

## Аналитические аспекты зависимости индексов удерживания органических соединений в обращенно-фазовой ВЭЖХ от содержания метанола в составе элюента

*\*И.Г. Зенкевич, А. Деруиш*

*Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии,  
Университетский просп., 26, Санкт-Петербург 198504, Российская Федерация*

*\*Адрес для переписки: Игорь Георгиевич Зенкевич, E-mail: izenkevich@yandex.ru*

Поступила в редакцию 26 ноября 2021 г.

В результате определения индексов удерживания (**RI**) 11 органических соединений различной полярности в обращенно-фазовой (**ОФ**) ВЭЖХ при использовании метанола в составе элюента (**С**) вычислены коэффициенты зависимости  $RI(C)$ , т.е.  $dRI/dC$ . Формально такие параметры эквивалентны температурным коэффициентам газохроматографических индексов удерживания,  $\beta = dRI/dT$ . Показано, что эти коэффициенты варьируют в широких пределах (в настоящей работе от -2.0 до +4.6), что указывает на необходимость выявления факторов, определяющих их знак и величину. Установлено, что корреляция величин  $dRI/dC$  с самими индексами удерживания и со значениями факторов гидрофобности  $\log P$  (логарифмы коэффициентов распределения в гетерофазной системе 1-октанол/вода), практически отсутствует. Лучше всего коэффициенты  $dRI/dC$  коррелируют с такими характеристиками полярности органических соединений, как гомологические инкременты факторов гидрофобности ( $i_{\log P}$ ) и гомологические инкременты индексов удерживания ( $i_{RI}$ ). Такие преобразования значений различных свойств **A** как гомологические инкременты характеризуют разные гомологи вне зависимости от их положения в гомологических рядах, так что величины  $i_{\log P}$  и  $i_{RI}$  являются характеристиками полярности соответствующих рядов. Подобный подход позволил установить, что зависимость индексов удерживания в **ОФ** ВЭЖХ от содержания метанола в составе элюента определяется именно полярностью аналитов и их гидрофобно-гидрофильными характеристиками. Для неполярных аналитов типично соотношение  $dRI/dC > 0$ , тогда как для полярных –  $dRI/dC < 0$ . Следовательно, определение даже знака этого коэффициента обеспечивает важную информацию о природе аналитов.

**Ключевые слова:** Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография, элюент метанол-вода, неполярные и полярные аналиты, индексы удерживания, зависимость индексов от состава элюента.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2022, vol. 26, no. 1, pp. 41-48

DOI: 10.15826/analitika.2022.26.1.004

## Analytical aspects of organic compounds retention indices dependence in reversed phase HPLC on the content of methanol in eluent

*\*Igor G. Zenkevich, Abdennour Derouiche*

*St. Petersburg State University, Institute for Chemistry, Universitetskii prosp., 26,  
St. Petersburg 198504, Russian Federation*

*\*Corresponding author: Igor G. Zenkevich, E-mail: izenkevich@yandex.ru*

Submitted 26 November 2021

As a result of the determination of retention indices (**RI**) of 11 organic compounds of various polarity in reversed phase (**RP**) HPLC using methanol as organic solvent in eluent, the coefficients of the dependence of **RI** vs. content of methanol,  $dRI/dC$  were determined. Formally, these parameters are equivalent to the

temperature coefficients of gas chromatographic retention indices,  $\beta = dRI/dT$ . It is shown that the ranges of variations of these coefficients are rather large (from -2.0 up to +4.6 in the current work), which requires revealing the factors influencing their signs and absolute values. The correlations of coefficients  $dRI/dC$  with retention indices themselves, as well as with hydrophobicity factors,  $\log P$  (the logarithms of partition coefficients in the system 1-octanol/water) seem to be negligible. The best correlations of  $dRI/dC$  were observed with such polarity measures of organic compounds as homologous increments of hydrophobicity factors ( $i_{\log P}$ ), and retention indices ( $i_{RI}$ ). Such transformations of properties  $A$  as their homologous increments characterize different homologues despite of their locations within the homologous series. Thus, the parameters  $i_{\log P}$  and  $i_{RI}$  appeared to be the measures of the polarity of the corresponding series. This approach permits us to reveal that the dependence of retention indices in RP HPLC on the content of methanol in eluent is determined just by the analytes' polarity and their hydrophobic – hydrophilic properties. The ratio  $dRI/dC > 0$  is typical for non-polar analytes, while for polar compounds the negative signs of these coefficients are typical,  $dRI/dC < 0$ . Hence, determining even the sign of this coefficient provides the important information on the chemical origin of analytes.

**Keywords:** Reversed-phase high performance liquid chromatography, methanol-water as an eluent, non-polar and polar analytes, retention indices, dependence on eluent composition.

## ВВЕДЕНИЕ

Газохроматографическая идентификация только в отдельных случаях предполагает использование абсолютных параметров удерживания определяемых соединений. Это обусловлено зависимостью таких параметров от условий хроматографического разделения и, следовательно, их принципиальной межлабораторной невоспроизводимостью. По этой причине при идентификации преимущественно используют интерполяционные характеристики – индексы удерживания (RI) [1]:

$$RI_x = RI_n + (RI_{n+k} - RI_n) [f(t_{R,x}) - f(t_{R,n})] / [f(t_{R,n+k}) - f(t_{R,n})], \quad (1)$$

где  $t_R$ ,  $t_{R,n}$  и  $t_{R,n+k}$  – времена удерживания целевого analyта ( $x$ ) и ближайших к нему по параметрам удерживания реперных компонентов с присвоенными им значениями индексов удерживания  $RI_n$  и  $RI_{n+k}$ . В качестве реперных компонентов в газовой хроматографии выбраны  $n$ -алканы, а в обращенно-фазовой ВЭЖХ –  $n$ -алкилфенилкетоны  $C_6H_5COC_nH_{2n+1}$  (в обоих случаях  $RI = 100n_C$ , где  $n_C$  – число атомов углерода в молекуле). Вид функции  $f(t_R)$  определен 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),  $f(t_R) = t_R + q \lg(t_R)$  ( $q = \text{var}$ ) – любой режим (так называемые линейно-логарифмические индексы удерживания).

За счет использования минимум двух реперных компонентов, индексы удерживания приобретают свойства межлабораторных инвариантов и (при выборе стандартных неподвижных фаз) могут быть использованы в качестве справочных данных для хроматографической и хромато-спектральной идентификации. База данных NIST [2] начиная с 2005 г. в дополнение к масс-спектрам включает значения RI на стандартных неполярных и полярных фазах, число которых в версии 2020 г. достигло  $\sim 4.5 \cdot 10^5$  для  $\sim 1.1 \cdot 10^5$  соединений.

Газохроматографическим индексам удерживания присуща некоторая зависимость от температуры. В

первом приближении ее полагают линейной, ограничиваясь первым членом разложения функции  $RI(T)$  в ряд Тейлора ( $T_0$  – некоторое стандартное значение температуры):

$$RI(T) = RI(T_0) + dRI/dT (T - T_0). \quad (2)$$

Попытки аппроксимации зависимостей  $RI(T)$  более сложными функциями [3] не получили распространения. Для большинства органических соединений коэффициенты температурной зависимости индексов удерживания  $\beta = dRI/dT$  удовлетворяют неравенству  $\beta > 0$  и возрастают при увеличении количества циклов, их размеров и числа разветвлений углеродного скелета молекул [1, 4, 5]. Иными словами, коэффициенты  $\beta$  отражают несоответствие топологических характеристик молекул analyтов и реперных  $n$ -алканов (не содержат циклов и не имеют разветвлений углеродного скелета). Одно время полагали, что значения  $\beta = dRI/dT$  повышают информативность газохроматографических данных и, следовательно, надежность идентификации. Кроме того, с их помощью экспериментальные значения RI можно пересчитать в теоретически более воспроизводимые величины при некоторых стандартных температурах (рассматривали  $0^\circ\text{C}$  или, в концепции Unified Retention Indices [6, 7],  $100^\circ\text{C}$ ). Однако впоследствии от таких попыток отказались из-за их неоправданной трудоемкости и низкой межлабораторной воспроизводимости результатов.

В обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) концепцию RI используют реже из-за меньшего диапазона вариаций этих параметров и большего числа влияющих на них экспериментальных условий [8-12]. Тем не менее, и в этом методе индексы удерживания оказываются наиболее воспроизводимыми по сравнению с другими характеристиками удерживания [11]. Фактором, в наибольшей степени определяющим межлабораторные вариации RI, является состав элюента, прежде всего – содержание в нем органического растворителя (С, объемн. %). Коэффициент, отражающий зависимость значений RI от содержания органического растворителя ( $dRI/dC$ ), в ОФ ВЭЖХ

фактически является эквивалентом температурного коэффициента индексов удерживания в газовой хроматографии ( $\beta$ ). Влияющие на такие коэффициенты факторы ранее специально не рассматривали из-за объективно меньшей информативности индексов удерживания в ОФ ВЭЖХ, хотя значения  $R_I$  некоторых соединений при разных  $C$  определяли в качестве контроля их воспроизводимости [10]. Это согласуется, например, с отсутствием для таких коэффициентов общепринятого (в отличие от символа  $\beta$  в ГХ)<sup>1</sup> буквенного символа. Однако параметры  $dR_I/dC$  неожиданно оказались информативными при установлении химической природы анализируемых соединений, что было выявлено при рассмотрении образования гидратов органических соединений в ОФ ВЭЖХ на основании рекуррентной аппроксимации их абсолютных параметров удерживания [13-16].

В настоящей работе для 11 органических соединений различной химической природы при использовании метанола в качестве органического компонента элюента в ОФ ВЭЖХ определены и рассмотрены коэффициенты зависимости индексов удерживания от содержания метанола в элюенте,  $dR_I/dC$ . Решение этой задачи необходимо для планирования экспериментов с большим числом объектов в дальнейшем. Главная цель такого рассмотрения – выявление, какие именно характеристики аналитов влияют на зависимость индексов удерживания от содержания органического растворителя в составе элюента.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Реагенты, растворители.** В работе использованы препараты следующих соединений: толуол, *n*-ксилол, хлорбензол и нитробензол («хч, для хроматографии», Реахим, Москва), бензотриазол («для фотографии», Реанал, Венгрия), ацетофенон, пропиофенон и бутирофенон (Sigma-Aldrich Rus LLC, Россия), 2,3,5-триметилфенол [Theodor Schuchardt, Мюнхен, Германия (из коллекции природных соединений С.А. Кожина, ЛГУ)], фталимид и нингидрин (Merck, Германия), 3-нитрофенол (индикатор, British Drug Houses, LTD, Великобритания) и диэтиламид *m*-толуиловой кислоты (бытовой репеллент ДЭТА, ТУ 2386-077-00205357-2007, г. Луга), Растворы аналитов готовили в 2-пропаноле («хч», Крioxром, Санкт-Петербург), после чего их растворяли в подвижной фазе. Для приготовления элюентов для ВЭЖХ использовали метанол («хч», Крioxром, Санкт-Петербург) и деионизованную воду (удельное сопротивление 18.2 МОм см) с добавкой 0.1 % муравьиной кислоты (98 % «для анализа», PanReas, Испания).

**Условия хроматографического анализа.** Определение времен удерживания выбранных

соединений в различных изократических режимах 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 °С. Пробы дозировали с использованием автосамплера SIL-20A/AC, объем проб 20 мкл. Число дозирования каждой из них – 2-3. Разброс времен удерживания аналитов в диапазоне до 10 мин не превышал 0.01-0.02 мин. Для определения индексов удерживания во все образцы добавляли три реперных *n*-алкилфенилкетона  $C_6H_5COCH_2H_{2n+1}$  с  $n = 1 \div 3$ .

**Обработка результатов.** Для статистической обработки параметров удерживания использовали ПО Excel (Microsoft Office, 2010). Вычисление индексов удерживания проводили либо с использованием программируемого калькулятора (логарифмические индексы), либо программы QBasic (линейно-логарифмические индексы). Необходимые для вычисления логарифмических индексов удерживания [изократический режим элюирования,  $f(t_R) = \lg(t_R - t_0)$  в формуле (1)] времена удерживания несорбируемых компонентов ( $t_0$ ) оценивали по временам удерживания трех реперных компонентов по формуле Петерсона и Хирша [17]:

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

Альтернативный способ – вычисление линейно-логарифмических индексов удерживания [ $f(t_R) = t_R + q \lg(t_R)$  в формуле (1)], который не требует предварительной оценки значений «мертвого» времени удерживания ( $t_0$ ). Полученные значения совпадают со значениями логарифмических индексов в пределах  $\pm 1$ . Для построения графиков использовали ПО Origin (версии 4.1 и 8.1).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Зависимость индексов удерживания различных соединений в обращенно-фазовой ВЭЖХ от состава элюента

В предыдущих публикациях [13-15], посвященных выявлению обратимого образования гидратов аналитов в условиях ОФ ВЭЖХ с использованием рекуррентной аппроксимации времен удерживания, исходной информацией для обсуждения результатов были абсолютные времена удерживания. Способ обнаружения образования гидратов – отклонения рекуррентной зависимости  $t_R(C + \Delta C) = at_R(C) + b(C - \text{содержание органического компонента элюента})$  от линейности в области высоких содержаний воды в элюенте. Однако было показано, что образование гидратов некоторых органических соединений надежно подтверждается при использовании в составе элюента только ацетонитрила. Метанол образует более стабильный гидрат (свободная энергия ги-

<sup>1</sup> В настоящей работе для предотвращения путаницы с другими буквенными обозначениями коэффициенты зависимости  $R_I$ (ВЭЖХ) от содержания органического модификатора элюента далее обозначены как  $dR_I/dC$ .

Таблица 1

Индексы удерживания (RI) некоторых органических соединений в ОФ ВЭЖХ в зависимости от содержания метанола в составе элюента

Table 1

Retention indices (RI) of some organic compounds in reversed phase HPLC depending on the content of methanol in eluent

Аналит	Мол. масса	Содержание метанола в элюенте, объемн. %							
		50	55	60	65	70	75	80	85
Толуол	92	1052	1071	1088	1107	1127	1146	1176	-
о-Ксиллол	106	1150	1166	1186	1202	1230	1254	1292	-
Хлорбензол	112	1046	1057	1067	1078	1090	1105	1126	1142
Бензотриазол	119	688	686	684	684	684	680	682	-
Ацетофенон	120	800	800	800	800	800	800	800	800
Нитробензол	123	847	849	854	856	860	857	852	-
2,3,5-Триметилфенол	136	852	854	858	862	862	864	860	-
3-Нитрофенол	139	799	796	793	791	784	776	756	-
Фталимид	147	693	692	691	689	690	686	686	-
Нингидрин	178	662	664	664	666	668	664	663	-
Диэтил-м-толуамид	191	948	935	927	920	910	896	884	-

**Примечание:** «-» – индексы удерживания не вычисляли, так как при малых временах удерживания аналитов их точность снижается.

дратации -5.1 ккал/моль), чем большинство других органических соединений, что приводит к разрушению их гидратов и исчезновению аномалий указанных выше рекуррентных зависимостей [16].

По этой причине настоящее обсуждение результатов целесообразно начать не с абсолютных времен, а непосредственно с индексов удерживания, поскольку их вычисление в шкале реперных *n*-алкилфенилкетонов является «стандартной» хроматографической операцией [1]. В табл. 1 приведены значения RI 11 органических соединений, различающихся характеристиками гидрофобности (гидрофильности). Все соединения ранжированы по увеличению их молекулярных масс. Одно из них – реперный компонент (ацетофенон), индекс удерживания которого по определению принимают равным 800 в любых режимах элюирования.

Прежде всего, целесообразно сравнить приведенные данные с ранее известными, сопоставляя, например, значения  $RI(C = 50\%)$  со справочными данными, усредненными вне зависимости от условий их определения (так называемая «рандомизация» – способ обработки данных, использованный, например, в работе [11]). Большая часть этих данных получена при использовании в составе элюента ацетонитрила, а не метанола. Результаты сравнения подтверждают заметные отличия значений RI, что объясняет меньшую «популярность» этой концепции в ОФ ВЭЖХ, чем в газовой хроматографии. Среднее значение абсолютной величины разности  $|RI(50\%) - RI_{справ}|$  составляет  $46 \pm 33$  ед. инд. Однако если рассматривать такие разности не по модулю, а с учетом их знаков, то среднее значение уменьшается вдвое, а стандартное отклонение – возрастает:  $-22 \pm 54$ . Поскольку  $s(DRI)$  превышает  $<|RI(50\%) - RI_{справ}|>$ , то следует признать, что межлабораторные различия индексов удерживания в ОФ

ВЭЖХ, хотя и велики, не являются статистически значимыми.

Сопоставление данных табл. 1 позволяет выявить соединения, для которых значения RI существенно возрастают с ростом содержания метанола в составе элюента, т.е.  $dRI/dC > 0$  (толуол,

Таблица 2

Корреляция параметров зависимости индексов удерживания некоторых органических соединений от содержания метанола в элюенте ( $dRI/dC$ ) от их различных физико-химических характеристик

Table 2

Correlation of parameters ( $dRI/dC$ ) on the dependence RI(C) for some organic compounds vs. their various chemical variables

Аналит	Мол. масса	$dRI/dC$	$\log P$	$i_{\log P}$	$i_{RI}$
Толуол	92	$4.0 \pm 0.1$	2.71	-1.07	452
о-Ксиллол	106	$4.6 \pm 0.3^*$	3.12	-1.20	450
Хлорбензол	112	$2.7 \pm 0.1$	2.90	-1.83	246
Бензотриазол	119	$-0.2 \pm 0.0$	1.44	-2.88	-112
Ацетофенон	120	0.0	1.70	-2.62	0
Нитробензол	123	$0.3 \pm 0.1^*$	1.83	-2.49	47
2,3,5-Триметилфенол	136	$0.3 \pm 0.2$	2.73	-2.13	-48
3-Нитрофенол	139	$-1.3 \pm 0.2^*$	2.00	-2.86	-101
Фталимид	147	$-0.2 \pm 0.0$	1.15	-4.25	-307
Нингидрин	178	$0.0 \pm 0.1^*$	0.67	-5.81	-538
Диэтил-м-толуамид	191	$-2.0 \pm 0.1$	2.18	-4.84	-352

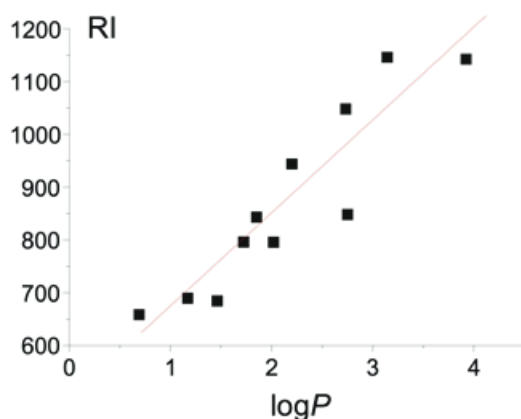
**Примечание:** \* – зависимости  $dRI/dC$  в указанных диапазонах вариаций *C* нелинейны.

о-ксилол и хлорбензол), заметно уменьшаются,  $dRI/dC < 0$  (3-нитрофенол и нингидрин), либо остаются приблизительно постоянными,  $dRI/dC \approx 0$  (пять остальных аналитов). Поскольку детальное рассмотрение коэффициентов  $dRI/dC$  ранее не проводили, то выявление влияющих на них характеристик аналитов представляется достаточно актуальной задачей. Все значения  $dRI/dC$  приведены в табл. 2.

Для некоторых соединений (отмечены в табл. 2) зависимости  $RI(C)$  отчетливо нелинейны. Подобные аномалии наблюдали и ранее [10], но специального выяснения причин подобной нелинейности не проводили.

### Корреляция значений $dRI/dC$ с различными характеристиками аналитов

**1. Факторы гидрофобности.** Прежде всего, представляет интерес проверка зависимости параметров  $dRI/dC$  от факторов гидрофобности (логарифмы коэффициентов распределения в гетерофазной системе 1-октанол – вода,  $\log P$ ), поскольку корреляция параметров удерживания аналитов с их значениями  $\log P$  представляет собой один из основных способов оценки параметров удерживания в ОФ ВЭЖХ [18-22]. Значения  $\log P$  для всех соединений приведены в табл. 2. В рассматриваемом нами случае нагляднее всего это иллюстрирует рис. 1, на котором представлен график линейной регрессии  $RI(\log P)$  для всех аналитов (параметры регрессии указаны в подписи к рисунку). Для всех соединений использованы экспериментальные значения  $\log P$ ; при несовпадении данных нескольких источников вычисляли их средние арифметические величины. Отчетливо наблюдается ожидаемое симбатное изменение обеих величин (коэффициент корреляции



**Рис. 1.** График зависимости индексов удерживания выбранных аналитов от экспериментальных значений  $\log P$ . Параметры уравнения линейной регрессии:  $a = 175 \pm 25$ ,  $b = 504 \pm 57$ ,  $R = 0.920$ ,  $S_0 = 73$ .

**Fig. 1.** Plot of the dependence of retention indices of selected analytes vs. experimental  $\log P$  values. Parameters of linear regression are:  $a = 175 \pm 25$ ,  $b = 504 \pm 57$ ,  $R = 0.920$ ,  $S_0 = 73$ .

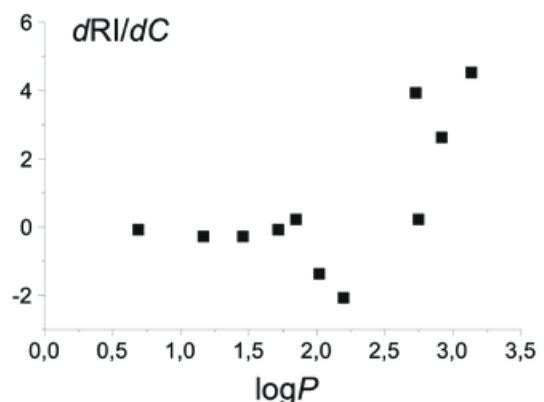
$R = 0.920$ ), хотя для аналитических целей такая зависимость малопригодна из-за низкой точности получаемых оценок. Значение  $S_0$ , представляющее собой среднюю точность оценок  $RI$  в выбранном диапазоне вариаций  $\log P$ , достигает 73 ед. инд.

Если проверить аналогичную корреляцию параметров  $dRI/dC$  с величинами  $\log P$  (рис. 2), то в этом случае следует признать ее отсутствие. Такой результат подтверждает правомерность использованного в настоящей работе подхода: проверить рассматриваемую корреляцию для небольшого числа объектов, что позволяет исключить ее из более детального рассмотрения в дальнейшем. К аналогичным выводам (корреляция отсутствует) приводит проверка зависимости  $dRI/dC$  от значений самих индексов удерживания,  $RI$ .

Значения  $\log P$  рассматривают как одну из характеристик полярности органических соединений. Однако при переходе от любого гомолога какого-либо ряда к следующему они увеличиваются на инкремент гомологической разности  $CH_2$ . В результате возникает некоторый парадокс, состоящий в том, что значения  $\log P$  полярных соединений могут превышать значения  $\log P$  менее полярных. Например, значение  $\log P$  для 1-октанола составляет 3.00, а для толуола – 2.71, хотя 1-октанол относится к ряду более полярных спиртов, чем ароматические углеводороды. Для устранения такого парадокса вместо величин  $\log P$  целесообразно использовать их так называемые гомологические инкременты,  $i_{\log P}$ .

**2. Гомологические инкременты факторов гидрофобности.** Гомологические инкременты аддитивных свойств ( $A$ ) первоначально были введены для представления хроматографических данных при их совместной интерпретации с масс-спектрами в хромато-масс-спектрометрии [23]:

$$i_A = A - x\Delta A(CH_2), \quad (4)$$



**Рис. 2.** Графическая проверка возможной зависимости коэффициентов  $dRI/dC$  выбранных аналитов от их факторов гидрофобности,  $\log P$ . Корреляция отсутствует.

**Fig. 2.** Graphical verification of the possible dependence of coefficients  $dRI/dC$  of selected analytes vs. their hydrophobicity factors,  $\log P$ . There is no correlation.

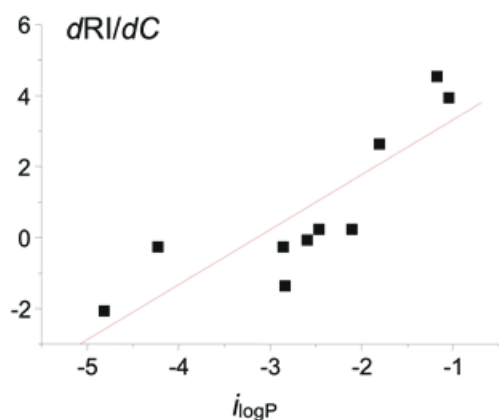
где  $x$  – целое частное от деления молекулярного массового числа  $M$  на 14 (массовое число гомологической разности),  $x = \text{int}(M/14)$ ,  $\Delta A(\text{CH}_2)$  – инкремент свойства  $A$  гомологической разности  $\text{CH}_2$ .

Подобное 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 инкрементов этих свойств для гомологической разности  $\text{CH}_2$ .

Применительно к факторам гидрофобности  $\log P$  выражение (4) может быть записано следующим образом:

$$i_{\log P} = \log P - x\Delta \log P(\text{CH}_2) \quad (5)$$

Единственную сложность применения столь простого соотношения представляет необходимость оценки среднего значения инкремента фактора гидрофобности гомологической разности,  $\Delta \log P(\text{CH}_2)$ . При этом желательно использовать не расчетные величины (как, например, в модуле  $\log P$  ПО ACD), а оценить его на основании экспериментальных данных по разностям значений  $\log P$  соседних гомологов разных рядов,  $\Delta \log P = \log P(n+1) - \log P(n)$ . Для этого были усреднены все доступные значения  $\log P$  алкиларенов (12 последовательных гомологов), 2-алканонов (7) и алкилфенилкетонов (5), что дает среднее значение  $\Delta \log P = 0.54 \pm 0.07$ . Вычисленные с учетом этого результата по соотношению (4) величины  $i_{\log P}$  приведены в табл. 2. График зависимости коэффициентов  $dRI/dC$  рассматриваемых аналитов от величин  $i_{\log P}$  представлен на рис. 3. Параметры уравнения линейной регрессии указаны в подписи к этому рисунку.



**Рис. 3.** График зависимости коэффициентов  $dRI/dC$  выбранных аналитов от значений гомологических инкрементов факторов гидрофобности,  $i_{\log P}$ . Параметры уравнения линейной регрессии:  $a = 1.55 \pm 0.34$ ,  $b = 4.8 \pm 1.0$ ,  $R = 0.846$ ,  $S_0 = 1.2$ .

**Fig. 3.** Plot of the dependence of coefficients  $dRI/dC$  of selected analytes vs. their homologous increments of hydrophobicity factors,  $i_{\log P}$ . Parameters of linear regression are:  $a = 1.55 \pm 0.34$ ,  $b = 4.8 \pm 1.0$ ,  $R = 0.846$ ,  $S_0 = 1.2$ .

Рисунок подтверждает симбатное изменение обоих факторов, но коэффициент корреляции ( $R = 0.846$ ) все-таки меньше величины  $R = 0.920$  для зависимости  $RI(\log P)$  (рис. 1). Единственным соединением, значение  $i_{\log P}$  явно не согласуется с выявленной корреляцией, оказывается нингидрин. Причина, видимо, в том, что метанол в составе элюента эффективно препятствует образованию гидратов полярных соединений, в результате чего значения  $\log P$  однозначно соответствуют их структурам. Нингидрин же (CAS № 938-24-9) образует исключительно устойчивый моногидрат (CAS №№ 485-47-2 и 2462-59-1) с  $pK_a$  8.47, который, можно полагать, стабилен в водно-метанольных растворах и для которого значение  $\log P$  должно заметно отличаться от величины, соответствующей негидратированной структуре:

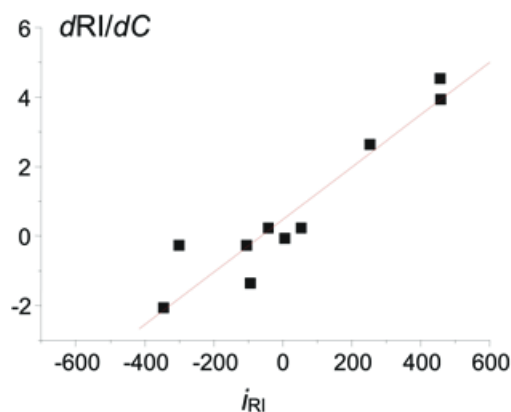
**3. Гомологические инкременты индексов удерживания.** И, наконец, в качестве третьего фактора, с которым могут коррелировать коэффициенты  $dRI/dC$ , целесообразно рассмотреть гомологические инкременты индексов удерживания. Они представляют собой еще одну модификацию общего соотношения (3) следующего вида [23]:

$$i_{RI} = RI - x\Delta RI(\text{CH}_2) \quad (6)$$

Поскольку для хроматографических индексов удерживания реперных компонентов по определению  $\Delta RI(\text{CH}_2) \equiv 100$ , а для остальных соединений можно принять  $\Delta RI(\text{CH}_2) \approx 100$ , то соотношение (6) еще более упрощается:

$$i_{RI} \neq RI - 100x \quad (7)$$

Возможно, что в ОФ ВЭЖХ необходимо более точно учитывать условие  $\Delta RI(\text{CH}_2) \neq 100$  (по аналогии



**Рис. 4.** График зависимости коэффициентов  $dRI/dC$  выбранных аналитов от значений гомологических инкрементов индексов удерживания,  $i_{RI}$ . Параметры уравнения линейной регрессии:  $a = (7.4 \pm 0.9) \times 10^{-3}$ ,  $b = 0.62 \pm 0.25$ ,  $R = 0.943$ ,  $S_0 = 0.8$ .

**Fig. 4.** Plot of the dependence of coefficients  $dRI/dC$  of selected analytes vs. their homologous increments of retention indices,  $i_{RI}$ . Parameters of linear regression are:  $a = (7.4 \pm 0.9) \times 10^{-3}$ ,  $b = 0.62 \pm 0.25$ ,  $R = 0.943$ ,  $S_0 = 0.8$ .

с оценкой величины  $\Delta \log P = 0.54 \pm 0.07$ , см. выше), но этот момент требует более подробного рассмотрения. Первоначально гомологические инкременты индексов удерживания были предложены только для целей идентификации аналитов, однако позже было показано, что их можно рассматривать как одну из характеристик полярности органических соединений [24]. Значения  $i_{RI}$  всех аналитов приведены в табл. 2.

В результате получаем зависимость (8), график которой приведен на рис. 4. Так же как и на рис. 3 на нем исключена точка, соответствующая аномальному поведению нингидрина:

$$dRI/dC = ai_{RI} + b \quad (8)$$

Коэффициент корреляции линейной зависимости (8) составляет  $R = 0.943$ , что несколько превышает коэффициент корреляции  $R = 0.920$  для зависимости  $RI(\log P)$  (рис. 1). Остальные параметры линейной регрессии приведены в подписи к рис. 4. Тем самым выявлен пример наилучшей корреляции коэффициентов зависимости индексов удерживания от содержания органического растворителя в составе элюента с другими хроматографическими характеристиками аналитов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя изложенное, следует заметить, что коэффициенты зависимости индексов удерживания от содержания органического растворителя (метанола) в составе элюента в ОФ ВЭЖХ ( $dRI/dC$ ), лучше всего коррелируют с такими характеристиками аналитов, как гомологические инкременты факторов гидрофобности,  $i_{\log P}$ , и гомологические инкременты индексов удерживания этих же аналитов,  $i_{RI}$ . Обе эти величины являются характеристиками полярности аналитов и его гидрофобно-гидрофильных свойств. Таким образом, показано, что знак и абсолютные величины рассматриваемых коэффициентов  $dRI/dC$  в наибольшей степени определяются полярностью органических соединений: для неполярных аналитов типично  $dRI/dC > 0$ , тогда как для полярных –  $dRI/dC < 0$ .

## БЛАГОДАРНОСТИ

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

## ACKNOWLEDGEMENTS

Experimental data for the current work were obtained at the Center for Chemical and Material Researches of Research Park of St. Petersburg State University. The authors are grateful to the staff of this Center for assistance.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Kovats' Retention Index System. In Encyclopedia of Chromatography. Ed. J. Cazes. 3<sup>rd</sup> Edn. Boca Raton, CRC Press (Taylor & Francis Group). 2010. P. 1304-1310.
2. The NIST Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH EI MS Library, 2020 Release). Software/Data Version; NIST Standard Reference Database, Number 69, May 2020. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899: <http://webbook.nist.gov> (дата обращения: ноябрь 2021 г.).
3. Головня П.В., Арсеньев Ю.Н. Система индексов удерживания и ее физико-химическое применение // Успехи химии. 1973. Т. 42, № 12. С. 2221-2246.
4. Mitra G.D., Saha N.C. Theory of the linearity of retention index with column temperature. Its versatility and importance in gas chromatography // Chromatographia. 1973. V. 6. P. 93-103.
5. Bangjie C., Shaoyi P. The temperature dependence of retention indices in gas chromatography // Chromatographia. 1988. V. 25. P. 731-734.
6. Boneva S., Dimov N. Unified retention indices of hydrocarbons separated on dimethylsilicone OV-101 // Chromatographia. 1986. V. 21. P. 697-700.
7. Skrbic B.D. Unified retention concept – statistical treatment of Kovats retention index // J. Chromatogr. A. 1977. V. 764. P. 257-264.
8. Smith R.M. Alkyl aryl ketones as a reference index scale in liquid chromatography // J. Chromatogr. A. 1982. V. 236. P. 313-320.
9. Smith R.M., Finn N. Comparison of retention index scales based on alkyl aryl ketones, alkan-2-ones and 1-nitroalkanes for polar drugs on reversed-phase HPLC // J. Chromatogr. A. 1991. V. 537. P. 51-60.
10. Smith R.M. Retention indices scales used in HPLC. In Retention and Selectivity in Liquid Chromatography. Ed. R.M. Smith. J. of Chromatography Library. 1995. V. 57. P. 93-144.
11. Retention indices as the most reproducible retention parameters in reversed phase HPLC. Calculation for hydrophilic phenolic compounds using reference n-alkyl phenyl ketones / I.G. Zenkevich (et. al.) // J. Liquid Chromatogr. & Related Technol. 2005. V. 28. P. 2141-2162.
12. 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.
13. Зенкевич И.Г., Никитина Д.А., Деруиш А. Особенности образования и хроматографического детектирования гидратов органических соединений // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76, № 4. С. 331-341.
14. Корнилова Т.А., Деруиш А., Зенкевич И.Г. Рекуррентная аппроксимация параметров удерживания как способ подтверждения образования гидратов N-замещенных сульфонамидов в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ // Аналитика и контроль. 2020. Т. 24, № 4. С. 315-322.
15. Зенкевич И.Г., Никитина Д.А., Корнилова Т.А. Рекуррентная аппроксимация параметров удерживания N-замещенных п-толуолсульфонамидов в обращенно-фазовой ВЭЖХ для выявления образования их гидратов // Журн. физич. химии. 2021. Т. 95, № 9. С. 1414-1425.
16. Zenkevich I.G., Derouiche A., Nikitina D.A. Detection of organic hydrates in reversed phase high performance liquid chromatography using recurrent approximation of their retention times // J. Liquid Chromatogr. Related Technol. 2021. V. 00. № 00. P. 000-000.
17. Peterson M.L., Hirsch J. A calculation for locating the carrier gas front of a gas-liquid chromatogram // J. Lipid Res. 1959. V. 1. P. 132-134.

18. Hanai T. Structure-retention correlation in liquid chromatography // *J. Chromatogr. A*. 1991. V. 550. P. 313-324.

19. Lochmuller C.H., Hui M. Calculated  $\log k_{ow}$  as a guide for key set mobile phase selection in retention prediction // *J. Chromatogr. Sci.* 1998. V. 36. P. 11-18.

20. Hanai T., Koizumi K., Kinoshita T. Prediction of retention factors of phenolic and nitrogen containing compounds in reversed-phase liquid chromatography based on  $\log P$  and  $pK_a$  obtained by computational chemical calculation // *J. Liquid Chromatogr. & Related Technol.* 2000. V. 23. P. 363-385.

21. Glaginis C., Tsantili-Kakoulidou A. Current state of the art in HPLC methodology for lipophilicity assessment of basic drugs. A review // *J. Liquid Chromatogr. & Related Technol.* 2008. V. 31. P. 79-96.

22. Liang C., Qiao J.-G., Lian H.-Z. Determination of reversed-phase HPLC based octanol-water partition coefficient for neutral and ionizable compounds: methodology evaluation // *J. Chromatogr. A*. 2017. V. 1528. P. 25-34.

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

24. Зенкевич И.Г. Гомологические инкременты газохроматографических индексов удерживания как характеристика полярности органических соединений // *Журн. общей химии*. 2019. Т. 89, № 3. С. 331-341.

## REFERENCES

- Kovats' Retention Index System. In *Encyclopedia of Chromatography*. Ed. J. Cazes. 3<sup>rd</sup> Edn. Boca Raton, CRC Press (Taylor & Francis Group), 2010, pp. 1304-1310.
- The NIST Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH EI MS Library, 2020 Release). *Software/Data Version; NIST Standard Reference Database*, Number 69, May 2020. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899: <http://webbook.nist.gov> (Accessed: November 2021).
- Golovnya R.V., Arsenčev Yu.N. [System of retention indices and its physicochemical application]. *Uspekhi Khimii [Russ. Chem. Rev.]*, 1973, vol. 42, no. 12, pp. 1034-1059. doi: 10.1070/RC1973v042n12ABEH002783.
- Mitra G.D., Saha N.C. Theory of the linearity of retention index with column temperature. Its versatility and importance in gas chromatography. *Chromatographia*, 1973, vol. 6, pp. 93-103.
- Bangjie C., Shaoyi P. The temperature dependence of retention indices in gas chromatography. *Chromatographia*, 1988, vol. 25, pp. 731-734.
- Boneva S., Dimov N. Unified retention indices of hydrocarbons separated on dimethylsilicone OV-101. *Chromatographia*, 1986, vol. 21, pp. 697-700.
- Skrbic B.D. Unified retention concept – statistical treatment of Kovats retention index. *J. Chromatogr. A*, 1977, vol. 764, pp. 257-264. doi: 10.1016/s0021-9673(96)00955-7.
- Smith R.M. Alkyl aryl ketones as a reference index scale in liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1982, vol. 236, pp. 313-320. doi: 10.1016/S0021-9673(00)84880-3.
- Smith R.M., Finn N. Comparison of retention index scales based on alkyl aryl ketones, alkan-2-ones and 1-nitroalkanes for polar drugs on reversed-phase HPLC. *J. Chromatogr. A*, 1991, vol. 537, pp. 51-60. doi: 10.1016/S0021-9673(01)88885-3.
- Smith R.M. Retention indices scales used in HPLC. In *Retention and Selectivity in Liquid Chromatography*. Ed. R.M. Smith. Ser. J. Chromatogr. Library, 1995, vol. 57, pp. 93-144. doi: 10.1016/S0301-4770(08)60615-6.
- Zenkevich I.G., Kochetova M.V., Larionov O.G., Revina A.A., Kosman V.M. Retention indices as the most reproducible retention parameters in reversed phase HPLC. Calculation for hydrophilic phenolic compounds using reference n-alkyl phenyl ketones. *J. Liquid Chromatogr. & Related Technol.*, 2005, vol. 28, pp. 2141-2162. doi: 10.1080/JLC-200064000.
- Smith R.M. Retention indices in reversed-phase HPLC. *Advanced in chromatography*. J.C. Giddings, E. Grushka (Eds.). Boca-Raton: CRC Press, 2021, pp. 277-319. doi: 10.1201/9781003209027.
- Zenkevich I.G., Nikitina D.A., Derouiche A. Formation and chromatographic detection of organic compounds hydrates. *J. Analyt. Chem. (Rus.)*, 2021, vol. 76, no. 4, pp. 493-502. doi: 10.1134/S1061934821040146.
- Kornilova T.A., Derouiche A., Zenkevich I.G. [Recurrent approximation of retention parameters as confirmation of N-substituted sulfonamides hydrate formation in reversed phase HPLC]. *Analitika i Kontrol' [Analytics and Control]*, 2020, vol. 24, no. 4, pp. 315-322. doi: 10.15826/analitika.2020.24.4.006. (In Russian).
- Zenkevich I.G., Nikitina D.A., Kornilova T.A. Recurrent approximation of retention parameters of N-substituted p-toluenesulfonamides in reversed-phase high performance liquid chromatography for revealing the formation of their hydrates. *Rus. J. Phys. Chem. A*, 2021, vol. 95, no. 9, pp. 1923-1933. doi: 10.1134/S0036024421090326.
- Zenkevich I.G., Derouiche A., Nikitina D.A. Detection of organic hydrates in reversed phase high performance liquid chromatography using recurrent approximation of their retention times. *J. Liquid Chromatogr. Related Technol.*, 2021, vol. 00, no. 00. pp. 000-000. doi: 10.1080/10826076.2021.1998905.
- Peterson M.L., Hirsch J. A calculation for locating the carrier gas front of a gas-liquid chromatogram. *J. Lipid Res.*, 1959, vol. 1, pp. 132-134.
- Hanai T. Structure-retention correlation in liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1991, vol. 550, pp. 313-324. doi: 10.1016/S0021-9673(01)88547-2.
- Lochmuller C.H., Hui M. Calculated  $\log k_{ow}$  as a guide for key set mobile phase selection in retention prediction. *J. Chromatogr. Sci.*, 1998, vol. 36, pp. 11-18.
- Hanai T., Koizumi K., Kinoshita T. Prediction of retention factors of phenolic and nitrogen containing compounds in reversed-phase liquid chromatography based on  $\log P$  and  $pK_a$  obtained by computational chemical calculation. *J. Liquid Chromatogr. & Related Technol.*, 2000, vol. 23, pp. 363-385. doi: 10.1081/JLC-100101457.
- Glaginis C., Tsantili-Kakoulidou A. Current state of the art in HPLC methodology for lipophilicity assessment of basic drugs. A review. *J. Liquid Chromatogr. & Related Technol.*, 2008, vol. 31, pp. 79-96. doi: 10.1080/10826070701665626.
- Liang C., Qiao J.-G., Lian H.-Z. Determination of reversed-phase HPLC based octanol-water partition coefficient for neutral and ionizable compounds: methodology evaluation. *J. Chromatogr. A*, 2017, vol. 1528, pp. 25-34. doi: 10.1016/j.chroma.2017.10.064.
- Zenkevich I.G., Ioffe B.V. *Interpretation of mass spectra of organic compounds [Interpretatsia mass spektrov organicheskikh soedinenii]*. Leningrad, Khimia Publ, 1986, 176 p. (In Russian).
- Zenkevich I.G. Homologous increments of gas chromatographic retention indices as characteristic of organic substances polarity. *Rus. J. General Chem.*, 2019, vol. 89, no. 3, pp. 369-377. doi: 10.1134/S1070363219030010.