии”, Реанал, Венгрия), ацетофенон, пропиофенон, бутирофенон (Sigma-Aldrich Rus LLC, Россия), 2,3,5-триметилфенол [Theodor Schuchardt, Мюнхен, Германия (из коллекции природных соединений С.А. Кожина, ЛГУ)], фталимид, нингидрин, (Merck, Германия), 3-нитрофенол (индикатор, British Drug Houses, LTD, Великобритания) и диэтиламид *м*-толуиловой кислоты (бытовой репеллент ДЭТА, ТУ 2386-077-00205357-2007, г. Луга). Незамещенные гидразоны синтезированы взаимодействием соответствующих ароматических карбонильных соединений с избытком гидразин-гидрата (“х.ч.”, 99%, Ленреактив). N-Алкилзамещенные *п*-толуолсульфонамиды синтезированы Т.А. Корниловой (СПбГУ) из соответствующих аминов и *п*-толуолсульфохлорида; 4-метоксибензоилгидразид и 1,2-*бис*(4-метоксибензоил)гидразин синтезированы и охарактеризованы Е.В. Елисеенковым (СПбГУ); 4-нитро-N-(2-гидроксипропил)анилин, 2,4-динитро-N-(2-гидроксипропил)анилин и 4-нитро-2-хлор-N-(1-пирролидинил)бензол синтезированы и охарактеризованы В.А. Кузнецовым (СПбТИ). Препараты сульфометоксазола (компонент таблеток “Бисептол”) и сульфамеразина приобретены в аптечной сети. Растворы сорбатов готовили в 2-пропаноле (“х.ч.”, Криохром, Санкт-Петербург), после чего их дополнительно растворяли в подвижной фазе. Для приготовления элюентов для ВЭЖХ использовали метанол (“х.ч.”, Криохром, Санкт-Петербург), ацетонитрил (не менее 99.5%, HPLC-grade, PanReac, Испания) и деионизованную воду (удельное сопро-

тивление 18.2 МОм см) с добавкой 0.1% муравьиной кислоты (98% “для анализа”, PanReac, Испания).

Условия хроматографического анализа. 1) Определение времен удерживания выбранных соединений в различных изократических режимах с шагом 5 об. % при использовании метанола в составе элюента проводили на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence с диодно-матричным детектором и колонкой Phenomenex C18 длиной 250 мм, внутренним диаметром 4.6 мм, размер частиц сорбента 5 мкм. Расход элюента 1.0 мл/мин, температура колонки 30°C. Пробы дозировали с использованием автосамплера SIL-20A/AC, объем проб 20 мкл, число дозирований каждой из них – 2–3. Разброс времен удерживания сорбатов в диапазоне до 10 мин не превышал 0.01–0.02 мин. Для определения индексов удерживания во все образцы добавляли реперные *н*-алкилфенилкетоны $C_6H_5COC_nH_{2n+1}$ с $n = 1–3$.

2) Хроматографические эксперименты с использованием в составе элюента ацетонитрила в аналогичных изократических режимах выполнены на жидкостном хроматографе Agilent 1260 Infinity с диодно-матричным детектором при сканировании в диапазоне длин волн 220–340 нм; обработку хроматограмм проводили для длин волн 220 и 254 нм. Использовали колонку Agilent Poroshell 120 EC-C18, 50 × 3.0 мм (размер частиц сорбента 2.7 мкм). Расход элюента 0.5 мл/мин. Температура колонки 40°C, объем дозируемых проб 5 мкл. Для каждого образца в каждом из режимов выполнено по три параллельных определения; разброс времен удерживания не превышал 0.01–0.02 мин. Определение времен удерживания реперных *н*-алкилфенилкетонов проводили без их смешивания с другими сорбатами. Хроматограммы получали, обрабатывали и хранили в программе Mass Hunter (Agilent Technologies).

Обработка результатов. Для статистической обработки параметров удерживания использовали ПО Excel (Microsoft Office, 2010). Вычисление логарифмических индексов удерживания (изократический режим) проводили с использованием либо ПО Excel, либо калькуляторов. Необходимые для вычисления индексов времена удерживания несорбируемого компонента вычисляли по данным для трех гомологов реперных *н*-алкилфенилкетонов по формуле Петерсона и Хирша [13]:

$$t_0 = (t_{R,1}t_{R,3} - t_{R,2}^2)/(t_{R,1} + t_{R,3} - 2t_{R,2}). \quad (4)$$

Для построения графиков использовали ПО Origin (версии 4.1 и 8.1).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исходные посылки для характеристики зависимости индексов удерживания сорбатов от содержания органических растворителей в составе элюента. Характеристика зависимости параметров удерживания различных сорбатов от состава элюентов до настоящего времени представляет собой важнейший способ установления как закономерностей, так и аномалий их удерживания в ОФ ВЭЖХ [7, 9, 14–17]. Такие зависимости чаще всего рассматривали либо в явном виде $t_R = f(C)$, где C – концентрация органического компонента элюента, либо определяли термодинамические характеристики сорбции [14–17] на основании непосредственно измеряемых параметров удерживания. Однако недавно было показано, что такой прием, как рекуррентная аппроксимация параметров удерживания сорбатов при разных содержаниях органического компонента элюента не менее эффективен для выявления хроматографических аномалий. В частности, он позволяет подтвердить обратимое образование гидратов некоторых сорбатов в условиях их хроматографического разделения [12, 18, 19]:

$$t_R(C + \Delta C) = at_R(C) + b, \quad (5)$$

где ΔC – постоянный инкремент концентрации органического компонента элюента.

Для сорбатов, химическая природа которых неизменна в диапазонах вариаций состава элюентов, коэффициенты корреляции зависимостей (5) обычно превышают 0.999. Критерием образования гидратов являются отклонения зависимостей (5) от линейности в областях высокого содержания воды в элюенте. Было обнаружено, что в наибольшей степени подобные эффекты проявляются при использовании ацетонитрила, тогда как в случае метанола такие зависимости обычно линейны. Наиболее вероятная причина этого – образование метанолом гидратов, более стабильных (свободная энергия гидратации –5.1 ккал/моль), чем гидраты большинства других органических соединений [12]. Более детальная характеристика элюентов разного состава показала, что варьирование их органической составляющей проявляется как в различиях индексов удерживания (RI), так и, неожиданно, в существенных вариациях параметров зависимостей RI от содержания органических ей в элюенте, $d\mathrm{RI}/dC$.

Решение такой задачи основано на определении индексов удерживания органических соединений различной химической природы при разных содержаниях метанола и ацетонитрила в составе элюента и их последующую корреляцию с физико-химическими характеристиками и/или молекулярными параметрами сорбатов. Для выявления и исключения из рассмотрения сочета-

ний параметров, заведомо не коррелирующих друг с другом, некоторые из них были предварительно проверены для выборки данных меньшего объема [18].

Зависимость индексов удерживания различных соединений в обращенно-фазовой ВЭЖХ от состава элюентов. В табл. 1 приведены значения RI 32 различных органических соединений, отличающихся по гидрофобности (гидрофильности), определенные для систем "метанол–вода" (содержание метанола варьирует от 50 до 85 об. %), а в табл. 2 – аналогичные данные для 19 соединений при использовании ацетонитрила (от 35 до 70%). Все соединения в каждой из таблиц ранжированы по увеличению их молекулярных масс. Из реперных *н*-алкилфенилкетонов в каждой из таблиц представлен только один компонент – ацетофенон – индекс удерживания которого (800) по определению постоянен в любых режимах элюирования. Дополнительно в табл. 1 указано число так называемых активных атомов водорода в молекулах сорбатов, $N\{H\}$.

Поскольку детальное рассмотрение величин $d\mathrm{RI}/dC$ ранее не проводили, то выявление влияющих на них характеристик сорбатов представляется достаточно актуальной задачей. Все значения $d\mathrm{RI}/dC$ для системы "метанол–вода" приведены в табл. 3, а для системы "ацетонитрил–вода" – в табл. 4.

Сопоставление данных табл. 1 позволяет выявить как диапазон вариаций значений коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ для водно-метанольных элюентов (от –5.6 до +4.6), так и дифференцировать соединения, для которых значения RI существенно варьируют при разном содержании метанола в составе элюента. Так, из 32 сорбатов симбатными вариациями $d\mathrm{RI}/dC > 0$ характеризуются шесть, для 10 такие зависимости антибатны, $d\mathrm{RI}/dC < 0$, тогда как для 14 остальных влияние содержания органического модификатора элюента на значения индексов незначительно, т.е. $d\mathrm{RI}/dC \approx 0$. Для некоторых соединений (значения RI для них в табл. 1 выделены курсивом) зависимости $\mathrm{RI}(C)$ отчетливо нелинейны или демонстрируют иные аномалии ("скачкообразные" вариации). Подобные аномалии наблюдали и ранее [9], но специального выяснения их причин не проводили. При использовании ацетонитрила (табл. 2) диапазон вариаций коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ (от –4.5 до +0.8) приблизительно вдвое меньше, чем для водно-метанольных элюентов и, кроме того, распределение коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ по их знакам иное: только для двух из 19 сорбатов они положительны, для трех – приблизительно постоянны, а для большинства (14) – отрицательны.

Многообразие факторов, влияющих на удерживание сорбатов в ОФ ВЭЖХ, закономерно проявляется, как правило, в невысоких значениях коэффициентов корреляции хроматографических параметров с их физико-химическими характеристиками и/или молекулярными параметрами. Чтобы по этой причине ошибочно не исключить из рассмотрения информативные комбинации переменных, желательно предварительно оценить приемлемый уровень значений коэффициентов корреляции (R) линейных регрессий. Для этого целесообразно воспользоваться примером корреляции параметров удерживания со значениями факторов гидрофобности – логарифмами коэффициентов распределения сорбатов в системе 1-октанол–вода ($\lg P$). Такую зависимость часто используют для оценки времен или индексов удерживания [20–24], несмотря на то, что значения R составляют 0.8–0.9, а генеральной дисперсии S_0 (средняя точность получаемых оценок RI) – 50–70 единиц индекса [25]. На рис. 1а приведен график зависимости $\mathrm{RI} - (\lg P)$ для системы метанол–вода, а на рис. 1б – для системы ацетонитрил–вода. Так как значения RI зависят от содержания органического компонента элюента, то для определенности из них выбраны величины RI, соответствующие элюентам, содержащим 70% CH_3OH и 50% CH_3CN.

Как и следовало ожидать для выборки, объединяющей соединения различной химической природы, в первом случае значение R составляет всего 0.84, а во втором – 0.90 при величинах S_0 86 и 60 соответственно, что сопоставимо с оценками, полученными в работе [18]. Следовательно, эти корреляции, сравнимые по значениям R и S_0 с выбранной в качестве "стандарта" зависимостью $\mathrm{RI} - (\lg P)$, следует отнести к значимым. Можно заметить, что для водно-ацетонитрильных элюентов корреляция несколько лучше. Если же корреляция хуже, чем в случае $\mathrm{RI} - (\lg P)$, то ее можно исключить из рассмотрения. Именно так следует поступить с сочетаниями параметров $d\mathrm{RI}/dC - \mathrm{RI}$ и $d\mathrm{RI}/dC - (\lg P)$, нецелесообразность выбора которых была продемонстрирована еще в предварительном сообщении [18].

Корреляция значений $d\mathrm{RI}/dC$ с гомологическими инкрементами факторов гидрофобности. Значения $\lg P$ рассматривают не только как фактор гидрофобности химических соединений (липофильность), но и как одну из характеристик их полярности [26, 27]. Полярность относится к достаточно сложным и неоднозначным понятиям; особенно показателен в этом отношении обзор [26], в котором упомянуты более сотни разнообразных критериев. Например, в гомологических рядах нормальных линейных гомологов значения $\lg P$ на каждую гомологическую разность (метиленовую группу CH_2) возрастают приблизительно на 0.54 ± 0.07 [13]. Так, в ряду 1-алканолов они составляют 1.35 (1-пентанол), 2.03 (1-гексанол), 2.62 (1-гептанол), 3.13 (1-октанол) и т.д., а в ряду

Таблица 1. Индексы удерживания (RI) некоторых органических соединений в зависимости от содержания метанола в составе элюента

Сорбат	*M*	*N*{H}	Содержание метанола в элюенте, об. %							
			50	55	60	65	70	75	80	85
Толуол	92	0	1052	1071	1088	1107	1127	1146	1176	–
о-Ксилол	106	0	1150	1166	1186	1202	1230	1254	1292	–
Хлорбензол	112	0	1046	1057	1067	1078	1090	1105	1127	1144
Бензотриазол	119	1	688	686	684	684	684	680	681	–
Ацетофенон	120	0	800	800	800	800	800	800	800	800
2-Метилбензальдегид	120	0	860	–	860	–	860	–	861	–
4-Метилбензальдегид	120	0	870	–	874	–	879	–	884	–
2-Гидроксибензальдегид	122	1	795	–	804	–	811	–	819	–
Нитробензол	123	0	847	849	854	856	860	857	852	–
Гидразон ацетофенона	134	2	–	738	737	738	734	737	736	734
Гидразон 2-метилбензальдегида	134	2	–	728	724	721	717	716	712	710
Гидразон 4-метилбензальдегида	134	2	–	719	720	720	721	724	724	722
2,3,5-Триметилфенол	136	1	852	854	858	862	862	864	860	–
Гидразон 2-гидроксибензальдегида	136	3		722	719	715	713	711	708	702
3-Нитрофенол	139	1	799	796	793	791	784	776	768	–
Фталимид	147	1	693	692	691	689	690	686	686	–
Гидразон 4-метилацетофенона	148	2	–	784	799	803	830	–	–	–
Гидразон пропиофенона	148	2	–	795	808	819	830	820	840	–
Гидразон бутирофенона	162	2	–	875	885	894	901	890	905	939
1-Фенилпиразолидин-3-он*	162	1	730	714	692	670	*732*	*729*	*715*	–
Диэтил-*м*-толуамид	191	0	948	935	927	920	910	896	884	–
N-Аллил-*п*-толуолсульфонамид	211	1	852	838	823	808	792	772	756	732
4-Нитро-2-хлор-N-(1-пирролидинил)бензол*	226	0	1166	1169	1169	1174	*1240*	*1256*	*1271*	–
N,N-Диэтил-*п*-толуолсульфонамид	227	0	978	964	950	936	920	903	885	862
N-*трет*-Бутил-*п*-толуолсульфонамид	227	1	968	952	935	918	898	876	852	824
N-Фенил-*п*-толуолсульфонамид	247	1	963	942	918	895	869	842	813	782
N-Гексил-*п*-толуолсульфонамид	255	1	1225	1205	1185	1165	1140	1110	1075	1029
N-Бензил-*п*-толуолсульфонамид	261	1	1014	993	972	948	921	894	860	828
Соединения, закономерности удерживания которых отличаются от закономерностей для остальных сорбатов										
4-Метоксибензоилгидразид	166	3	–	–	–	1306	1309	1312	1312	–
Нингидрин (гидрат)	178	2	662	664	664	666	668	664	663	–
4-Нитро-N-(2-гидроксипропил)анилин**	196	2	768	760	746	740	726	716	700	–
2,4-Динитро-N-(2-гидроксипропиланилин)**	228	2	810	800	780	760	*811*	*804*	*786*	–
Сульфаметоксазол (гидрат)***	253	3	611	608	–	–	–	–	–	–
1,2-*бис*(4-Метоксибензоил)гидразин****	300	2	–	–	–	1364	1364	1364	1361	–

* Соединения с аномалиями зависимостей RI(*C*) (области аномальных значений RI(*C*) выделены курсивом).

** Для полярных нитроанилинов типично образование гидратов в водных растворах.

*** Индексы удерживания сульфометоксазола при содержании метанола в элюенте 40 и 45% равны 614 и 613 соответственно.

**** Наиболее вероятная структура главной примеси в образце 4-метоксибензоилгидразида.

Таблица 2. Индексы удерживания (RI) некоторых органических соединений в зависимости от содержания ацетонитрила в составе элюента

Сорбат	*M*	Содержание ацетонитрила в элюенте, об. %							
		35	40	45	50	55	60	65	70
Толуол	92	1028	1022	1024	1036	1036	1030	1048	–
о-Ксилол	106	–	–	1119	1126	1122	1124	1151	–
Хлорбензол	112	–	1035	1024	1036	1040	1036	1055	–
Бензотриазол	119	694	668	652	654	644	630	654	–
Ацетофенон	120	800	800	800	800	800	800	800	–
Нитробензол	123	863	864	858	865	860	845	851	–
2,3,5-Триметилфенол	136	935	925	914	916	905	888	893	–
3-Нитрофенол	139	777	769	755	755	745	724		–
Фталимид	147	711	692	679	685	676	666	686	–
1-Фенилпиразолидин-3-он	162	697	671	654	654	642	–	–	–
Диэтил-*м*-толуамид	191	874	865	850	854	846	831	843	–
N-Аллил-*п*-толуолсульфонамид	211	879	870	861	848	837	827	814	816
N,N-Диэтил-*п*-толуолсульфонамид	227	–	1030	1021	1012	1006	997	987	974
N-*трет*-Бутил-*п*-толуолсульфонамид	227	972	962	951	939	930	921	914	903
N-Фенил-*п*-толуолсульфонамид	247	1010	1005	970	948	928	904	883	–
Сульфаметоксазол	253	717	714	698	699	689	–	–	–
N-Гексил-*п*-толуолсульфонамид	255	–	–	1208	1184	1174	1157	1139	1129
N-Бензил-*п*-толуолсульфонамид	261	–	1025	1006	984	967	950	928	–
Сульфамеразин	264	694	668	652	651	638	621	644	–

монозамещенных *н*-алкилбензолов – 2.13 (бензол), 2.71 (толуол), 3.27 (этилбензол), 3.69 (пропилбензол) и т.д. Значение lg *P* для 1-октанола (3.13) формально превышает значение lg *P* для толуола (2.71), но отсюда не следует, что толуол полярнее 1-октанола. Для исключения подобных парадоксов более информативны величины, для которых их аддитивная зависимость от числа метиленовых фрагментов в молекулах (от положения конкретного гомолога в соответствующем ряду) не проявляется, например дипольные моменты. В случае же факторов гидрофобности це-

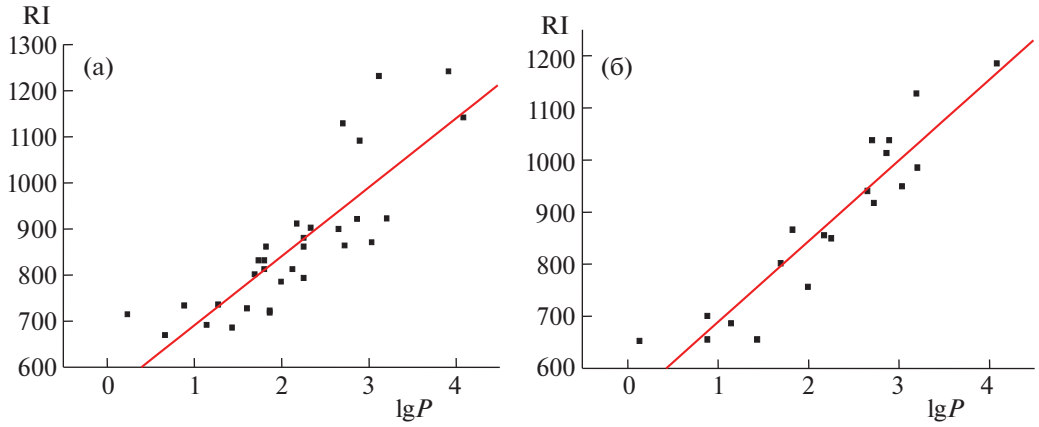


Рис. 1. Зависимости индексов удерживания различных соединений в обращенно-фазовой ВЭЖХ (элюент – 70% CH_3OH) от значений их факторов гидрофобности (lg *P*), рассматриваемой как типичный пример корреляции в ОФ ВЭЖХ. Параметры линейной регрессии: $a = 150 \pm 18$, $b = 541 \pm 42$, $R = 0.837$, $S_0 = 86$ (а). То же, элюент 50% CH_3CN. Параметры уравнения линейной регрессии: $a = 155 \pm 14$, $b = 534 \pm 34$, $R = 0.9036$, $S_0 = 60$ (б).

Таблица 3. Исходные данные для корреляции параметров зависимости индексов удерживания некоторых органических соединений от содержания метанола в элюенте ($d\mathrm{RI}/dC$) с их различными физико-химическими характеристиками

Сорбат	M	$N\{\mathrm{H}\}$	$d\mathrm{RI}/dC$	R	lg P*	i_{lgP}	i_{RI} для RI(70)
Толуол	92	0	4.0 ± 0.1	0.997	2.71	–0.53	527
о-Ксилол	106	0	4.6 ± 0.3**	0.990	3.12	–0.66	530
Хлорбензол	112	0	2.8 ± 0.2	0.990	2.90	–1.42	290
Бензотриазол	119	1	–0.24 ± 0.04	–0.93	1.44	–2.34	–116
Ацетофенон	120	0	0.0	1.0	1.70	–2.62	0
2-Метилбензальдегид	120	0	0.03 ± 0.02	0.77	2.26	–2.06	60
4-Метилбензальдегид	120	0	0.5 ± 0.0	0.998	2.26	–2.06	79
2-Гидроксибензальдегид	122	1	0.8 ± 0.0	0.998	1.81	–2.51	11
Нитробензол	123	0	0.3 ± 0.2	0.62**	1.83	–2.49	60
Гидразон ацетофенона	134	2	–0.11 ± 0.05	–0.68	1.28 ± 0.51	–3.58	–166
Гидразон 2-метилбензальдегида	134	2	–0.6 ± 0.0	–0.993	1.87 ± 0.50	–2.99	–183
Гидразон 4-метилбензальдегида	134	2	0.15 ± 0.05	0.81	1.87 ± 0.50	–2.99	–174
2,3,5-Триметилфенол	136	1	0.3 ± 0.1	0.83	2.73	–2.13	–34
Гидразон 2-гидроксибензальдегида	136	3	–0.6 ± 0.0	–0.98	0.24	–4.62	–287
3-Нитрофенол	139	1	–1.0 ± 0.1	–0.96	2.00	–2.86	–116
Фталимид	147	1	–0.24 ± 0.04	–0.95	1.15	–4.25	–310
Гидразон 4-метилацетофенона	148	2	1.9 ± 0.6	0.86	1.74 ± 0.51	–3.66	–170
Гидразон пропиофенона	148	2	1.6 ± 0.3	0.92	1.81 ± 0.51	–3.59	–170
Гидразон бутирофенона	162	2	1.6 ± 0.4	0.86	2.34 ± 0.51	–3.60	–199
1-Фенилпиразолидин-3-он	162	1	–4.0 ± 0.2	–0.997	0.89	–5.05	–368
*4-Метоксибензоилгидразид****	166	3	0.3 ± 0.3	0.944	0.25 ± 0.24	–5.69	204
*Нингидрин (гидрат)****	178	2	0.05 ± 0.08	0.27**	0.67	–5.81	–532
Диэтил-*м*-толуамид	191	0	–2.0 ± 0.1	–0.995	2.18	–4.84	–390
4-Нитро-N-(2-гидроксипропил)анилин	196	2	–2.2 ± 0.1	–0.995	1.61 ± 0.50	–5.95	–732
N-Аллил-*п*-толуолсульфонамид	211	1	–3.4 ± 0.1	–0.997	2.26 ± 0.32	–5.84	–708
4-Нитро-2-хлор-N-(1-пирролидинил)бензол	226	0	0.5 ± 0.1	0.93	3.92 ± 0.35	–4.72	–360
N,N-Диэтил-*п*-толуолсульфонамид	227	0	–3.2 ± 0.1	–0.996	2.87 ± 0.28	–5.77	–680
N-*трет*-Бутил-*п*-толуолсульфонамид	227	1	–4.1 ± 0.2	–0.995	2.66 ± 0.32	–5.98	–702
2,4-Динитро-N-(2-гидроксипропиланилин)	228	2	–3.4 ± 0.3	–0.990	2.13 ± 0.53	–6.51	–789
N-Фенил-*п*-толуолсульфонамид	247	1	–5.2 ± 0.1	–0.998	3.04 ± 0.29	–6.14	–831
Сульфаметоксазол	253	3	–0.4 ± 0.1	–0.98	0.89	–8.83	–1189
N-Гексил-*п*-толуолсульфонамид	255	1	–5.6 ± 0.3	–0.991	4.09 ± 0.30	–5.64	–660
N-Бензил-*п*-толуолсульфонамид	261	1	–5.3 ± 0.2	–0.996	3.21 ± 0.32	–6.51	–879
1,2-*бис-(4-Метоксибензоил)гидразин*	300	2	–0.4 ± 0.3	–0.78	2.54 ± 0.59	–11.70	–736

* С оценками погрешностей указаны расчетные значения lg P (ACD).

** Низкие значения коэффициентов корреляции указывают на нелинейность зависимостей $d\mathrm{RI}/dC$.

*** Курсивом здесь и далее набраны названия соединений, содержащих 2–3 активных атома водорода в молекуле, что приводит к аномалиям зависимостей $d\mathrm{RI}/dC - i_{\mathrm{lg}P}$.

Таблица 4. Данные для корреляции параметров зависимости индексов удерживания некоторых органических соединений от содержания ацетонитрила в элюенте ($d\mathrm{RI}/dC$) с их различными физико-химическими характеристиками

Сорбат	M	$N\{\mathrm{H}\}$	$d\mathrm{RI}/dC$	$\lg P$*	$i_{\lg P}$	i_{RI} для RI(50)
Толуол	92	0	0.6 ± 0.2	2.71	−0.53	436
о-Ксилол	106	0	0.2 ± 0.3	3.12	−0.66	426
Хлорбензол	112	0	0.8 ± 0.4	2.90	−1.42	236
Бензотриазол	119	1	−2.2 ± 0.4	1.44	−2.34	−146
Ацетофенон	120	0	0.0	1.70	−2.62	0
Нитробензол	123	0	0.5 ± 0.2	1.83	−2.49	65
2,3,5-Триметилфенол	136	1	−1.5 ± 0.2	2.73	−2.13	16
3-Нитрофенол	139	1	−1.9 ± 0.3	2.00	−2.86	−145
Фталимид	147	1	−1.5 ± 0.3	1.15	−4.25	−215
1-Фенилпиразолидин-3-он	162	1	−2.5 ± 0.5	0.89	−5.75	−446
Диэтил-*м*-толуамид	191	0	−1.2 ± 0.3	2.18	−4.84	−546
N-Аллил-*п*-толуолсульфонамид	211	1	−2.0 ± 0.1	2.26 ± 0.32	−5.84	−652
N,N-Диэтил-*п*-толуолсульфонамид	227	0	−1.8 ± 0.1	2.87 ± 0.28	−4.72	−588
N-*трет*-Бутил-*п*-толуолсульфонамид	227	1	−2.0 ± 0.1	2.66 ± 0.32	−5.77	−661
N-Фенил-*п*-толуолсульфонамид	247	1	−4.5 ± 0.2	3.04 ± 0.29	−5.98	−752
Сульфаметоксазол	253	3	−1.4 ± 0.3	0.89	−8.86	−1101
N-Гексил-*п*-толуолсульфонамид	255	1	−3.1 ± 0.2	4.09 ± 0.30	−5.63	−606
N-Бензил-*п*-толуолсульфонамид	261	1	−3.8 ± 0.1	3.21 ± 0.32	−6.51	−816
Сульфамеразин	264	3	−3.5 ± 0.3	0.14	−9.58	−1149

* С оценками погрешностей указаны расчетные значения $\lg P$ (ACD).

лесообразно искусственно устранить такую зависимость, перейдя от собственно значений $\lg P$ к их гомологическим инкрементам, $i_{\lg P}$.

Гомологические инкременты аддитивных свойств (A) первоначально были предложены для представления хроматографических данных при их совместной интерпретации с масс-спектрами в хромато-масс-спектрометрии [28]:

$$i_A = A - x\Delta A(\mathrm{CH_2}), \qquad (6)$$

где x – целое частное от деления молекулярного массового числа M на 14 (массовое число гомологической разности), $x = \mathrm{int}(M/14)$, $\Delta A(\mathrm{CH_2})$ – инкремент свойства A для гомологической разности $\mathrm{CH_2}$.

Преобразование значений различных свойств A в их гомологические инкременты позволяет характеризовать уже не отдельные гомологи, а ряды в целом. Это достигается именно вычитанием из значений A аддитивных составляющих этих свойств для совокупности x гомологических разностей $\mathrm{CH_2}$. Применительно к факторам гидрофобности $\lg P$ выражение (6) может быть записано следующим образом:

$$i_{\lg P} = \lg P - x\Delta \lg P(\mathrm{CH_2}). \qquad (7)$$

Единственную сложность применения такого соотношения представляет необходимость предварительной оценки инкремента фактора гидрофобности гомологической разности, $\Delta\lg P(\mathrm{CH_2})$. При этом желательно использовать не расчетные величины (полученные, например, с использованием модуля $\lg P$ ПО ACD), а оценить такой инкремент на основании экспериментальных данных по разностям значений $\lg P$ соседних гомологов одних и тех же рядов, $\Delta \lg P = \lg P(n+1) - \lg P(n)$. В нашем случае были усреднены доступные значения $\lg P$ алкиларенов (12 последовательных гомологов), 2-алканонов (7) и алкилфенилкетонов (5), что дает $\Delta \lg P = 0.54 \pm 0.07$ [18]. С учетом этого результата для перечисленных выше 1-алканолов получаем [соотношение (7)] значения $i_{\lg P}$ −1.89, −1.75, −2.20 и −1.73, усреднение которых приводит к характеристике ряда (−1.89 ± ± 0.21), а для монозамещенных *н*-алкилбензолов – −0.57, −0.53, −0.51 и −0.63 (среднее значение – 0.56 ± 0.05). Отсюда следует, что на уровне гомологических инкрементов индексов удерживания ряд 1-алканолов закономерно полярнее моноалкилбензолов. Для характеризуемых соединений величины $i_{\lg P}$ приведены в табл. 3 и 4, а графики

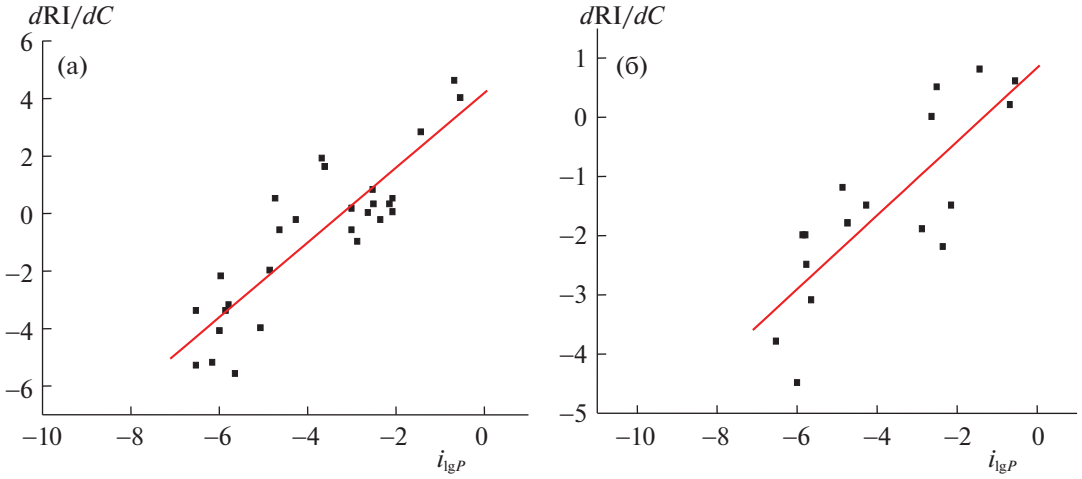
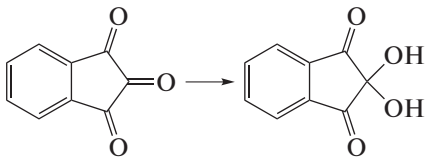


Рис. 2. Зависимости коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ рассматриваемых сорбатов (табл. 1, 3, водно-метанольные элюенты) от значений гомологических инкрементов факторов гидрофобности, $i_{\mathrm{lg}P}$. Параметры уравнения линейной регрессии: $a = 1.30 \pm 0.1\,4$, $b = 4.2 \pm 0.6$, $R = 0.866$, $S_0 = 1.4$ (а). То же для водно-ацетонитрильных элюентов. Параметры уравнения линейной регрессии $a = 0.62 \pm 0.124$, $b = 0.8 \pm 0.5$, $R = 0.814$, $S_0 = 0.9$ (б).

зависимостей коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ этих сорбатов от величин $i_{\mathrm{log}P}$ представлены на рис. 2. Параметры уравнений линейной регрессии указаны в подписи к рисунку.

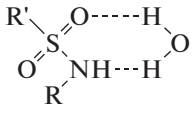
Как отмечено выше, коэффициенты $d\mathrm{RI}/dC$ не коррелируют с абсолютными значениями $\log P$. Однако, как следует из приведенных рисунков, такие корреляции значимы для комбинаций $d\mathrm{RI}/dC$ с гомологическими инкрементами факторов гидрофобности. При этом коэффициент корреляции (R) зависимости $d\mathrm{RI}/dC - (i_{\mathrm{log}P})$ для водно-метанольных элюентов (0.866) больше, чем для водно-ацетонитрильных элюентов (0.814). Поскольку оба значения R больше нуля, это означает положительную связь переменных. Иными словами, увеличение гомологических инкрементов факторов гидрофобности приводит к увеличению коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$.

Расширение круга охарактеризованных сорбатов по сравнению с предварительными оценками [14] позволяет с бóльшей определенностью выявить те из них, закономерности удерживания которых хуже всего согласуются с закономерностями удерживания остальных сорбатов (четыре соединения в последней части табл. 1). Значения $i_{\mathrm{log}P}$ для них явно не подчиняются выявленной корреляции, так что соответствующие им точки исключены при построении графика на рис. 2а. В молекулах всех таких соединений присутствуют 2–3 активных атома водорода, однако, видимо, не только этот фактор оказывается главной причиной аномалий. Дело в том, что перечисленные соединения образуют гидраты, которые могут быть стабильными даже в содержащих метанол элюентах. Так, нингидрин (CAS № 938-24-9) образует исключительно устойчивый моногидрат (CAS №№ 485-47-2 и 2462-59-1) с $\mathrm{p}K_a$ 8.47 (т.е. это более сильная кислота, чем фенол):



Значения $\log P$ гидратов нингидрина и других подобных соединений должны заметно отличаться от величин, соответствующих негидратированным структурам, что приводит к отклонениям точек $d\mathrm{RI}/dC - (i_{\mathrm{log}P})$ от линий регрессии, типичных для сорбатов, не образующих гидраты.

Образование достаточно стабильных гидратов присуще большинству сульфонамидов, содержащих группу R-SO_2-NHR' [19] (в нашем случае это лекарственный препарат сульфометоксазол). Причиной стабильности таких гидратов можно полагать координацию молекул воды с атомами кислорода и азота структурного фрагмента –NH–S=O, который содержит два π-(двойная связь S=O) и четыре p-электрона (электронные пары, локализованные на атомах кислорода и азота) в шестичленном цикле. В соответствии с правилом Хюккеля это соответствует относительно устойчивой ароматической системе:



По литературным данным стабильные гидраты образуют многие производные нитро- и динитроанилинов и бензогидразидов [29] с этим, возможно, связано аномальное поведение двух

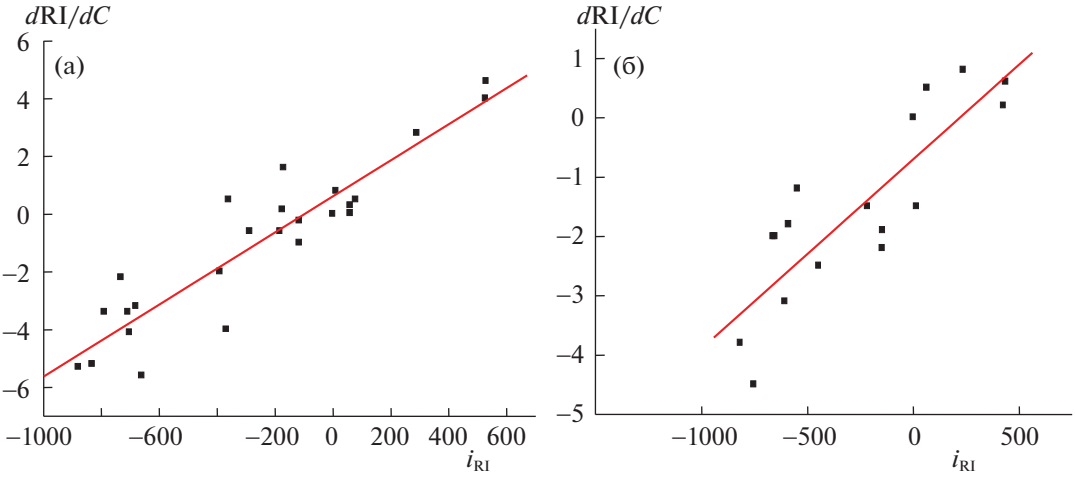


Рис. 3. Зависимости коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ рассматриваемых сорбатов (табл. 2, 4, водно-метанольные элюенты) от значений гомологических инкрементов индексов удерживания, i_{RI} (70% CH_3OH). Параметры уравнения линейной регрессии: $a = (6.3 \pm 0.5) \times 10^{-3}$, $b = 0.6 \pm 0.3$, $R = 0.922$, $S_0 = 1.1$(а). То же для водно-ацетонитрильных элюентов (50% CH_3CN). Параметры уравнения линейной регрессии $a = (3.2 \pm 0.5) \times 10^{-3}$, $b = -0.7 \pm 0.2$, $R = 0.849$, $S_0 = 0.8$ (б).

нитрозамещенных N-(2-гидроксипропиланилинов) (табл. 1, 2) и двух гидразидов бензойной кислоты.

Корреляция значений $d\mathrm{RI}/dC$ с гомологическими инкрементами индексов удерживания. Еще одним фактором, с которым могут коррелировать коэффициенты $d\mathrm{RI}/dC$, оказываются гомологические инкременты индексов удерживания. Они также представляют собой модификацию общего соотношения (6) следующего вида [30]:

$$i_{\mathrm{RI}} = \mathrm{RI} - x\Delta\mathrm{RI}(\mathrm{CH_2}). \quad (8)$$

Поскольку для хроматографических индексов удерживания реперных компонентов по определению $\Delta\mathrm{RI}(\mathrm{CH_2}) \equiv 100$, а для гомологов других рядов можно принять $\Delta\mathrm{RI}(\mathrm{CH_2}) \approx 100$, то соотношение (5) упрощается:

$$i_{\mathrm{RI}} \approx \mathrm{RI} - 100x. \quad (9)$$

Возможно, что в ОФ ВЭЖХ целесообразно учитывать условие $\Delta\mathrm{RI}(\mathrm{CH_2}) \neq 100$ (по аналогии с оценкой величины $\Delta \lg P = 0.54 \pm 0.07$, см. выше), но этот момент требует более подробного рассмотрения. Первоначально гомологические инкременты индексов удерживания были предложены только для целей идентификации [28], однако позже было показано, что их можно рассматривать как одну из характеристик полярности органических соединений. Значения i_{RI} всех рассмотренных сорбатов приведены в табл. 3 и 4. Графики зависимость (10) для различных элюентов представлены на рис. 3, а параметры уравнений линейной регрессии указаны в подписи к рисунку.

$$d\mathrm{RI}/dC = ai_{\mathrm{RI}} + b. \quad (10)$$

Так же как и для зависимости $d\mathrm{RI}/dC - (i_{\mathrm{lgP}})$, коэффициент корреляции зависимости $d\mathrm{RI}/dC - (i_{\mathrm{RI}})$ в случае водно-метанольных элюентов выше (0.922), чем для водно-ацетонитрильных (0.849), однако оба этих значения сопоставимы с величиной R для условно “стандартной” корреляции $\mathrm{RI} - (\lg P)$ (0.837 и 0.904).

Таким образом, в результате характеристики зависимости индексов удерживания органических соединений разной химической природы от содержания органических растворителей (метанол, ацетонитрил) в составе элюента, $d\mathrm{RI}/dC$, установлено:

– Значения коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ одних и тех же соединений при использовании разных органических компонентов элюента заметно различаются. Например, для элюентов, содержащих 50% CH_3OH и 50% CH_3CN, такие коэффициенты для толуола равны 4.0 и 0.6, для 2,3,5-триметилфенола – +0.3 и –1.5, а для фталимида – –0.24 и –1.5 соответственно. При столь сильно выраженной зависимости $\mathrm{RI} - C$ сопоставление самих значений индексов удерживания некорректно, так как они могут быть близкими при одном составе элюента, но сильно различаться при другом. Эту особенность иллюстрируют все данные табл. 1 и 2; здесь же упомянем только один пример. Индексы удерживания фталимида для элюентов с 50% CH_3OH и 50% CH_3CN равны 693 и 711, а при увеличении концентрации органических компонентов до 65% – практически совпадают (686 и 689). Диапазон вариаций значений коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ для водно-метанольных элюентов (от –5.6 до +4.6) приблизительно вдвое больше, для водно-ацетонитрильных (от –4.5 до +0.8).

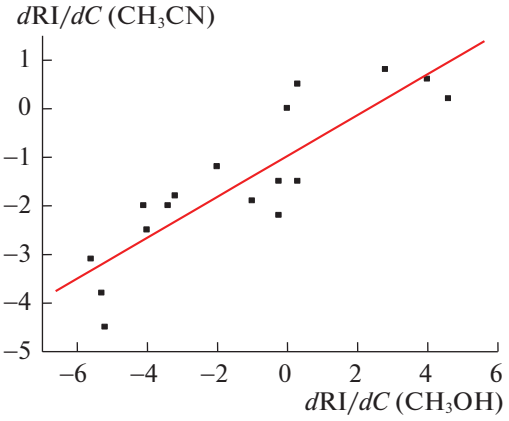


Рис. 4. График, иллюстрирующий взаимную корреляцию коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ одних и тех же сорбатов для водно-ацетонитрильных и водно-метанольных элюентов. Параметры уравнения линейной регрессии: $a = 0.42 \pm 0.06$, $b = -1.0 \pm 0.2$, $R = 0.868$, $S_0 = 0.8$.

– Поскольку значения коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ одних и тех же сорбатов для элюентов разного состава статистически значимо отличаются, то целесообразно рассмотреть их взаимосвязь. На рис. 4 представлен график, иллюстрирующий корреляцию коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ одних и тех же сорбатов для водно-ацетонитрильных и водно-метанольных элюентов. Параметры уравнения линейной регрессии приведены в подписи к рисунку; коэффициент корреляции равен $R = 0.868$, что вполне приемлемо при сравнении со "стандартной" корреляцией (рис. 1). Кроме того, из этого графика следует, что для неполярных соединений значения $d\mathrm{RI}/dC$ при использовании водно-ацетонитрильных элюентов, как правило, меньше, чем для водно-метанольных, а для полярных – наоборот.

– Корреляция коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ как с самими значениями RI, так и со значениями факторов гидрофобности, $\lg P$ отсутствует. Однако, при использовании, как метанола, так и ацетонитрила коэффициенты $d\mathrm{RI}/dC$ коррелируют с гомологическими инкрементами факторов гидрофобности, $i_{\lg P}$, и индексов удерживания сорбатов, i_{RI}. Обе эти величины характеризуют полярность и гидрофобно-гидрофильные свойства не конкретных сорбатов, а относятся к соответствующим гомологическим рядам.

– На полуколичественном уровне можно принять, что знаки и абсолютные величины коэффициентов $d\mathrm{RI}/dC$ в наибольшей степени определяются полярностью органических соединений: для относительно неполярных сорбатов типичны значения $d\mathrm{RI}/dC > 0$, тогда как для более полярных – $d\mathrm{RI}/dC < 0$. Следовательно, даже определение знака этого коэффициента может обеспечить важную информацию о химической природе сорбатов.

Экспериментальные данные настоящей работы получены в Ресурсном центре "Методы анализа состава вещества" Научного парка Санкт-Петербургского государственного университета. Авторы благодарят сотрудников Центра за содействие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kovats' Retention Index System. In Encyclopedia of Chromatography. Ed. J. Cazes. 3rd Edn. Boca Raton, CRC Press (Taylor & Francis Group). 2010. P. 1304.
2. *Зенкевич И.Г., Ивлева Е.С.* // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 1. С. 47. https://doi.org/10.1134/S1061934811010175
3. *Zenkevich I.G., Ukolova E.S.* // J. Chromatogr. A. 2012. V. 1265. P. 133. doi: . chroma.2012.09.076. https://doi.org/10.1016/j
4. *Головня Р.В., Арсеньев Ю.Н.* // Успехи химии. 1973. Т. 42. № 12. С. 2221.
5. *Mitra G.D., Saha N.C.* // Chromatographia. 1973. V. 6. P. 93.
6. *Bangjie C., Shaoyi P.* // Ibid. 1988. V. 25. P. 731.
7. *Smith R.M.* // J. Chromatogr. A. 1982. V. 236. P. 313. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)84880-3
8. *Smith R.M., Finn N.* // Ibid. 1991. V. 537. P. 51. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)88885-3
9. *Smith R.M.* Retention and Selectivity in Liquid Chromatography / Ed. R.M. Smith. J. of Chromatography Library. 1995. V. 57. P. 93.
10. *Zenkevich I.G., Kochetova M.V., Larionov O.G. et al.* // J. Liquid Chromatogr. & Related Technol. 2005. V. 28. P. 2141. https://doi.org/10.1081/JLC-200064000
11. *Smith R.M.* Retention indices in reversed-phase HPLC. Advances in chromatography / Eds: J.C. Giddings, E. Grushka. Boca-Raton: CRC Press. 2021. P. 277–319. https://doi.org/10.1201/9781003209027.
12. *Zenkevich I.G., Derouiche A., Nikitina D.A.* // J. Liquid Chromatogr. Related Technol. 2021. V. 44. № 11. P. 588–598. https://doi.org/10.1080/10826076.2021.1998905
13. *Peterson M.L., Hirsch J.* // J. Lipid Res. 1959. V. 1. P. 132.
14. *Курбатова С.В., Сайфутдинов Б.Р.* // Журн. физ. химии. 2009. Т. 83. № 7. С. 1377. https://doi.org/10.1134/S0036024409070322
15. *Сайфутдинов Б.Р.* // Изв. РАН. Сер. хим. 2014. № 12. С. 2609. https://doi.org/10.1007/s11172-014-0787-0
16. *Сайфутдинов Б.Р.* // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2016. Т. 52. № 6. С. 586. https://doi.org/10.1134/S2070205116060162
17. *Сайфутдинов Б.Р., Буряк А.К.* // Коллоидн. журн. 2019. Т. 81. № 5. С. 605. https://doi.org/10.1134/S1061933X19050107
18. *Зенкевич И.Г., Деруиш А.* // Аналитика и контроль. 2022. Т. 26. № 1. С. 41. https://doi.org/10.15826/analitika.2022.26.1.004

19. *Зенкевич И.Г., Никитина Д.А., Корнилова Т.А.* // Журн. физ. химии. 2021. Т. 95. № 9. С. 1414. https://doi.org/10.1134/S0036024421090326

20. *Hanai T.* // J. Chromatogr. A. 1991. V. 550. P. 313. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)88547-2

21. *Lochmuller C.H., Hui M.* // J. Chromatogr. Sci. 1998. V. 36. P. 11.

22. *Hanai T., Koizumi K., Kinoshita T.* // J. Liquid Chromatogr. & Related Technol. 2000. V. 23. № 3. P. 363. https://doi.org/10.1081/JLC-100101457

23. *Henchoz Y., Guillarme D., Martel S. et al.*// Anal. Bioanal. Chem. 2009/ V. 394. P. 1919. https://doi.org/10.1007/s00216-009-2862-1

24. *Liang C., Qiao J.-Q., Lian H.-Z.* // J. Chromatogr. A. 2017. V. 1528. P. 25. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.10.064

25. *Зенкевич И.Г., Никитина Д.А., Кушакова А.С.* // Журн. аналит. химии. 2022. Т. 77. № 11. С. 1016. https://doi.org/10.31857/s0044450222090146

26. *Katritzky A.R., Fara D.C., Yang H.-E. et al.*// Chem. Rev. 2004. V. 104. P. 175. https://doi.org/10.1021/cr020750m

27. *Heberger K., Zenkevich I.G.* // J. Chromatogr. A. 2010. V. 1217. P. 2895. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.02.037

28. *Зенкевич И.Г., Иоффе Б.В.* Интерпретация масс-спектров органических соединений. Л.: Химия, 1986. 176 с.

29. *Atovmyan E.G., Aldoshin S.M., Atovmyan L.O.* // Molecular Cryst. Liquid Cryst. Nonlinear Optics. 1990. V. 178. P. 231. https://doi.org/10.1080/00268949008042721

30. *Зенкевич И.Г.* // Журн. общ. химии. 2019. Т. 89. № 3. С. 331–341. https://doi.org/10.1134/S1070363219030010