

CONTRIBUȚII LA OPTIMIZAREA SELECTIVITĂȚII METODEI CROMATOGRAFICE

Ana Casian, Igor Casian, Vladimir Valica
Institutul Național de Farmacie, Chișinău

Rezumat

În prezenta lucrare au fost examinați unii factori ce influențează asupra selectivității metodei HPLC. S-au examinat probleme practice de optimizare a realizării de aparat aplicate în analiza cromatografică: alegerea dimensiunilor geometrice ale coloanei și particulelor de sorbent, repartizarea optimă a modulelor utilajului cromatografic. Au fost studiate efectele precoloanelor la eficiența rezultantă a sistemului cromatografic. S-a propus o modalitate de excludere a picurilor-artefacte prin selectarea intervalului optim de injectare a probelor. În fine, au fost propuse unele recomandări practice referitor la toate problemele studiate de noi în această lucrare.

Cuvinte cheie: HPLC, optimizarea selectivității, optimizarea parametrilor coloanei, efecte extracoloane, efecte precoloane, excluderea artefactelor.

Summary

The series of the factors which have influence on the HPLC method selectivity have been explored in the given work. The practical problems on optimisation of apparatus realisation of chromatographic analysis are surveyed: a choice of geometrical dimensions of the column and sorbent granules, optimal placement of modules of chromatographic instrumentation. The influence of guard-columns parameters on the resulting efficacy of chromatographic system has been investigated. A method of artefacts exclusion by selection of optimum injection interval was offered. Finally, some practical recommendations on all investigated problems are offered in present word.

Key words: HPLC, selectivity optimisation, column parameters optimisation, extra-column effects, guard-column effects, artefacts exclusion.

De obicei, la elaborarea metodelor analitice noi, cea mai mare parte de timp și muncă cheltuite le cere optimizarea selectivității, elementul cel mai puțin sigur al întregului proces. De aceea, nu-i surprinzător faptul că sarcina dată este oglindită într-un număr enorm de publicații [1;

2, p.289-303; 4, p.8-12; 6 ș. a.] și doar în unele lucrări este examinată de pe o poziție sistematică. De regulă, cercetătorii practică o abordare empirică referitor la unele sarcini analitice concrete, cauza căreia și este studiul incomplet și complicat de evaluare concomitentă a multiplelor mecanisme în cromatografia de lichide.

Scopul lucrării constă în evidențierea unor factori principali ce influențează selectivitatea metodei și în baza lor – a se propune recomandări mai mult sau mai puțin sistematice în optimizarea ei.

Materiale și metode

Partea experimentală a fost efectuată pe cromatograful de lichide "Jasco", seria LC-1500 cu detectori UV-VIS și fluorescent. S-au utilizat coloane cu faza inversă C-18 (Uptisphere, Zorbax, Nucleosil, Hypersil) împachetate cu sorbenți cu particule de diferite dimensiuni (3; 5; 10 μm), cu diferite diametre interne (2,1; 3; 4; 4,6 mm) și lungimi ale coloanelor (75 și 150 mm). Precoloanele au fost umplute cu sorbenți identici coloanelor și cu sorbent pelicular Perisorb RP-18. Achiziția și prelucrarea datelor s-au efectuat prin metode standard și proprii elaborate de noi.

Rezultate obținute și discuții

1. Optimizarea realizării de aparat a analizei cromatografice

Deseori parametrii utilajului cromatografic exercită o influență decisivă asupra rezultatelor întregului proces de optimizare, însă posibilitatea cromatografiștilor de a schimba acești parametri, de regulă, este foarte limitată. De obicei volumul dat de lucru constă doar în selectarea dimensiunilor și materialului de umplere a coloanelor cromatografice. O astfel de abordare este oglindită pe larg în literatura de specialitate [2, p. 240-250; 3; 4, p.14], astfel că ne vom opri doar la sarcinile pe baza cărora ne-am format unele păreri proprii.

1.1. Alegerea diametrului coloanei cromatografice și particulelor de sorbent.

Teoretic, eficacitatea coloanei la umplerea uniformă cu material de împachetare n-ar trebui să depindă de diametru și, întrucât omogenitatea umplerii coloanelor înguste este mai ușor de asigurat, ele ar trebui să demonstreze rezultate mai bune. În practică, la aplicarea utilajului cromatografic standard surparea extracoloană devine factor hotărâtor, aportul relativ al căreia la valoarea eficienței sistemului cromatografic crește în întregime cu diminuarea dimensiunilor geometrice ale coloanei. Drept rezultat, cu trecerea la coloane cu diametru mai mic numărul de talere teoretice observate se micșorează progresiv. La aplicarea detectorilor ultraviolet și fluorimetric, cel mai "critic" nod în sistem îl prezintă, în special, celula cu flux continuu, pe când surparea introdusă se determină nu atât de volum, cât de forma ei. Acest lucru este mult mai perceptibil la utilizarea detectorului fluorimetric când forma paralelipipedului prestabilește volume "moarte" în celulă și se obțin picuri cu o formă acceptabilă doar la coloane cu diametru "clasic" (4-4,6 mm). Celula detectorului ultraviolet cu același volum de lucru (16-20 μ l) are o formă mai eficientă (cilindrică sau conică) și în acest caz se pot folosi coloane cu diametru 3 mm fără micșorarea considerabilă a randamentului, dar scăzând de 1,5-2,5 ori debitul fazei mobile. De aceea, noi recomandăm să se aplice în analiza farmacocinetică coloanele cu diametrul dat (3 mm) în calitate de "cai muncitori" pentru soluționarea sarcinilor majoritare. Aplicarea semimicrocuvei cu volum 8 μ l ne-a dat posibilitatea să separăm substanțele analizate pe coloanele cu diametru 2,1 mm. În cazul dat eficiența lor este mai joasă, dar suficientă pentru soluționarea unor sarcini necomplicate; în schimb, debitul fazei mobile se micșorează încă de două ori.

Pe când la ieșirea din coloană lățimea zonei de componenți crește cu majorarea timpului de retenție, aportul relativ al surpării extracoloane se diminuează în aceeași direcție. Am încercat să evaluăm cantitativ această relație pentru coloanele cu diferite diametre și diverse particule de sorbenți.

Din graficul prezentat în Fig. 1 se vede că numărul de talere teoretice sunt în funcție liniară de logaritmul factorului de capacitate necorectat

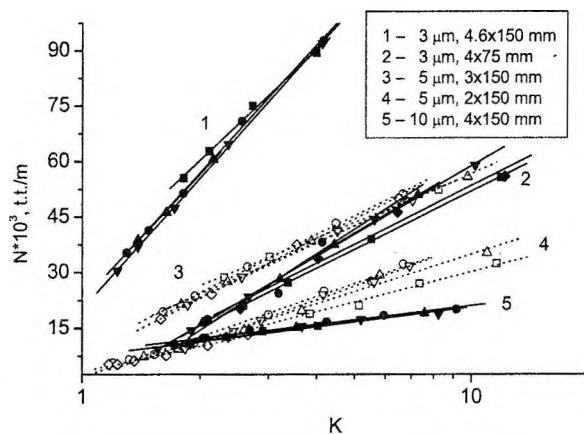


Fig. 1. Numărul de talere teoretice în funcție de factorul de capacitate pe diferite coloane pentru patru substanțe farmaceutice.

(în tocmai necorectat, deoarece forțele de difuzie acționează asupra sorbatului în tot timpul cât el se află în sistemul cromatografic, chiar și în caz când nu interacționează cu faza staționară). De fapt, pentru unele substanțe care chiar diferă puternic după parametrii de retenție, aceste funcții sunt apropiate, numai dacă substanțele date nu relevă o interacțiune puternică cu grupele silanice ale sorbentului. Faptul dat dă posibilitatea să se calculeze ușor timpul de retenție necesar pentru realizarea numărului de talere teoretice dorit.

Numărul de talere teoretice pentru valori egale ale factorului de capacitate crește odată cu mărirea diametrului și lungimea coloanei și cu micșorarea dimensiunilor particulelor de sorbent, ceea ce ușor de prezis sub aspect teoretic. Cel mai interesant lucru observat e că odată cu micșorarea diametrului particulelor crește nu numai valoarea absolută a eficienței, dar și dependența ei de factorul de capacitate (unghiul de înclinare a dreptelor pe grafic), ce dă sorbentului cu particule mici un avantaj profitabil în posibilitatea dirijării mai flexibile a selectivității, schimbând doar concentrația substituitului în compoziția fazei mobile. Efect analogic obținem alegând lungimea coloanei pentru sorbenți cu granulație mare, procedură cu mult mai costisitoare și imposibil de realizat întotdeauna.

Dacă analizăm eficacitatea coloanei în funcție de viteza liniară a eluentului (Fig.2), de asemenea se vede prioritatea sorbenților cu particule mici (3 μ m), pe când pentru sorbenții cu particule cu diametrul 5, cu atât mai mult 10 μ m, valorile optime ale vitezei sunt foarte mici și inacceptabile în practică.

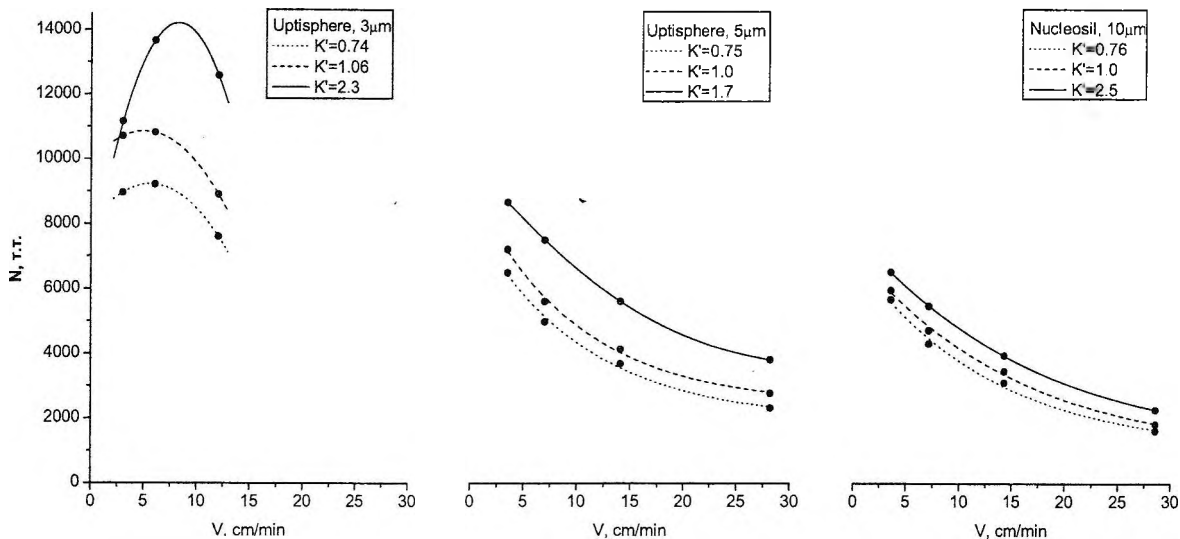


Fig. 2. Eficiența coloanelor cu lungimi egale (150 mm), dar cu diametrul particulelor de sorbenți diferit în funcție de viteza liniară a eluentului (acetonitril – tampon fosfat, pH-ul 2,3) la diverse valori ale factorului de capacitate. Compușii determinați – fenobarbital, fenacetină, carbamazepină.

1.2. Influența volumelor extracoloane la surparea picurilor. Optimizarea repartizării modulelor utilajului cromatografic.

În orice manual de cromatografie se menționează în mod special necesitatea minimizării volumelor extracoloane [2, p.252; 4, p.11; 5, p.8], totodată despre volumul dat se vorbește ca despre un tot întreg, fără a se lua în seamă că el constă din două părți: volumul precoloană (injector, filtru și capilare de alimentare) și volumul postcoloană (capilare de evacuare și celula detectorului). Din punct de vedere teoretic, n-are importanță cum va fi repartizat între ele volumul extracoloană to-

tal. Însă, practic faptul dat este just doar cu condiția că proba este dizolvată în faza mobilă sau în solvent cu capacitate de eluare echivalentă. La utilizarea solvenților cu capacitatea de eluare mai mică are loc contractarea zonei de componenți în stratul inițial al sorbentului, fapt ce compensează efectiv influența volumului precoloană, chiar destul de suficient, ce permite de asemenea injectarea volumelor mari de probă cu scopul de a majora sensibilitatea analizei. În ce privește volumul postcoloană, este imposibil de compensat aportul lui la surparea zonelor cromatografice. Din cele expuse deja se poate de tras o concluzie

Tabelul 1

Eficacitatea sistemului cromatografic (N) și factorul de capacitate (K) în funcție de valorile volumelor extracoloane la injectarea diferitor volume de soluții apoase ale unor substanțe medicamentoase

Substanța determinată	Conc. acetoni-trilului în F. M., %	Volumul probei, μ l	Volumul extracoloane adăugătoare					
			Fără volume adăugătoare		140 μ l până la coloană		140 μ l după coloană	
			K'	$N, T.T.$	K'	$N, T.T.$	K'	$N, T.T.$
Diazepam	55	5	2,05	2833	2,35	820	2,30	703
		20	2,11	2914	2,44	1778	2,35	727
		100	2,32	3424	2,70	3142	2,58	868
Cafeină	14	5	2,03	1728	2,36	630	2,30	639
		20	2,18	2068	2,43	1053	2,36	663
		100	2,35	2387	2,66	2484	2,59	756
Pirazinamidă	3	5	1,81	1505	2,04	382	2,37	760
		20	2,28	2305	2,52	967	2,61	858
		100	2,42	2301	2,72	1590	2,66	844

destul de importantă pentru aplicarea în practică: la repartizarea modulelor utilajului cromatografic în primul rând trebuie să se micșoreze distanța dintre ieșirea din coloană și detector.

Drept confirmare, prezentăm rezultatele studiului experimental al influenței diferitor părți de volume extracoloane la eficacitatea sistemului cromatografic în întregime (tabelul 1). Sistemul cromatografic a inclus o coloană Zorbax SB C-18 cu dimensiunile 2,1x150mm, injector cu buclă și detectorul UV cu semimicrocuvă (volumul 8 μ l), fiind conectate cu capilare de lungimi minime. Mărirea volumului extracoloană s-a realizat punând în circuit un capilar adăugător cu volumul de 140 μ l până sau după coloană.

Din tabel se vede că compensarea influenței volumului precoloană adăugătoare poate avea loc la injectarea volumelor mari de probă (de exemplu, 100 μ l) cu condiția unei suficiente diferențe a capacității de eluare a probei și fazei mobile.

În practică se poate recomanda injectarea volumelor comensurabile cu volumul precoloană presupus, pentru probă utilizând solvent cu con-

centrația acetonitrilului (sau unui alt modificator) cu 10-20% mai mic decât în faza mobilă. În caz că diferență este cu mult mai mare, apare pericol de delict al solubilității componentelor analitici în probă.

1.3. Efectele precoloanei. Recomandări la alegerea construcției și materialului de umplere.

În unele surse despre utilizarea cromatografiei lichide [2, p.245-250; 7; 8] se emite părerea, că precoloanele protejează coloanele de impurificarea ireversibilă cu componenți reținuți foarte puternic, dar nu se spune nimic despre rolul lor la separare. În altă sursă [5, p.37] se afirmă că ele prelungesc durata de viață a coloanei analitice și pot participa la procesul de separare, de aceea sunt împlute la fel de calitativ și cu același sorbent.

Practica arată, în primul rând, că eventualele cazuri când precoloana nu participă la separare sunt mai curând excepții. Astfel de exemplu oferă precoloanele împlute (de obicei manual) cu

Tabelul 2

Influența precoloanei la eficiența sistemului cromatografic

Nr. exp.	Coloana, faza mobilă	Precoloana	Componentul determinat	Parametrii picului		
				K'	N	As
1	Hypersil BDS C-18, 3 μ m, 4x75 mm; 25% acetonitril în tampon fosfat, 1,5 ml/min	lipsește	p-nitroanilină	3,10	3059	1,09
			m-nitroanilină	4,10	3622	1,00
			o-nitroanilină	5,42	4015	0,98
		ODS-1, 3 μ m, 4x10 mm (cartuș)	p-nitroanilină	3,97	3791	1,07
			m-nitroanilină	5,20	4468	1,09
			o-nitroanilină	6,87	4974	1,05
2	Zorbax SB C-18, 5 μ m, 2,1x150 mm; 35% acetonitril în tampon fosfat, 0,5 ml/min	Lipsește	Chetizal	1,63	2436	1,22
			Carbamazepină	2,23	2978	1,18
		ODS-1, 10 μ m, 2x10 mm	Chetizal	1,79	2107	1,45
			Carbamazepină	2,46	2416	1,54
3	Uptisphere 5 ODB, 5 μ m, 3x150 mm; 35% acetonitril în tampon fosfat, 0,5 ml/min	lipsește	Fenobarbital	4,65	5131	1,19
			Carbamazepină	8,01	7430	1,08
		ODS-1, 10 μ m, 2x10 mm	Fenobarbital	4,74	5109	1,06
			Carbamazepină	8,26	7203	1,04

Notă: K' – factorul de capacitate, N – numărul de talere teoretice, As – factorul de asimetrie, calculat la nivelul 0,05 a înălțimii picului.

sorbenți peliculari. Într-adevăr, practic ei nu influențează la selectivitate, dar și protejează rău coloana, fiindcă capacitatea de sorbție a sorbenților peliculari este destul de mică.

În al doilea rând, la utilizarea sorbentului precoloanei analogic sorbentului coloanei și de aceeași calitate de umplere numărul de talere teoretice chiar poate să sporească datorită creșterii lungimii efective a coloanei.

Rezultatele studiului influenței precoloanei la eficiența sistemului cromatografic sunt prezentate prin câteva exemple în tabelul 2.

Primul exemplu reprezintă un caz reușit de selectare a precoloanei, în rezultatul căreia s-a obținut o creștere moderată a eficienței datorită măririi lungimii eficiente a coloanei aproximativ cu 13%. În al doilea caz utilizarea precoloanei cu sorbenți cu particule mai mari a micșorat esențial eficiența și a înrăutățit asimetria picurilor. În al treilea experiment aceeași precoloană s-a utilizat cu coloană având diametru mai mare. Aportul relativ al precoloanei în surparea totală s-a micșorat și practic nu s-a schimbat eficiența sistemului, dar din cauza căderii de presiune pe precoloană viteza maximă de lucru a eluării se micșorează de 1,5-2 ori.

Reieșind din aceste date și din practica experimentală, putem propune unele recomandări în alegerea precoloanelor, și anume:

- Este de preferință a utiliza precoloane de tip cartuș, conectate direct cu coloana analitică, iar la utilizarea coloanelor de formă clasică să se aplice precoloane cu fitting de ieșire, complementar fittingului de intrare al coloanei. În acest caz volumul extracoloană va fi minimal.
- Este necesar să se tindă spre umplerea coloanei și precoloanei cu material identic. Dacă nu e posibil, se acceptă folosirea în precoloană a sorbentului care dă o reținere mai slabă a analiților comparativ cu sorbentul coloanei; în caz contrar, poate provoca o scădere a eficienței. De exemplu, cu coloana Zorbax SB C-18 poate fi utilizată precoloana umplută cu Zorbax RX C-18; în alte cazuri cu coloanele umplute cu o oarecare fază C-18 pot funcționa cu succes și precoloanele cu fază C-8.
- Materialele de umplere a coloanei și precoloanei trebuie să aibă particule de mărimi egale (excepție – sorbenții peliculari). Unele firme producătoare nu respectă condiția dată, propunând precoloane cu sorbenți de dimensiuni

mai mari, fapt care duce la pierderea eficienței, în deosebi la eluții cu viteze înalte. Umplerea precoloanei cu particule de dimensiuni mai mici nu influențează eficiența, dar poate majora căderea presiunii până la o analiză ce este imposibilă la viteza de eluare anumită.

- Este necesar să corespundă diametrele interne ale coloanei și precoloanei. Precoloana cu diametrul intern mai mare duce la pierderea eficienței, iar mai mic – la creșterea presiunii la intrare.
- În dependență de posibilități, se recomandă utilizarea precoloanei scurte. Majoritatea precoloanelor produse de tip cartuș au lungimea 10-12 mm, care este suficientă. Utilizarea precoloanelor mai lungi n-are sens, deoarece poluatorii adsorbiți ireversibil se concentrează în stratul inițial al sorbentului și impurificarea lui la o adâncime de 1-2 mm scade eficacitatea într-atât, încât trebuie schimbată precoloana.
- Pentru obținerea rezultatelor satisfăcătoare, precoloanele, analogic coloanelor, trebuie umplute prin metoda de suspensie. Uneori producătorii încalcă cerința dată. Pe lângă aceasta, spre deosebire de coloane precoloanele, nu trec testarea totală și în serii pot nimeri unele exemplare umplute necalitativ. De aceea, recomandăm testarea fiecărei precoloane înainte de utilizare, fiind înregistrate cromatogramele soluțiilor pure cu precoloana instalată și fără ea, după care să se compare eficacitatea conform numărului de talere teoretice obținute.

2. Problema excluderii artefactelor. Alegerea intervalului optim de injectare a probelor

În variantele metodei HPLC, cu excepția cromatografiei de excludere, există problema că timpul eluării tuturor componentelor la analiza probelor cu compoziție necunoscută în regim izocratic rămâne de asemenea necunoscut. Referitor la analiza farmacocinetică, aceasta înseamnă că după eluarea tuturor componentelor analitici în coloană mai rămâne un număr oarecare de componente ai matricei. În timpul analizei ei eluează probele ulterioare, formând așa numitele artefacte – picuri cromatografice, ce nu aparțin componentelor din proba dată, pe când timpul lor de retenție aparent (relativ momentului de injectare a probei curente) depinde de intervalele de timp dintre injectarea probei curente și acelor probe, cărora de fapt le și aparțin aceste picuri. De asemenea, ei depind în mare măsură și de sta-

bilitatea parametrilor sistemului cromatografic. În pofida faptului că problema dată are un caracter general, ea este insuficient studiată, precum reiese din publicațiile accesibile. Particularitatea ei tipică constă în faptul că ea se accentuează la sorbenți mai calitativi ce asigură o creștere mai mică a lățimii picurilor în comparație cu creșterea timpului de retenție.

Regenerarea coloanei cromatografice după fiecare probă analizată este soluția cea mai radicală, dar nicidecum nu-i și cea mai bună, fiindcă cheltuielile de timp și materiale pentru regenerarea și echilibrarea ulterioară pot depăși de câteva ori cheltuielile necesare efectuării a însăși analizei. La eluarea în gradient, de regulă artefactele nu apar, dar cheltuielile de timp și materiale sunt de asemenea majorate. În cazurile când componentii interferenți se eluează cu timpi de retenție mari, regenerarea periodică a coloanei este posibilă după câteva injectări, fapt care desigur nu este caracteristic la analiza materialului biologic. Procedura cea mai simplă și des aplicată la excluderea artefactelor constă în mărirea intervalului de injectare a probelor. Astfel, probabilitatea apariției picurilor-artefacte scade, iar înseși aceste picuri devin mai largi,

adică corespunzător se micșorează înălțimea lor. Cu mărirea intervalului de injectare crește atât eficiența procedurii date, cât și costul analizei, de aceea întotdeauna trebuie găsit un compromis rezonabil.

Noi propunem o altă soluție a problemei date. Dacă componenta calitativă a probelor analizate se reproduce iar parametrii sistemului cromatografic sunt destul de stabili, atunci artefactele la intervale constante de injectare a probelor vor apărea pe cromatograme cu timpi de retenție aparent egali. În fond, sarcina de optimizare constă în alegerea intervalului de injectare cât mai mic posibil în care nici un pic analitic să nu se suprapună cu picurile-artefacte. În mod practic procedura dată se realizează în felul următor: după echilibrarea minuțioasă a coloanei cu faza mobilă se înregistrează cromatograma unei probe ce conține vădit în matricea respectivă toți componentii analitici. Timpul de înregistrare se ia unul destul de mare pentru eluarea în măsura posibilității a tuturor componentilor, care ar putea împiedica prelucrarea datelor pentru cromatogramele probelor ulterioare. Selectarea intervalului optim de injectare a probelor se efectuează fiind "tăiată" cromatograma obținută în sectoare cu lungimi

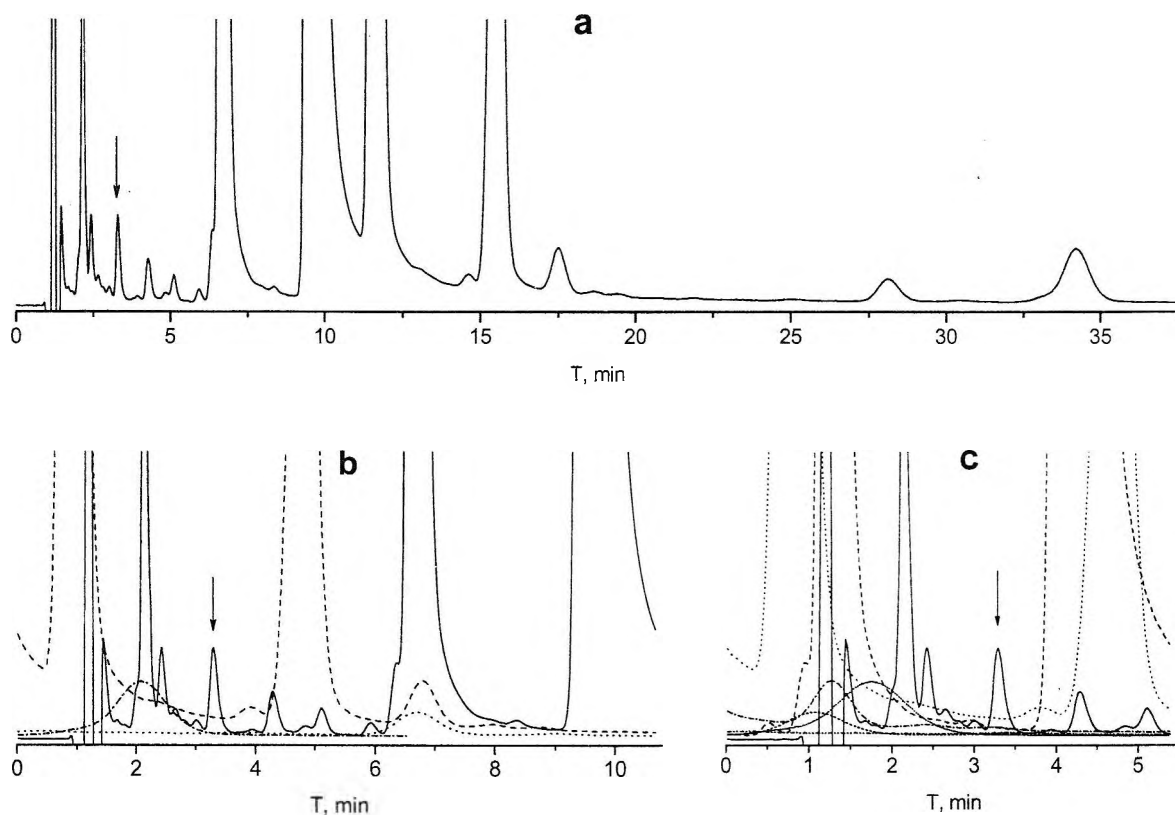


Fig. 3. Dozarea homocisteinei în plasma sanguină: a – cromatograma completă (timpul analizei 36 min); b – cromatograma după "tăiere" și suprapunerea fragmentelor (intervalul de injectare a probelor 10,7 min); c – aceeași cromatogramă, intervalul de injectare 5,4 min. Săgețile indică poziția picului analitic – derivata homocisteinei obținută cu 1-fluor-2,4-dinitrobenzen.

egale. Aceste sectoare se suprapun pe un singur grafic, cum este prezentat în fig. 3. Cu regret, un astfel de algoritm simplu și util nu este inclus în soft-urile comerciale de prelucrare a informației cromatografice.

Procedura dată noi am aplicat-o la dozarea glibenclamidei și izoturonului în plasma sanguină, precum și a metaboliților naturali – homocisteinei pentru diagnosticul ictusului ischemic, fenilalaninei și tirozinei pentru screening-ul fenilcetonuriei.

Concluzii.

S-au examinat probleme practice de optimizare a realizării de aparat în analiza cromatografică:

- S-a demonstrat avantajul sorbenților cu diametrul mic al particulelor (3 μm);
- La utilizarea cromatografică standard putem recomanda utilizarea coloanelor cu diametru 3 mm pentru majoritatea sarcinilor practice și cu diametrul 4-4,6 mm – când apare necesitatea de o selectivitate maximă;
- S-a demonstrat posibilitatea compensării volumului precolană prin micșorarea concentrației modificatorului organic în proba de injectat;
- Au fost propuse recomandări referitor la selectarea tipului precolanului;
- S-a propus o metodă de excludere a picurilor-artefacte prin selectarea intervalului optim de injectare a probelor.

Bibliografie:

1. Схунмакерс П., Оптимизация селективности в хроматографии. Пер. с англ.– М.: Мир, 1989, с. 12.
2. Сакадынский К. И., Бражников С. А. и Волков С. А. Аналитическая хроматография. – М., Химия. 1993, 464 с.
3. Bojița M., Săndulescu R., Roman L. și alt. Analiza și controlul medicamentelor. Bazele teoretice și practice. Intelcredo, 2003, vol. 2, p. 77-95.
4. Стыскин Е. Л., Ициксон Л. Б., Брауде Е. В. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. – М., 1986, 288 с.
5. Орлов В. И., Аратсков А. А. Жидкостная хроматография. Теоретические основы. Дзержинск. 1997, 42 с.
6. Сычев С. Н., Сычев К. С. и Гаврилина В. А. Высокоэффективная жидкостная хроматография на микроколоночных хроматографах серии «Милихром». Орел. 2002, С. 41-53.
7. Richard F. Venn. Principles and practice of bioanalysis. Taylor & Francis, 2000, p.73.
8. Daniela Lucia Muntean, Marius Bojița. Controlul medicamentelor. Metode spectrale, cromatografice și electroforetice de analiză. Cluj Napoca, 2004, p. 237.

UTILIZAREA METODELOR MODEL LA OPTIMIZAREA SELECTIVITĂȚII ÎN HPLC

Igor Casian, Ana Casian

Institutul Național de Farmacie, Chișinău

Rezumat

În lucrarea dată s-au examinat unele probleme de optimizare a compoziției fazei mobile, în particular a concentrației substituitului ca unul din factorii de dirijare a selectivității în cromatografia lichidă, utilizând metodele model matematice.

S-a demonstrat o relație lineară în coordonatele logaritmice dintre concentrația substituitului și parametrii modelelor algebrice ale picurilor cromatografice, ce permite de a calcula concentrația optimă a substituitului din volumul minim al datelor experimentale. S-a efectuat examinarea comparativă a unor solvenți organici în calitatea lor de substituitori, care sunt mai des utilizați în cromatografia lichidă cu faza inversă.

S-a propus utilizarea produsului coeficienților

suprapunerii parțiale a tuturor picurilor analitice ca măsură a aprecierii calității cromatogramelor. Această măsură oglindește mai adecvat eroarea analizei cantitative a cromatogramelor.

S-a studiat dependența retenției cromatografice a substanțelor ionogene de pH-ul fazei mobile în cromatografia cu faza inversă. S-a propus un model matematic simplu, aplicabil pentru optimizarea pH-ului fazei mobile în analiza compușilor cu număr arbitrar de grupe ionizabile.

Cuvinte cheie: HPLC, optimizarea selectivității, metode model matematice.

Summary

In this work are surveyed some problems of optimisation of mobile phase composition, in