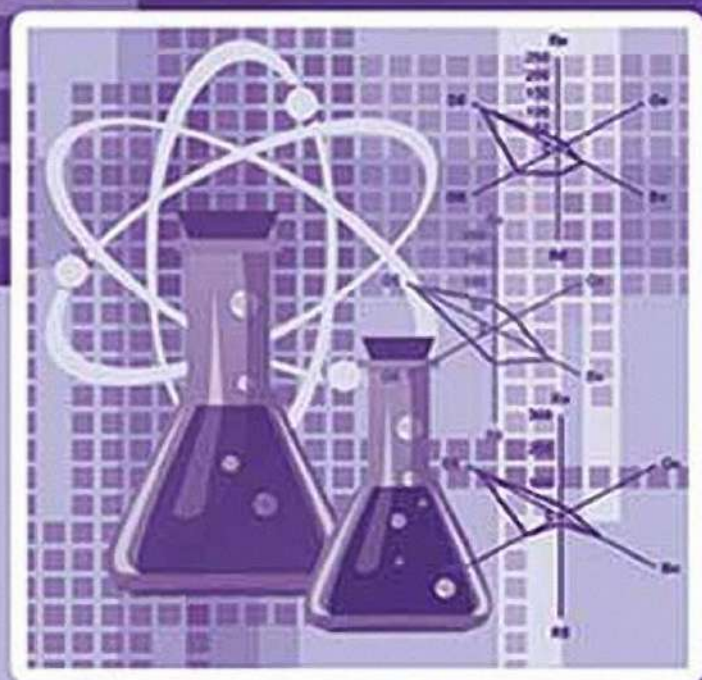


А. В. РУДАКОВА, О. Б. РУДАКОВ

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В АНАЛИТИЧЕСКОМ КОНТРОЛЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ



Л. В. РУДАКОВА,
О. Б. РУДАКОВ

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В АНАЛИТИЧЕСКОМ КОНТРОЛЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Монография

Издание второе, исправленное



• САНКТ-ПЕТЕРБУРГ • МОСКВА • КРАСНОДАР •
2021

ББК 24.4

Р 83

Рудакова Л. В., Рудаков О. Б.

Р 83 Информационные технологии в аналитическом контроле биологически активных веществ: Монография. — 2-е изд., испр. — СПб.: Издательство «Лань», 2021. — 364 с.: ил. — (Учебники для вузов. Специальная литература).

ISBN 978-5-8114-1870-1

В монографии рассмотрены возможности применения информационно-аналитических систем, цифровых технологий, унифицированных критериев, интегральных показателей и алгоритмов их использования для усовершенствования инструментальных методик химического анализа растворов биологически активных веществ, показаны примеры решения с помощью информационно-аналитических систем задач идентификации и проверки подлинности многокомпонентной продукции с вариативным составом, описаны способы обработки многопараметрического аналитического сигнала, получаемого от мультисенсорных, хроматографических или спектроскопических систем.

Книга содержит богатый справочный материал и может представлять интерес не только для аспирантов и студентов естественнонаучных, медицинских, инженерных профилей подготовки в качестве учебного пособия, но и для специалистов, работающих в соответствующих областях науки и промышленности.

ББК 24.4

Издается в авторской редакции

Рецензенты:

К. К. ПОЛЯНСКИЙ — доктор технических наук, профессор кафедры коммерции и товароведения Воронежского филиала Российского экономического университета им. Г. В. Плеханова, заслуженный деятель науки РФ;

А. В. КАЛАЧ — доктор химических наук, доцент, зам. начальника Воронежского института государственной противопожарной службы МЧС России.

Обложка

Е. А. ВЛАСОВА

© Издательство «Лань», 2021

© Коллектив авторов, 2021

© Издательство «Лань»,

художественное оформление, 2021

Введение

Информационные технологии широко используются не только в науке, но и в повседневной аналитической практике, лежат в основе прогресса современных инструментальных методов контроля продукции.

Информационные технологии имеют дело с использованием компьютеров и программного обеспечения для создания, хранения, обработки данных, для передачи и получения информации в необходимом виде посредством цифровых технологий. Разработка ИТ-решений различного уровня сложности на всевозможных платформах, в частности информационно-экспертных и информационно-аналитических систем для различных методов химического анализа является одной из приоритетных задач современной аналитической химии, над которой активно работают целые научные школы. Применение информационно-аналитических систем позволяет совершенствовать метрологические и технико-эксплуатационные характеристики методик контроля качества и стандартизации продукции, обеспечивать эффективное методическое, метрологическое и математическое сопровождение химического анализа, в том числе методик контроля БАВ.

В связи с наличием большого количества альтернативных валидизированных методик требуются достоверные критерии оценки их качества, безопасности и надежности. Необходимо создание процедур оптимизации технико-эксплуатационных, потребительских характеристик методик на основе количественных критериев качества, набора правил, алгоритмов и баз данных, объединенных в информационные системы.

В настоящее время в инструментальном анализе БАВ доля электрохимических методик составляет около 10%, спектрофотометрических – 60%, а методик с применением ВЭЖХ – 30%. Чтобы минимизировать расходы и трудозатраты на разработку новых методик, повысить экологическую безопасность рабочего места аналитика и лаборатории в целом при выполнении инструментального анализа в последнее десятилетие активно разрабатываются экспертные и информационно-аналитические системы (ИАС), позволяющие по установленным правилам, с минимальным предварительным экспериментом находить подходящие условия выполнения анализа. Как правило, в инструментальных методах анализа в процессе пробоподготовки ана-

лит переводят в раствор. В аналитическую ячейку детектора аналит подается в виде водного, водно-органического или неводного раствора. Оптимизация технико-эксплуатационных свойств индивидуальных и смешанных растворителей, применяемых в химическом и фармацевтическом анализе, остается актуальной проблемой.

Острой проблемой контроля качества продукции из натурального сырья является ее фальсификация, востребованными остаются задачи усовершенствования методов идентификации многокомпонентных смесей вариативного состава и построение на их основе контрольных карт и ИАС, а также внедрение цифровых технологий для повышения эффективности тест-анализа качества продукции.

При создании, совершенствовании и унификации методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления актуальным является формирование новых принципов регистрации и обработки аналитического сигнала. В этом плане перспективным направлением является применение цифровых технологий, в частности, использование возможностей цифрового видеосигнала. Методики, разработанные на основе использования цифровых устройств, экономичны, экспрессны, не требуют специальной подготовки и высокой квалификации оператора, документируются в электронном виде.

Монография написана доктором химических наук Рудаковой Л.В., заведующей кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии Воронежской государственной медицинской академии, специалистом в химическом и фармацевтическом анализе, а также доктором химических наук Рудаковым О.Б., заведующим кафедрой химии Воронежского государственного архитектурно-строительного университета, специалистом в области инструментальных методов исследования материалов.

В книгу включены материалы обзоров и публикаций оригинальных исследований, выполненных авторами совместно, докторской диссертации Рудаковой Л.В. по теме: «Химический анализ биологически активных веществ на основе информационных технологий» (ВГУ, Воронеж, 2013), а так же доработанные и дополненные главы из книги Суровцева И.С., Рудаковой Л.В. и Рудакова О.Б. «Информационные системы и цифровые технологии в аналитике и контроле биологически активных веществ» (ВГАСУ, Воронеж, 2013), вышедшей тиражом 150 экз. и ставшей раритетом, едва появившись на полках библиотек.

Глава 1. Принципы создания и функционирования информационно-поисковых и экспертных систем в аналитической и фармацевтической химии

1.1. Классификация информационно-поисковых и экспертных систем

В настоящее время исчерпывающая общепринятая классификация информационно-поисковых (ИПС), информационно-аналитических (ИАС) и информационно-экспертных систем (ИЭС) отсутствует, несмотря на то, что в разных областях науки и техники в России за последние 10 лет защищено более 100 диссертационных работ. Приведем ссылки лишь на некоторые работы, выполненные в последние годы [1-7].

В широком смысле любая информационная система (ИС) есть совокупность технического, программного и организационного обеспечения, предназначенная для своевременного обеспечения пользователей необходимой информацией. Федеральный закон РФ от 27 июля 2006 г. № 149-ФЗ «Об информации, информационных технологиях и о защите информации» даёт следующее определение: «информационная система – совокупность содержащейся в базах данных информации и обеспечивающих ее обработку информационных технологий и технических средств», т.е. ИС должна включать в себя базы данных (БД), систему управления базами данных (СУБД) и прикладные программы для решения задач в конкретной предметной области [8,9].

Классификация информационных систем по архитектуре. ИС могут быть организованы таким образом, что все компоненты (БД, СУБД, клиентские приложения) работают на одном компьютере или распределены по нескольким. Первые получили название настольных (*desktop*) или локальных ИС; последние называют распределёнными (*distributed*). Среди них различают файл-серверные ИС (база данных находится на файловом сервере, а СУБД и клиентские приложения – на рабочих станциях) и клиент-серверные ИС (база данных и СУБД находятся на сервере, а на рабочих станциях находятся клиентские приложения). Клиент-серверные ИС классифицируют на *двухзвенные* и *многозвенные*. В двухзвенных (*two-tier*) ИС пользователи с клиентских приложений непосредственно обращаются к серверу, на котором находятся БД и СУБД. Многозвенные (*multi-tier*) ИС включают в себя промежуточные «звенья»: серверы приложений (*application*

servers), к которым обращаются пользовательские клиентские приложения и через них взаимодействуют с СУБД.

Классификация ИС по степени автоматизации. Возможна частичная автоматизация ИС (такие системы называют автоматизированными) и полная (автоматические ИС).

Классификация ИС по характеру обработки данных. В зависимости от принципа обработки данных ИС подразделяются на два типа. Информационно-справочные или информационно-поисковые (ИПС) не содержат сложных алгоритмов обработки данных, целью таких систем является поиск и представление информации в удобном для пользователя виде. ИПС обработки данных или решающие ИПС предполагают наличие алгоритмов для анализа и обработки данных. К таким системам можно отнести автоматизированные системы управления и системы поддержки принятия решений (СППР).

Система поддержки принятия решений (*Decision Support System*) – компьютерная автоматизированная ИС, целью которой является содействие в принятии решения в сложных условиях при проведении полного и объективного анализа предметной деятельности. СППР возникли в результате слияния управленческих ИС и систем управления БД. Для проведения анализа и разработки итоговых предложений в СППР используются различные подходы. Такие как информационный поиск и поиск знаний в БД, интеллектуальный анализ данных, ситуационный анализ, имитационное и когнитивное моделирование, рассуждение на основе прецедентов, эволюционные вычисления и генетические алгоритмы, нейронные сети и др. Некоторые из этих методов были разработаны в рамках теории искусственного интеллекта (ИИ). Если в основе работы СППР лежат методы ИИ, то говорят об интеллектуальной СППР. Близким к СППР классом систем являются экспертные системы (ЭС).

Классификация ИС по сфере применения. Задачей ИС является удовлетворение информационных потребностей пользователей в рамках конкретных предметных областей. Соответственно, каждой предметной области или сфере применения соответствует свой тип ИС. В аналитической химии находят широкое применение ИПС – программно-аппаратные комплексы, предоставляющие возможность поиска справочной информации. Программной частью ИПС является *поисковая машина* – комплекс программ, обеспечивающий функциональность поисковой системы. Наиболее распространены ИПС для опознания соединения по его спектру. Например, задача ИПС по мо-

лекулярной спектроскопии – отобрать из соответствующей БД эталонные спектры, подобные спектру пробы. Методология такого поиска обсуждена в [10-12]. Эти ИПС сталкиваются с 6-ю типичными поисковыми ситуациями: 1) эталонный спектр аналита есть в БД, условия регистрации его близки к условиям регистрации спектра исследуемой пробы; 2) эталонный спектр аналита есть в БД, но получен в иных условиях регистрации; 3) эталонный спектр есть в БД, но он недостаточно высокого качества; 4) анализируемая проба является смесью компонентов, спектры которых есть в БД; 5) анализируемая проба является индивидуальным веществом, но его эталонный спектр отсутствует в БД, в которой, тем не менее, есть похожие спектры гомологов, изомеров и других структурных аналогов аналита; 6) эталонные спектры структурных аналогов аналита в БД отсутствуют.

Независимо от того, с какими спектрами работает ИПС, реализуются 5 стадий поиска: ввод запроса (спектра пробы и априорной информации о ней); предварительный отбор наиболее подходящих эталонных спектров; количественное сопоставление степени сходства спектров; формирование ответа на запрос, в котором ИПС выдает ранжированный перечень эталонных спектров, максимально похожих на спектр пробы. Перечень ограничивается с помощью априорно заданных граничных условий (критериев).

Большой интерес для химиков-аналитиков представляют также *информационно-аналитические системы* – автоматизированные системы, позволяющие экспертам быстро анализировать большие объемы данных. Иногда в состав ИАС включают систему сбора данных. Данные делятся на 3 вида – структурированные числовые данные (показатели), справочники и неструктурированные текстовые данные. ИАС, содержащие информацию по физико-химическим свойствам аналитов, по спектральным, хроматографическим данным, условиям инструментального анализа и т.п. являются чрезвычайно востребованными [10-12].

Классификация ИС по охвату задач (масштабности): Различают персональную ИС, предназначенную для решения определенного круга задач только одного человека (рабочее место оператора); групповую ИС, ориентированную на коллективное использование членами рабочей группы или подразделения; и корпоративную ИС, которая должна охватывать информационные процессы всего предприятия, обеспечивая их полную согласованность.

Развитием ИАС и СППР являются *экспертные системы*, под которыми чаще всего понимают компьютерную программу, способную частично заменить специалиста-эксперта при решении проблемной ситуации. ЭС представляют собой прикладные системы искусственного интеллекта, в которых база знаний (БЗ) содержит формализованные эмпирические знания экспертов в конкретной предметной области. ЭС предназначены для замены экспертов при решении задач; заменой, обусловленной возможным недостаточным количеством или недостаточной оперативностью экспертов в решении задачи или иными причинами, связанными с человеческим фактором. ЭС начали разрабатываться исследователями ИИ в 1970-х годах, а в 1980-х получили коммерческое подкрепление и в настоящее время интенсивно развиваются в прикладных областях [13-45], т.е. ЭС – яркое и наиболее активно развивающееся направление исследований в области искусственного интеллекта. Отличительная их черта – способность накапливать знания и опыт квалифицированных специалистов в какой-либо области. Затем, применяя эти знания, пользователи ЭС, не имеющие необходимой квалификации, могут решать свои задачи почти столь же успешно, как это делают эксперты. Такой эффект достигается за счет того, что ЭС в своей работе приблизительно воспроизводит цепочку рассуждений человека-эксперта. В информатике ЭС рассматриваются совместно с БЗ как модели действий экспертов в определенных областях знаний с использованием процедур логического вывода и принятия решений. Похожие действия выполняют программы-мастера (*wizard*), которые применяются и в системных программах, и в прикладных для интерактивного общения с пользователем, как например, при установке ПО. Программы-мастера в отличие от ЭС не содержат БЗ; все действия в таких программах жестко запрограммированы. Фактически они представляют собой набор готовых форм для заполнения пользователем. Другие подобные им программы – это поисковые или справочные системы. Их функция – предоставлять по запросу пользователя наиболее подходящие (релевантные) разделы из *базы статей*, которая содержит представления об объектах различных областей знаний.

ЭС отличаются от решений задач по алгоритму тем, что не исключают пользователя из решения, оставляя за ним определяющую роль. При этом, однако, ЭС не являются пассивным источником полезной информации подобно справочнику или БД. ЭС предлагают возможные направления решения задачи, развивают цепочки умозак-

лючений, объясняя свои действия. В структуру ЭС включают интерфейс пользователя, самого пользователя, интеллектуальный редактор БЗ, эксперта, инженера по знаниям, рабочую (оперативную) память, БЗ, механизм вывода и подсистему объяснений.

База знаний – это основа интеллектуального обеспечения ЭС, представляющая собой совокупность программных средств, которые обеспечивают хранение, накопление, удаление, поиск, переработку и запись в память ЭВМ разнообразных моделей представления знаний в различных сложно структурированных формах. БЗ могут содержать модели 3 типов знаний: предметные знания, управляющие знания, и метазнания. *Предметные знания* – это совокупность декларативных и процедурных знаний предметной области. *Управляющие знания* – совокупность знаний о различных стратегиях принятия решений в предметной области. *Метазнания* – это знания о знаниях, которые в компьютерной форме хранятся в БЗ, и о процедурах, которые можно совершать со знаниями, хранящимися в БЗ. Метазнания применяются для адекватного выбора правил при текущем состоянии базы фактов. БЗ, предназначенные для сохранения экспертных знаний о различных предметных областях, используемых для решения задач ЭС, содержат статические сведения о предметных областях и правила анализа информации, поступающей от пользователя по конкретной проблеме. ЭС анализируют ситуацию и дают рекомендации по разрешению проблемы. БЗ создается при помощи 3 групп людей: экспертов той проблемной области, к которой относятся задачи, решаемые ЭС; инженеров по знаниям, являющихся специалистами по разработке ИС и программистов, осуществляющих реализацию ЭС.

База данных – это совокупность программных средств, обеспечивающих накопление, поиск, хранение и запись информационных единиц заданной структуры данных (массивы, файлы, списки и т.д.), используемых под управлением системы управления базами данных.

Машина логического вывода представляет собой механизм рассуждений, который оперирует знаниями и данными с целью получения новых данных из знаний и других данных, содержащихся в рабочей памяти. Для реализации этого механизма обычно используется программированный процесс дедуктивного логического вывода или механизм поиска решения в структуре фреймов или семантической сети. Реализовывать рассуждения машина логического вывода может в виде: дедуктивного вывода (прямого, обратного, смешанного); нечеткого вывода; вероятностного вывода; путем унификации.

Возможен ассоциативный поиск с использованием нейронных сетей; поиск решения с разбиением на последовательность подзадач; с использованием стратегии разбиения пространства; с учетом уровней абстрагирования всего решения или отдельных понятий, с ним связанных. Может использоваться принцип монотонного или немонотонного рассуждения, рассуждения с использованием механизма аргументации; а также вывод с применением механизма лингвистической переменной.

Для разработки ЭС используют те же самые языки и системы программирования, что и для обычных программ, но предпочтительным является использование таких языков ИИ, как *CLIPS* и *Пролог* (*Prolog*). Особенно перспективной для ЭС оказалась реализация языка *Пролог*.

В ЭС представление знаний выводится в виде продукционных правил и фреймов, могут использоваться также семантические сети и комбинированные (гибридные) представления. Каждый из этих подходов имеет свои преимущества и недостатки. Например, семантическая сеть хранит вместе всю связанную информацию, однако в ней затруднено построение выводов из этой информации. *Пролог* имеет готовый механизм для построения логических выводов, но не хранит связанную информацию вместе. Хранятся большие БЗ обычно на дисках, и только необходимая в рабочий момент часть – в оперативной памяти.

Создание эффективных БЗ для хранения правил или фреймов является актуальной задачей. Источниками знаний для ЭС являются учебная и справочная литература, данные экспериментальных исследований в проблемной области и т.п. Сами разработчики также могут иметь практический опыт и теоретические знания в данной области. Обязательным источником знаний при создании БЗ являются эксперты в данной предметной области. Для успешного создания БЗ необходима совместная работа математиков, программистов и специалистов в сфере применения. На настоящее время пока невозможно исключить человека из процесса формирования БЗ.

ЭС может функционировать в 2-х режимах: режиме ввода знаний, в котором эксперт с помощью инженера по знаниям вводит сведения о предметной области в БЗ; и в режиме консультации, когда пользователь сообщает ЭС сведения о текущей задаче и получает рекомендации от ЭС.

По принципам работы ЭС можно разбить на 2 типа.

Экспертная система на правилах. Во всех ЭС существует зависимость между входящим потоком данных и данными в БЗ. Во время консультации происходит сопоставление входных данных с данными в БЗ. Результатом этого сопоставления является отрицательный или утвердительный ответ. В системе, которая базируется на правилах, положительный результат является действием одного из продукционных правил, которые определяются входными данными. ЭС, базирующаяся на правилах, содержит интерпретатор в механизме вывода, который активизирует различные модули системы.

Чаще всего используется форма реализации БЗ путем представления знаний с помощью правил. С помощью продукционных правил можно описать любую систему знаний. Все ранние ЭС, а также подавляющее большинство современных ЭС в различных предметных областях были основаны на правилах. Это связано с тем, что продукционная форма представления знаний является естественным и удобным способом формализации знаний, полученных у эксперта.

Фрейм-структуры в некоторой степени являются развитием метода электронных таблиц применительно к области обработки знаний. Это 2-я по частоте встречаемости в реализованных ЭС форма представления знаний. Фрейм-структуры более эффективно использовать в предметной области знаний с чётко выраженной иерархической структурой.

Экспертные системы, базирующиеся на логике. В ЭС, базирующихся на логике, БЗ состоит из утверждений в виде предложений логики предикатов. Такие предложения могут группироваться, образуя БД. Правила могут либо описывать данные, либо управлять процессом внутренней унификации *Пролога*. ЭС, основанные на логике, также имеют множество правил, которые могут вызываться из входного потока. Важным аспектом для БЗ в этой системе является проектирование. Она должна иметь недвусмысленную логическую структуру и содержать минимальное количество избыточной информации.

ЭС классифицируют также по решаемой задаче. Различают ЭС для интерпретации данных, диагностирования, мониторинга, проектирования, прогнозирования, сводного планирования, обучения, управления, ремонта, отладки. Кроме того, по связи с реальным временем выделяют статические, квазидинамические и динамические ЭС.

Еще один аспект классификации ЭС – области их приложения. Наиболее широко используются ЭС в медицине, вычислительной технике, военном деле, микроэлектронике, экономике, экологии, геологии (поиск полезных ископаемых), математике, химической технологии, аналитической и фармацевтической химии, токсикологии, фармакогнозии и др. [13-45].

По степени сложности структуры ЭС делят на *простые* и *сложные*. *Простые* ЭС представляют знания в предметной области в виде продукционных правил, а *сложные* ЭС обладают способностью при возникновении неизвестной ситуации определять с помощью некоторых общих принципов и метазнаний, справедливых для предметной области, какие действия следует выполнить. На разработку *простой* ЭС с помощью ПК обычно тратят от 3 месяцев до 1 года, она включает БЗ, содержащую от 50 до 1000 правил. *Сложная* ЭС выполняется на специальной символьной ЭВМ, либо на мощной универсальной ЭВМ, либо на интеллектуальной рабочей станции; время разработки – от 1 до 5 лет; её БЗ содержит от 1500 до 10000 правил.

В настоящее время сложилась определенная *технология разработки ЭС*, которая включает несколько этапов.

- Идентификация проблем – формулируются задачи, подлежащие решению, определяются типы пользователей и цели разработки, назначаются эксперты.
- Извлечение знаний – проводится анализ содержания исследуемой проблемной области, выясняются используемые понятия и их взаимосвязь, определяются возможные методы решения задач.
- Структурирование знаний – определяются способы представления всех видов знаний и способы их интерпретации, формализуются основные понятия, моделируется функционирование системы, оценивается адекватность целям системы сформулированных понятий и методов решений, а также средств представления и управления знаниями.
- Формализация – наполнение экспертом базы знаний. Данный этап является наиболее важным и трудоемким этапом разработки ЭС, это связано с тем, что именно знания являются основой ЭС. Этот процесс осуществляется инженером по знаниям на основе анализа деятельности эксперта и его заключений по решению подобных реальных задач.
- Реализация ЭС – этап создания одного или нескольких прототипов ЭС, решающих требуемые задачи.

- Этап тестирования – производится оценка выбранного способа представления знаний в ЭС в целом.

По степени готовности к использованию и распространению различают 4 прототипа экспертных систем.

Демонстрационный прототип ЭС предназначен для демонстрации возможностей будущей ЭС, основных архитектурных решений, пользовательского интерфейса, для уточнения требований к пользовательскому интерфейсу и функциям, выполняемым ЭС, содержит неполную БЗ.

Исследовательский прототип ЭС предназначен для исследования направлений дальнейшего совершенствования ЭС и для пополнения БЗ, может использоваться для решения реальных задач в ограниченных пределах;

Промышленный прототип ЭС предназначен для использования в организации, для которой он был разработан, в нем возможны ограничения, условности, специализация, свойственные для данной организации;

Коммерческий прототип ЭС предназначен для широкого распространения, обладает гибкостью, удобством в эксплуатации, адаптируемостью к конкретным задачам и требованиям широкого круга пользователей.

Типичная ЭС, по мнению Мешалкина В.П., должна обладать следующими основными свойствами: компетентностью; способностью к рассуждениям; способностью решать нетривиальные неформализованные задачи из реальных предметных областей, способностью самосознания [13]. *Компетентность* ЭС заключается в том, что сгенерированные ЭС решения неформализованных задач должны быть такого же высокого качества, как и у эксперта в конкретной области знаний. *Способность к рассуждениям* при поиске оптимальных решений на основе переработки знаний, представленных в символьной форме на естественном языке, определяется тем, что ЭС должна уметь (как и эксперт) при поиске семантических решений обходиться без математических вычислений, проводя символьные рассуждения. ЭС должна иметь глубокие знания, т.е. *способность работать эффективно в узкой области знаний*, содержащей трудные, нетривиальные задачи.

1.2. Применение информационно-поисковых, информационно-аналитических и экспертных систем в химическом и фармацевтическом анализе

В аналитической, фармацевтической и токсикологической химии в настоящее время широкое применение получили ИПС и ИАС, основанные на использовании крупных БД, так называемых *банков коллективного пользования*. Такие БД и сопряженные с ними ИПС созданы для рентгенофазового анализа, ИК-спектроскопии, ЯМР- и масс-спектрометрии, а также для других спектральных, хроматографических и иных гибридных методов [10]. В качестве примеров можно привести БД *Chemical Abstracts* (CA), которая содержит авторефераты публикаций по химической тематике, в том числе по аналитической химии; БД *BEILSTEIN*, которая включает информацию не только о методах синтеза и реакциях, но и данные о свойствах органических соединений; БД *HSDB*, которая содержит информацию по токсичности и экологической безопасности химических веществ, а также о методах их обнаружения; БД *MERCK*, включающую краткое описание лекарственных средств, БАВ и природных продуктов; БД *HODOC*, содержащую данные по физико-химическим (температуры кипения, плавления, плотность, растворимость и т.п.) и спектральным свойствам (ИК-, УФ-, ЯМР- и масс-спектры) органических веществ; и наконец, БД *SPECINFO*, которая содержит информацию о спектрах ЯМР, а так же ИК- и масс-спектрах веществ [10]. Для химиков-аналитиков, занимающихся идентификацией органических соединений, больший интерес представляют базы *SPECINFO* и *HODOC*. Так, *SPECINFO* содержит более 65 тыс. масс-спектров, 80 тыс. ЯМР-спектров, 17 тыс. ИК-спектров, спектральная информация дана для 150 тыс. соединений.

Наряду с крупными БД универсального характера создаются БД *персонального пользования*, связанные, как правило, лишь с одним методом анализа, например, БД по хроматографическим свойствам индивидуальных и бинарных растворителей для ВЭЖХ [58], по спектроскопии в УФ и видимой области, по ЭПР-, КР-, атомно-эмиссионной и ОЖЭ-спектроскопии [10]. Информационные технологии в химическом и фармацевтическом анализе зачастую основываются на ПО для обработки результатов анализа и ЭС по сортировке и оценке результатов анализа [10, 46].

Краснов А.Е. с соавторами предложил несколько простых ЭС для оценивания качества жидких пищевых сред, ликероводочных изделий по совокупности их инструментальных и органолептических показателей, а также бензинов по ИК-спектрам [59]. Эти системы, не смотря на декларируемое отнесение к ЭС, следует отнести к ИАС, так как и размер БД, и количество алгоритмов и правил, реализованных в этих системах не велико.

Другой вариант БД персонального пользования – специализированная область применения. Например, БД *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons* [60], содержит информацию о 1730 наиболее распространенных БАВ, наркотиках, пестицидах и сильнодействующих веществах. Её БД включает данные не только о структуре, физико-химических и токсических свойствах веществ, но и ИК-, УФ-, ЯМР-, масс-спектры, цветные тесты, условия анализа методами ТСХ, ГЖХ и ВЭЖХ, библиографию и медицинский глоссарий.

Аналогичная, но более крупная БД *AHFS Drug Information* [61], созданная при поддержке American Society of Health-System Pharmacists, содержит более 1200 статей по 50 тыс. лекарственных средств, 75 тыс. ссылок и 50 тыс. гиперссылок на известный медицинский сайт PubMed.

Как для химиков-аналитиков, так и для фармацевтов представляет интерес БД *Stability-Indicating HPLC for Drug Analysis* [62], которая содержит информацию о валидированных методиках анализа 572 фармпрепаратов с применением ВЭЖХ. БД содержит 851 статью о 1028 методиках.

Наиболее известной ЭС является *CLIPS*, первые версии которой разработаны в 1984 г. в Космическом центре Джонсона (*Johnson Space Center*). *CLIPS* является широко используемой ЭС благодаря своей скорости, эффективности и бесплатности [14], она имеет дело с правилами и фактами и использует полноценный объектно-ориентированный язык *COOL* для написания ЭС. Популярной ЭС является *OpenCyc* – динамическая ЭС с глобальной онтологической моделью и поддержкой независимых контекстов [16]. В 2009 г. была запущена еще одна мощная ЭС *WolframAlpha* — база знаний с набором вычислительных алгоритмов [45]. Эта ЭС не возвращает перечень ссылок, основанный на результатах запроса, а вычисляет ответ, основываясь на собственной БЗ, которая содержит данные о математике, физике, химии, биологии, медицине, истории, географии и др. [45].

Приведем еще несколько примеров известных эффективных ЭС.

DENDRAL — ЭС для распознавания химических структур. Данная система старейшая, из имеющих название экспертных. Первые версии данной системы появились еще в 1965 г. в Стенфордском университете. Пользователь дает системе *DENDRAL* некоторую информацию о веществе, а также данные спектроскопии (ИК, ЯМР и масс-спектрометрии), и та в свою очередь выдает диагноз в виде соответствующей химической структуры [17].

META-DENDRAL — ЭС для распознавания структуры сложных органических молекул по результатам масс-спектрометрической фрагментации. ЭС помогает химикам определять зависимость масс-спектрометрической фрагментации от структурных особенностей молекул. Она осуществляет это, находя правила фрагментации для данного класса молекул. Система выводит эти правила из обучающих примеров, содержащих наборы молекул с известными трехмерными структурами и масс-спектрами. Вначале *META-DENDRAL* порождает совокупность весьма специфических правил, описывающих одиночный процесс фрагментации для конкретной молекулы. Затем она использует обучающие примеры для обобщения таких правил. Наконец, система пересматривает полученные правила, чтобы исключить избыточные или некорректные правила. Она была разработана в Стенфордском университете и доведена до уровня исследовательского прототипа.

Система *C-13* оказывает помощь химикам-органикам при определении структуры вновь выделенных природных соединений. *C-13* помогает химику анализировать спектры ЯМР ^{13}C , используя поиск посредством уточнения ограничений для определения взаимного расположения атомов и связей в сложных органических молекулах. В её БЗ содержатся правила, связывающие характеристики подструктур (связей) со спектральными характеристиками (данными ЯМР); они выведены автоматически по информации для известных молекулярных структур. ЭС *C-13* была разработана как часть проекта *DENDRAL* и соответствует принятой в *DENDRAL* парадигме «порождение и проверка». Она также разработана в Стенфордском университете и доведена до стадии демонстрационного прототипа [47].

Система *CONGEN* помогает специалистам по структурной химии определять наборы возможных структур неизвестных соединений. Химики предоставляют системе *CONGEN* спектроскопические и химические данные, перечень необходимых и запрещенных связей между атомами в соединении. *CONGEN* находит все возможные спо-

собы составления из атомов молекулярных структур, удовлетворяющих указанным ограничениям, и предоставляет в распоряжение специалиста-химика ряд структурных схем соединений, образующих исчерпывающий список таких структур-кандидатов. ЭС порождает структуры-кандидаты, используя разнообразные алгоритмы теории графов. И она была разработана в Стенфордском университете как часть системы *DENDRAL*. *CONGEN* используется в качестве генератора гипотез в системе *Heuristic DENDRAL*, она доведена до уровня исследовательского прототипа [48].

Система *CRYNALIS* определяет трехмерную структуру белка по распределению плотности электронов (EDM). Система интерпретирует результаты по дифракции рентгеновских лучей, включая информацию о положении и интенсивности рассеянных волн, и выводит атомную структуру. ЭС применяет знания о рентгеноструктурном анализе и составе белка, а также правила эвристики, чтобы с помощью анализа EDM получать и проверять гипотезы относительно правдоподобности предлагаемых белковых структур. *CRYNALIS* использует архитектуру типа доски объявлений, которая содержит независимые источники знаний и использует их для выдвижения и проверки многоуровневой структуры гипотез. ЭС разработана в Стенфордском университете и доведена до уровня исследовательского прототипа [48].

Система *GAI* производит анализ структуры ДНК по данным сегментирования молекул ДНК с помощью ферментов. В ЭС вводятся данные об усвоении ДНК ферментами, топологии, возможных погрешностях экспериментов и другие ограничения. После повторного порождения и отбрасывания структур-кандидатов, в конце концов, определяются наиболее вероятные структуры ДНК. Знания и эвристики, содержащиеся в *GAI*, представляют в сущности заимствованную из учебника биохимии теоретическую модель анализа ДНК с помощью ферментов-рестриктаз, дополненную знаниями о характере погрешностей, свойственных лабораторным определениям. *GAI* позаимствовала парадигму «порождения и проверки», использованную в *DENDRAL*. Гипотезы, предлагаемые программой-генератором, основаны на процедуре перечисления всех возможных решений. Система предоставляет пользователю возможность регулировать уровень допустимых противоречий, чтобы компенсировать незначительные объемы ошибочных данных. *GAI* разработана в Стенфордском университете и доведена до уровня исследовательского прототипа [48].

Система *MOLGEN* помогает генетику при планировании экспериментов по клонированию генов в молекулярной генетике. Этот процесс заключается в встраивании гена, кодирующего желаемый белок, в генетический аппарат бактерии, после чего бактерия сама начинает воспроизводить такой ген. ЭС использует знания по генетике и задачу, поставленную пользователем, чтобы создать общий план, а затем превратить его в последовательность конкретных лабораторных опытов. *MOLGEN* использует ориентированные на объекты и основанные на фреймах представление знаний и схему управления. Система разработана в Стенфордском университете. *MOLGEN* является удобным инструментом проверки подходов к проектированию системы планирования экспериментов по молекулярной генетике [48].

Система *SEQ* помогает специалистам по молекулярной биологии в проведении нескольких видов анализа нуклеотидных последовательностей. Эта система может запомнить, отыскать и анализировать последовательности нуклеотидов нуклеиновых кислот, а также выполняет статистический анализ структурной гомологии и симметрии. Схема поиска у *SEQ* может быть приспособлена к нуждам пользователя изменением значений параметров, принимаемых по умолчанию; например, биолог может менять веса штрафной функции. Она была разработана в виде части проекта *MOLGEN* в Стенфордском университете, дальнейшую ее разработку осуществила фирма Intellicorp. Она доведена до уровня коммерческой системы [48].

Система *GAMMA* помогает определять химический состав неизвестных материалов, интерпретируя спектры гамма-излучения, вызванного бомбардировкой материала нейтронами. Система выполняет анализ спектров, используя знания о характерных энергиях и интенсивностях излучения, испускаемого различными веществами [48].

Система *TQMSTUNE* точно настраивает квадрупольный масс-спектрометр (TQMS), интерпретируя такие характеристики сигналов от TQMS, как отношения величин спектральных пиков, их ширина и форма. Система использует знания о том, как изменяя настройку TQMS, можно повлиять на его чувствительность и форму спектров. Знания представлены с помощью фреймовых конструкций [48].

КОМПАС-МС – ЭС по масс-спектрометрии, основу которой составляет БД о масс-спектрах низкого разрешения и структурных формулах около 50000 органических соединений. В ЭС представлены полные спектры из отечественных и зарубежных источников. В сис-

теме реализовано 5 поисковых (*ПОИСК-1, ПОИСК-2, ПОИСК-А, ПОИСК-В, ПОИСК-АВ*) и 5 аналитических процедур (*ММБФ, ФРАГ, ГЕНС, СТАТ-А и СТАТ-В*) [10]. Процедуры *ПОИСК-1* и *-2* предназначены для отбора из БД соединений, удовлетворяющих заданному набору спектральных и физико-химических признаков (m/z ионов, молекулярная масса, элементный состав и структурный фрагмент и др.). *ПОИСК-А, -В, -АВ* предназначены для отбора из БД соединений со спектрами, наиболее близкими к спектру аналита. *ММБФ* определяет молекулярную массу и формулу аналита по масс-спектру, *ФРАГ* выявляет крупные структурные фрагменты аналита, *ГЕНС* генерирует на основе установленной информации возможные структуры аналита и ранжирует их по вероятностным критериям. *СТАТ-А* и *-В* анализируют спектры с целью выявления характеристических признаков. По мнению Вершинина В.И., система *КОМПАС-МС* не уступает другим известным коммерческим ИАС в области масс-спектрометрии (*MSSS, STIRS, PBM, SISCOM*) [10].

ХимАрт – мультиспектральная ЭС для решения структурных задач. Она включает БД типа «структура – спектр» по масс-спектрометрии (50 тыс. записей), ИК-спектроскопии (35 тыс.), ^1H ЯМР (44 тыс.), ^{13}C ЯМР (27 тыс.). Структурные формулы соединений в БД представлены в виде молекулярных графов. Система ищет в БД спектры, наиболее близкие спектрам аналита, выявляет структурные фрагменты аналита, определяет молекулярную массу и брутто-формулу [10].

С целью идентификации веществ по хроматографическим данным – параметрам удерживания в различных условиях (ГЖХ, ВЭЖХ, ионная хроматография) было разработано достаточно большое количество ИПС, ИАС и ЭС [10,58]. Наиболее продвинутой ЭС, используемой в аналитической ЖХ, является *DryLab* фирмы LC Resources Inc. [49-52]. Эта ЭС более 20 лет постоянно совершенствуется в результате интернационального и междисциплинарного сотрудничества большой группы ученых и достигла уровня коммерческого прототипа. *DryLab* имеет множество приложений в хроматографической лаборатории [49]. ЭС позволяет за короткое время оптимизировать разделение аналитов как в условиях обращенно-фазовой, так и нормально-фазовой ВЭЖХ, прогнозирует ошибкоустойчивость методики, моделирует удерживание в изократическом и градиентном режиме для бинарных и тройных ПФ, находит оптимум рН, ионной силы, оптимизирует температурную программу, определяет эффект влияния

замены колонки, размера частиц, объемной скорости потока. Одновременно можно варьировать обращенно-фазовый изократический состав и температуру, градиент состава и температуру, изократический и градиентный состав ПФ и величину рН. По образцовым измерениям параметров удерживания критической пары аналитов *DryLab* проектирует линейные или сегментированные градиенты. В настоящее время пакет *DryLab* адаптируют к капиллярному электрофорезу.

Экспертную систему *ChromSword Auto* предлагает фирма Agilent Technologies Inc [53-55]. Она ориентирована в первую очередь на оптимизацию условий ОФ ВЭЖХ. ЭС использует физико-химическую модель удерживания, основанную на свойствах или структурных формулах аналитов и характеристиках колонки. Она предназначена для минимизации числа опытов и оптимизации методик.

Известны разработки ЭС, адаптированных под накопление хроматографической информации и способных копировать изображение и отчеты в текстовые редакторы, HTML-редакторы и электронные таблицы. При этом сохраняется возможность редактировать хроматограмму (отчет, вид изображения, шкалу, нумерацию пиков и т.п.). В качестве примера такой ЭС можно назвать *Chrom Merge*, распространяемую фирмой LC Resources Inc. [56]. Она полностью совместима со средой Windows, с офисными пакетами программ MS Word и MS Excel. ЭС оперирует данными в формате Andi (*Analytical data interchange*) и конвертирует файлы в форматы 10 наиболее распространенных программ обработки хроматографических данных.

Другой полезной ЭС для ЖХ является *HPLC Column Manager 6*, предлагаемая фирмой Limathon Limited [57]. Она разработана для учета и контроля над работой колонок. В оболочке *HPLC Column Manager 6* фиксируются все данные о колонках. На основе внесенных данных по критериям, определенным пользователем, ЭС выдает рекомендации, какую колонку применить для разделения аналитов. В нее подключены 10 БД по типам сорбентов, поиску и устранению неисправностей, смешиваемости растворителей и т.д. ЭС совместима с БД *ChromView*, в которую включено около 5000 примеров анализа методом ВЭЖХ для 20000 аналитов.

Демонстрационный прототип ЭС по выбору оптимального бинарного элюента для ВЭЖХ с УФД и РМД, который учитывает до 9 физико-химических и технико-эксплуатационных параметров обращенной и нормальной ПФ (около 100 систем) и до 3 параметров ана-

лита предложил Рудаков О.Б. [58]. Прототип ИАС реализован в оболочке рабочей книги MS Excel.

Систему *IONCHROM* для аналитической ионной хроматографии разработал Долгонос А.М. [63-64]. Им был предложен методологический подход к анализу сложных ионных смесей с применением ЭС *IONCHROM*. Разработчики исходили из того, что проблема идентификации характеристической смеси сводится либо к одному из ниже перечисленных частных случаев, либо к их комбинации: 1) концентрация основного компонента смеси (макрокомпонента) во много раз превышает концентрацию аналита (микрокомпонента); 2) компонент присутствует в анализируемом растворе в количестве, меньшем, чем предел его обнаружения при анализе данным способом; 3) компонент в растворе представлен несколькими ионными формами, соответствующими различным степеням окисления; 4) в смеси присутствуют компоненты, времена удерживания которых при данных условиях разделения совпадают, и соответствующие им хроматографические пики накладываются; 5) в смеси присутствуют компоненты, времена удерживания которых различаются настолько, что они не могут быть определены в одних и тех же условиях эксперимента; 6) анализируемая проба содержит компонент, который не детектируется выбранным способом.

ЭС *IONCHROM* имитирует работу ионного хроматографа. Исходными данными для проведения расчетных экспериментов по программе являются реальные характеристики хроматографической системы и физико-химические константы, характеризующие компоненты элюента и пробы. *IONCHROM* позволяет решать три основные задачи математического моделирования: 1) прямая задача – построение теоретической хроматограммы; 2) обратные задачи двух типов – определение физико-химических характеристик ионов (или уточнение параметров хроматографической системы при сопоставлении теоретической и экспериментальной хроматограмм) и определение качественного и количественного состава анализируемого образца; 3) задача оптимизации – выбор наилучших условий разделения заданной ионной смеси с помощью выбранной хроматографической системы.

В процедуре анализа сложных смесей ЭС необходимы следующие шаги: 1) постановка задачи и выбор базового способа анализа объекта на основе первичной информации в соответствии с типом ионной смеси; 2) расчет теоретической хроматограммы (решение прямой задачи) и выбор наилучших условий разделения смеси; 3)

проведение хроматографического эксперимента в выбранных условиях; 4) сравнение экспериментальной и расчетной хроматограмм; 5) определение качественного и количественного состава объекта (решение аналитической обратной задачи) при совпадении хроматограмм; 6) при несовпадении хроматограмм – уточнение значений параметров хроматографической системы и физико-химических характеристик ионов (решение исследовательской обратной задачи) или уточнение типа характеристической смеси и корректировка аналитической задачи.

Применение ЭС в ходе анализа позволяет при минимальном числе экспериментов расширять при необходимости границы аналитической задачи, получая дополнительную информацию об объекте исследования на каждой итерации. В случае невозможности решения поставленной задачи с помощью заданной хроматографической системы следует вывод о необходимости найти дополнительный способ анализа. ЭС полезна и при создании новой методики: с ее помощью можно опробовать различные варианты условий разделения характеристических компонентов, меняя такие параметры, как емкость разделяющего сорбента, состав и рН элюента, ионная форма сорбента-подавителя, скорость элюирования, объем вводимой пробы и т. д.

Таким образом, ИПС, ИЭС, ИАС и ЭС являются неотъемлемой частью рабочего места современного химика-аналитика, фармацевта. Они позволяют с повышенной надежностью, эффективностью и меньшими затратами времени, трудовых и материальных ресурсов решать как рутинные задачи идентификации и количественного инструментального анализа, так и сложные исследовательские задачи, связанные с разработкой новых методик, с идентификацией неизвестных многокомпонентных систем и т.п.

1.3. Статистико-математические методы контроля и оптимизации многофакторных процессов и многокомпонентных составов

Контроль и оптимизация многофакторных процессов и продукции многокомпонентного состава обязательно включает в себя математическое моделирование, системный анализ и статистическую и хемометрическую обработку больших массивов данных [65-68]. Эти модели заключены в современные пакеты программ, в которых производятся расчеты, либо в оболочке которых создаются авторские программы для решения конкретных аналитических или технологи-

ческих задач в области производства и контроля качества фармацевтической продукции. Существует несколько математических моделей поиска оптимального решения для многокомпонентных или многофакторных систем [68-73,75-79]. Зачастую возникает необходимость в прогнозировании ситуации, в поиске оптимального решения.

1.3.1. Обобщенные показатели качества

Измерительные шкалы. Разработка и эксплуатация ИПС, ИАС и других сложных систем, реализация технологий получения и методик контроля продукции предполагает оценку качества систем, процессов и методик. В основе любой оценки лежит процесс сопоставления величин качественных и количественных параметров исследуемой системы значениям соответствующих шкал. Все используемые шкалы принадлежат к одному из нескольких типов, различающихся перечнем допустимых операций с помощью этих шкал[75-77].

Самой низкой по уровню качественной шкалой является *номинальная (шкала наименований, классификационная шкала)*, она соответствует простейшему виду измерений, при котором значения шкалы используются только как не связанные ничем имена объектов.

Ранговая или шкала порядка используется для описания множеств, состоящих из монотонно возрастающих допустимых преобразований шкальных значений. Такого типа порядковый тип шкал допускает не только различие объектов как номинальный тип, но и может быть использован для упорядочения объектов по измеряемым свойствам.

Важным типом шкал является *шкала интервалов*. Для этих шкал характерно сохранение неизменных отношений интервалов. Примером такой шкалы является шкала температур. Переход от одной шкалы к эквивалентной, например, от шкалы Цельсия к шкале Фаренгейта, задается линейным преобразованием шкальных значений. Так же, как номинальная и порядковая, шкалы интервалов сохраняют различие и упорядочение измеряемых объектов, также они сохраняют и отношение расстояний между парами объектов.

Шкала отношений отражает отношения свойств объектов, т.е. показывает во сколько раз свойство одного объекта превосходит это же свойство другого объекта. Например, в какой бы системе единиц ни производилось измерение масс или длин объектов, их отношение

при переходе от одной числовой системы к другой, эквивалентной, не меняется.

Шкалы разностей применяют в тех случаях, когда необходимо оценить, насколько один объект превосходит по определенному свойству другой. В этих шкалах остаются неизменными разности численных оценок свойств. Шкалы разностей сохраняют отношения интервалов между оценками пар объектов, но не сохраняют отношения оценок свойств объектов.

Абсолютными называют шкалы, в которых существует только одно отображение эмпирических объектов в числовую систему, их применяют для измерения количества объектов. В качестве шкальных значений используются натуральные или действительные числа. Абсолютные шкалы являются частным случаем рассмотренных выше типов шкал, поэтому сохраняют любые соотношения между числами и оценками измеряемых свойств объектов.

Характеристики функционирования систем. Системы создаются, как правило, для реализации одной или ряда операций. Требуемый и реально достигаемый результат могут различаться. Поэтому при оценке систем принято различать их *качество* и *эффективность* реализуемых процессов.

Обобщенным показателем качества является вектор, компоненты которого – показатели его отдельных свойств. Это именно векторная величина, а не простое множество частных показателей, поскольку между отдельными свойствами могут существовать связи, которые сложно учесть в рамках теории множеств. Частные показатели имеют различную физическую природу и в соответствии с этим различную размерность. Поэтому при образовании обобщенного показателя качества оперируют не с «натуральными» показателями, а с их нормированными значениями, обеспечивающими приведение показателей к одному масштабу, что необходимо для их сопоставления.

Требуемое качество системы задается правилами (граничными условиями), которым должны удовлетворять показатели существенных свойств, и оцениванием качества системы является проверка их выполнения. Т.о., критерий качества – это показатель существенных свойств системы и правило его оценивания.

Критерий оптимальности – это признак, на основании которого производится сравнительная оценка возможных решений (альтернатив) и выбор наилучшего. Содержание критерия оптимальности объ-

ективно обусловлено многими факторами: экономическими и техническими аспектами, масштабами решений.

Принцип оптимальности заимствован из математического программирования и теории управления. Он активно используется в экономической и инженерной науках. Настало время широкого внедрения этого принципа в практику химического и фармацевтического анализа и фармакогнозии.

Критерий оптимальности призван помочь обосновать решение, облегчить сравнительную оценку альтернатив. Для дискретной оценки можно применять не только порядковую, но и метрическую шкалу, которая позволяет установить количественно, насколько одна альтернатива лучше другой. Показатель может представлять собой число, характеризующее то или иное свойство системы, представленное в типичной для него размерности.

В экономической практике часто сравнивают альтернативы, различающиеся конечными результатами и затратами типа "лучше, но дороже", "дешевле, но хуже". Результаты характеризуются несколькими показателями. Задачи подобного типа относят к задачам векторной оптимизации. При этом компонентами вектора являются показатели, характеризующие степень достижения отдельных целей.

Основной причиной трудностей, которые приходится преодолевать при формировании критерия оптимальности, является объективная необходимость сравнения вариантов решений по нескольким несоизмеримым показателям. При этом нельзя считать лучшим вариант, когда один показатель невозможно дальше увеличивать, не уменьшая значения хотя бы одного из остальных. Коэффициент оптимальности должен позволять сравнивать варианты, когда один из показателей (одна из компонент вектора) возрастает, а другой уменьшается.

Наилучшее качество функционирования системы обеспечивается таким набором параметров, при котором целевая функция принимает максимальное или минимальное значение. В этом случае возникает задача оптимизации, которую можно записать в общем виде следующим образом:

$$f(x_1, x_2, \dots, x_n) \rightarrow \max (\min).$$

Такая задача получила название *задачи безусловной оптимизации*. Чаще всего изменение параметров не может быть произвольным, а должно подчиняться определенным законам, которые задаются в виде равенств или неравенств, что соответствует *задаче условной оп-*

тимизации. Она включает в себя условие экстремизации *целевой функции* и описывает все количество ограничений в виде равенств и в виде неравенств.

В системном анализе приняты два постулата.

Во-первых, считается, что не существует системы, наилучшей не зависимо от лица принимающего решение. Всегда система может быть наилучшей лишь для данного лица, другое в таких условиях может предпочесть альтернативную систему. Во-вторых, считается, что нет оптимальной системы для всех целей и любых условий, она может быть эффективна только для конкретной цели и в конкретных условиях.

Поскольку большинство частных показателей качества связаны между собой так, что повышение качества системы по одному показателю ведет к понижению качества по другому, приходится выбирать для каждой характеристики не оптимальное значение, а меньшее, но такое, при котором и другие показатели тоже будут иметь приемлемые значения.

К обобщенным показателям качества относят *обобщенные критерии желательности*, *обобщенные критерии оптимальности* и *обобщенные целевые функции*, о которых речь пойдет ниже.

1.3.2. Критерий желательности Харрингтона

Применение классических методов оптимизации для многофакторных процессов сдерживается комплексным характером этих процессов, описываемых большим количеством выходных величин. Для этих случаев в химической технологии и биотехнологии достаточно часто применяют *критерий желательности Харрингтона*. За основу в этой методике поиска оптимального решения берется D-функция Харрингтона [71]. Она предназначена для решения многопараметрической задачи, где для множества функций отклика y_1, y_2, \dots, y_n (параметров оптимизации) производится свертка в одну обобщенную функцию полезности D (*desirability function*), что позволяет комплексно установить приоритет влияния разных факторов, приведя массив однотипных данных к единому универсальному параметру. Процесс поиска решения осуществляют в 2 этапа: 1) перевод значений функций отклика y_i к частным функциям полезности $d_i=f(y_i)$, находящимся в диапазоне 0-1 (наиболее сложный, требующий корректной субъективной оценки); 2) объединение значений d_i в комплекс-

ный показатель D (расчетная операция). Согласно Харрингтону, математическая процедура выполняется по формуле:

$$D = \sqrt[m]{\prod_{i=1}^m d_i}, \quad (1.1)$$

где D – искомая функция, для которой справедливо условие $0 \leq D \leq 1$.

В соответствии с процедурой оптимизации для каждого параметра находят минимально и максимально желаемые значения (y_{min} и y_{max}), которым присваивают минимальное и максимальное значения частного критерия желательности d_i . Абсолютно неприемлемым значениям y_{min} присваивают значение $d_{min}=0$, однозначно лучшей характеристике y_{max} присваивают $d_{max}=1$, в прочих случаях $d_{min}=0,2$, а $d_{max}=0,8$. Промежуточные значения находят, преобразовав Y_i в d_i по формуле

$$d_i = \exp[-\exp(-b_0 - b_1 y_i)]. \quad (1.2)$$

Для интервала $0.2 < d_i < 0.8$ величина $b_1 = 1,9758 / (y_{max} - y_{min})$, $b_0 = 1.4999 - b_1 y_{max}$.

Нелинейное преобразование y_i в d_i имеет особую важность, так как малому изменению свойства вблизи ограничивающего предела соответствует резкое изменение желательности. Таким образом, обобщенную функцию желательности находят как среднее геометрическое частных функций d_i : $D = (d_1 d_2 \dots d_n)^{1/n}$. Очевидно, что если хоть одно $d_i = 0$, то соответствующее $D = 0$. Диапазон значений $D = 1 \div 0.80$ определяет высшую оценку в рейтинге, $D = 0.80 \div 0.63$ – хорошую, $D = 0.63 \div 0.37$ – удовлетворительную, а $D = 0.37 \div 0$ – низшую оценку. Более детально шкала соответствия дана в табл. 1.1.

Таблица 1.1

Шкала соответствия функции желательности Харрингтона

Диапазоны значений D	Критерий оценки
0 ÷ 0.20	Очень плохо
0.20 ÷ 0.37	Плохо
0.37 ÷ 0.63	Удовлетворительно
0.63 ÷ 0.8	Хорошо
0.8 ÷ 1.0	Очень хорошо

Менчер усовершенствовал критерий желательности Харрингтона, расширив возможности D-функции за счет ввода весовых коэффициентов α . Формула (1.1) приобрела следующий вид:

$$D = \sum_{i=1}^m \alpha_i \sqrt[m]{\prod_{i=1}^m d_i^{\alpha_i}}, \quad (1.3)$$

где α_i – значения веса функции отклика y_i . Их величины должны находиться в диапазоне $0 < \alpha_i \leq 1$, где $i=1, 2, \dots, m$ (m – число параметров оценки).

Зависимость между весом и откликом такова, что чем он более выражен, тем больше вес данного параметра в списке. Наиболее существенному значению y_i присваивается значение 1. Таким образом, критерием эффективности при решении оптимизационной задачи является выражение:

$$D(y_1, y_2, \dots, y_m) \rightarrow \max.$$

Весовые коэффициенты α_i устанавливаются путем опроса экспертов, например, с помощью методики экспертных оценок.

Для различных функций отклика были установлены основные зависимости $d(y)$ и построены графики S-образных функций (в предположении, что функции непрерывные, монотонные). Таких графиков 6 (рис.1.1).

Незначительное изменение аргумента (участок A) не приводит к заметным изменениям функции, далее на участке B эта зависимость существенна, а в конце (участок C), при достижении предела она практически не влияет на результат.

Соответственно, для 6 случаев поведения функции Харрингтона-Менчера применяют различные расчетные выражения [69].

Практическое применение ассиметричных зависимостей может быть связано именно с подбором требуемой формулы для конкретного случая расчета.

Данный метод находит широкое практическое применение, особенно при анализе многофакторных процессов или многокомпонентных материалов и объектов [69,71,74].

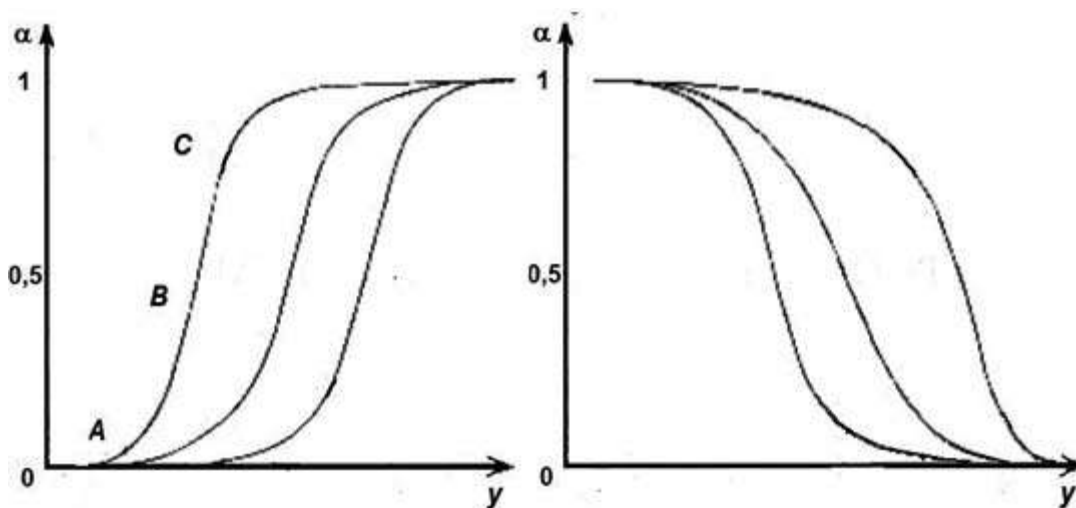


Рис. 1.1. Виды S-зависимостей функции Харрингтона-Менчера

1.3.3. Обобщенный критерий оптимальности

В экономических и технических расчетах применяют обобщенный критерий оптимальности, который рассчитывают по формуле [70,75,76]:

$$R_E = \sum_{i=1}^m a_i (x_i^s / x_i^w), \quad (1.4)$$

где R_E — значение критерия для s -го варианта (объекта, процесса, решения), a_i — коэффициент веса для i -го показателя, x_i^s — величина i -го показателя для s -го варианта объекта, x_i^w — нормирующее значение для i -го показателя (свойства гипотетического объекта, имеющего оптимальное значение i -го показателя), m — количество показателей. В качестве нормирующего значения для i -го параметра x_i^w в уравнении (1.4) на основе экспертного заключения берут оптимальные значения параметров, характерные для некоторых объектов из анализируемой выборки.

Поскольку в многопараметрической векторной оптимизации одни критерии максимизируются, другие, наоборот, минимизируются, следует учитывать эти векторы. Перед частными критериями, которые максимизируются, в уравнении (1.4) ставится знак «+», а перед минимизируемыми критериями — минус. Применение обобщенных критериев, полученных из выражения (1.4), позволяет легко проводить выборку объектов из БД и количественно их сопоставлять при заданных нормирующих значениях параметров и весовых коэффициентах.

1.3.4. Обобщенная целевая функция

Если известны функциональные зависимости «свойство – вариант (объект, процесс)» возможно применение не дискретных обобщенных критериев, а *обобщенных целевых функций*. Одной из возможных реализаций многопараметрической оптимизации является обобщенная целевая функция, которая записывается следующим образом [70, 75, 76]:

$$F_{об} = \sum_{k=1}^S \alpha_k \frac{F_k}{F_k^{норм}} \rightarrow \max, \quad (1.5)$$

где F_k – k -ая целевая функция, $F_k^{норм}$ – нормирующее значение k -ой целевой функции, S – число составляющих целевых функций, α_k – коэффициент веса k -ой целевой функции.

Перед составляющими целевой функции, которые максимизируются, ставится знак плюс, перед минимизируемыми – минус. Из (1.5) следует, что для формирования обобщенной целевой функции необходимо знать α_k и $F_k^{норм}$. Значения $F_k^{норм} = F_k^{\max}$, если имеют дело с максимизацией k -ой составляющей целевой функции, а при ее минимизации $F_k^{норм} = F_k^{\min}$.

Предложенный алгоритм обобщенной целевой функции затруднительно применять в чистом виде, без использования граничных условий, накладываемых на величину частных целевых функций, если все частные функции имеют линейный характер. В этом случае максимальное значение $F_{об}$ находится либо в начальной, либо в конечной точке анализируемого диапазона значений шкалы абсцисс. Эта функция наиболее удобна, если применяется при суммировании нескольких частных зависимостей, хотя бы одна из которых имеет нелинейный характер, минимум или максимум, расположенный в диапазоне $0 < x < 1$, где 0 и 1 – нормированные значения исходной и конечной точки отрезка, на котором имеется максимум $F_{об}$.

1.3.5. Методы математической обработки экспертных оценок

Как видно из выражений коэффициентов желательности Харрингтона–Менчера, обобщенных критериев и обобщенных целевых функций, важным элементом при оптимизации является назначение коэффициентов веса каждого оптимизируемого параметра (функции). Для определения весовых коэффициентов необходимо использовать

мнения и субъективные оценки экспертов. При ранжировании объектов эксперты могут расходиться в разных мнениях по решаемой проблеме, при этом возникает необходимость количественной оценки степени согласия экспертов.

Сущность *метода экспертного опроса* заключается в проведении экспертами интуитивно-логического анализа проблемы с количественной оценкой суждений и формальной обработкой результатов. Выполнение своих функций эксперт осуществляет на основе логического мышления, интуиции и собственного опыта в решении сходных проблем, поэтому большую роль играет его компетентность, знания и опыт.

Компетентность – степень осведомленности эксперта в определенной области знаний. Задача количественного определения этого свойства, безусловно, одна из наиболее трудно формализуемых, для ее решения используют 2 подхода: опрос одного эксперта об уровне собственной компетентности и группы экспертов о возможном составе группы.

Самым простым подходом является применение гипотезы о том, что компетентность эквивалентна такому понятию, как научный авторитет, который оценивается по числу публикаций, авторских свидетельств, наличия ученых степеней, званий и по занимаемым должностям. Но такой подход, как показала практика, оказывается не всегда правильным. Более объективной является методика получения коэффициентов компетентности, которые строятся на основании суждений эксперта о степени своей осведомленности по проблеме экспертизы с указанием источников, служащих аргументацией высказываемых экспертом предложений по решаемой проблеме.

Для 1-го подхода коэффициент компетентности находят по формуле

$$k=(k_u + k_a)/2, \quad (1.6)$$

где k_u – коэффициент информированности, полученный на основе самооценки эксперта по десятибалльной шкале, а затем умноженный на 0,1; k_a – коэффициент аргументации, полученный по эталонной таблице (табл. 1.2).

Эксперту выдают табл. 1.2, только без цифровых данных, в которых он отмечает, какой источник оценивает по градациям В, С, Н. После чего подсчитывают баллы; если $k_a=1$, то степень влияния высокая, если $k_a=0.8$ –средняя, $k_a=0.5$ соответствует низкой степени

влияния источника аргументации. Пределы изменения коэффициента компетентности эксперта – от 0 до 1.

Таблица 1.2

Образец эталонной таблицы

Источники аргументации	Степень влияния источника на Ваше мнение		
	В (высокая)	С (средняя)	Н (низкая)
Проведенный вами теоретический анализ	0.3	0.2	0.1
Ваш производственный опыт	0.5	0.4	0.2
Обобщение работ отечественных авторов	0.05	0.05	0.05
Обобщение работ зарубежных авторов	0.05	0.05	0.05
Ваше личное знакомство с состоянием дел за рубежом	0.05	0.05	0.05
Ваша интуиция	0.05	0.05	0.05

Другая процедура оценки компетентности эксперта, позволяющая избежать субъективности первого подхода, основана на групповом опросе экспертной группы о включении специалистов в состав группы. Если в список попадают лица, первоначально не включенные в состав экспертов, то в дальнейшем им тоже предлагается высказаться по составу экспертной группы. Результатом проведения опроса является матрица оценок, строки и столбцы которой, соответствуют экспертам. В качестве оценок используется двоичная переменная x_{ij} , которая равна 1, если j -й эксперт назвал i -го эксперта как возможного кандидата в состав экспертной группы, и 0, если j -й эксперт не назвал i -го эксперта как возможного кандидата в состав экспертной группы.

Дальнейшая обработка результатов заключается в получении относительных коэффициентов компетентности каждого эксперта, которая находится по формуле:

$$k_i^h = \frac{\sum_{j=1}^m x_{ij} k_j^{h-1}}{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m x_{ij} k_j^{h-1}}, \quad (1.7)$$

где m – число экспертов; k_j^h – относительный коэфф. компетентности h -го порядка j -го эксперта. Коэффициенты нормированы, их сумма равна 1.

Можно выделить еще ряд характеристик эксперта. Важным свойством эксперта является его *креативность*, т.е. способность решать творческие задачи. Оно оценивается на основании изучения предшествующей деятельности эксперта. К сожалению, не существует в настоящее время каких-либо алгоритмов, позволяющих выразить эту характеристику в количественном виде. *Конформизм* характеризует подверженность влиянию авторитетов, неустойчивость собственного мнения, особенно может проявляться, когда экспертный опрос проводится в форме открытой дискуссии. *Аналитичность и широта мышления* важны при решении сложных проблем, т.к. глубокие знания в узкой специализированной области могут порождать однобокий подход. *Конструктивность мышления* предполагает учет экспертом реальных возможностей решения проблемы для конкретных условий. *Коллективизм* – это свойство, которое важно при проведении экспертного опроса в форме открытой дискуссии для успешного решения проблемы. *Самокритичность* эксперта проявляется при самооценке уровня своей компетентности.

Поскольку часть характеристик эксперта может быть положительной, а часть – отрицательной, возникает проблема получения интегральной оценки, обобщенной характеристики эксперта, позволяющей, с одной стороны, описывать все его важнейшие качества, а с другой – допускающую количественное выражение. Чаще всего в качестве такой характеристики применяют *достоверность суждений* эксперта, которую можно выразить формулой $D_i = N_{II}/N$, $i=1, 2, \dots, m$; где N_{II} – число случаев, подтвержденных практикой; N – общее число случаев участия i -го эксперта в решении проблемы.

Таким образом, основными характеристиками группы экспертов являются *достоверность экспертизы* и *затраты* на нее. Оба фактора зависят от числа экспертов и их квалификации. Для проблем с высоким уровнем потенциала знаний увеличение количества экспертов приводит к монотонному возрастанию достоверности экспертизы. Существующие финансовые ограничения диктуют допустимое количество экспертов в группе и уровень их квалификации.

Разработано несколько вариантов *методов математической обработки и учета разброса экспертных оценок*. Поскольку свое мнение эксперты выражают не словами, а цифрами, оценки могут быть успешно алгоритмизированы и подвержены математическому анализу [70,75,76]. Рассмотрим 3 наиболее распространенных метода определения экспертных оценок.

Метод парных сравнений. Если при числе параметров $k > 3$ одновременная оценка всех параметров вызывает затруднения, их можно оценивать методом парных сравнений. Этот метод реализуется с помощью следующего алгоритма: 1) определяют число оцениваемых параметров k и число экспертов n (пусть $k=5$; $n=4$); 2) для каждого эксперта составляют отдельную таблицу (табл.1.3), в которой эксперт должен ввести оценку парных сравнений, которая заключается в следующем. Если k -ый параметр важнее j -го, то в ячейке, принадлежащей k -ой строке и j -му столбцу, указывается 1, иначе — 0. Пример заполнения такой таблицы i -тым экспертом приведен в табл. 1.3, из которой видно, что по оценке этого эксперта параметр А менее важен, чем параметр Б и Д, но более важен, чем В и Г.

Таблица 1.3

Пример заполнения таблицы экспертом при парных сравнениях

Параметры	Параметры					Сумма N_i
	А	Б	В	Г	Д	
А	×	0	1	1	0	2
Б	1	×	0	1	0	2
В	0	1	×	0	0	1
Г	0	0	1	×	1	2
Д	1	1	1	0	×	3
Общая сумма $\sum N_i$						10

Таблица 1.4

Базовая таблица оценки a_i методом парных сравнений

Эксперт	Параметры					Сумма a_i
	А	Б	В	Г	Д	
1	0.20	0.20	0.10	0.20	0.30	1
2	0.25	0.15	0.15	0.25	0.20	1
3	0.2	0.30	0.20	0.10	0.15	1
4	0.25	0.15	0.25	0.15	0.20	1
\bar{a}_i	0.23	0.20	0.18	0.18	0.21	1

В базовую таблицу для каждого критерия, определенного каждым экспертом заносится отношение $N_i/\sum N_i$. Искомый коэффициент веса равен среднему значению a_i (табл. 1.4). Метод основан на ис-

пользовании нескольких матриц, которые заполняются экспертами. Он не достаточно гибок, поскольку оценки жестко детерминированы попарным сравнением. Полученные при парном сравнении показателей итоговые коэффициенты веса не могут принимать произвольные значения и зависят от числа показателей и числа экспертов. Кроме того, важность некоторых показателей сложно сравнивать между собой попарно.

Метод оценки важности параметров в баллах позволяет более тонко регулировать коэффициенты веса и предоставляет большую степень свободы выбора для экспертов. При оценке важности параметров в баллах каждый эксперт оценивает параметры по 10-балльной системе. При этом оценка, назначаемая каждым экспертом каждому параметру, не связана с оценками, которые он же назначает другим параметрам.

Таблица 1.5

Пример определения экспертами a_i по 10-балльной системе

Эксперт	Оценка в баллах N_i				Сумма ΣN_i	Эксперт	$N_i/\Sigma N_i$			
	Параметры						А	Б	В	Г
	А	Б	В	Г						
1	6	7	5	7	25	1	0.24	0.28	0.20	0.28
2	10	8	4	9	31	2	0.32	0.26	0.13	0.29
3	5	7	6	8	26	3	0.19	0.27	0.23	0.31
4	7	9	5	7	28	4	0.25	0.32	0.18	0.25
5	8	6	4	6	24	5	0.33	0.25	0.17	0.25
						\bar{a}_i	0.266	0.276	0.182	0.276

Алгоритм определения экспертных оценок в баллах следующий: 1) формируется таблица (табл. 1.5), в которую вносятся оценки всех параметров в баллах, сделанные каждым экспертом; 2) осуществляется переход от оценок параметров в баллах к значениям коэффициентов веса, сумма которых для всех параметров равняется единице для каждого эксперта. В этом методе требуется меньшее число таблиц и межтабличных операций. При помощи 4-5 экспертов 10-балльная система позволяет точнее оценить разницу в значительности параметров, чем двухбалльный метод парных сравнений.

Метод непосредственного назначения коэффициентов веса. В этом методе каждый i -ый эксперт для каждого k -го параметра назначает коэффициент веса α_{ik} таким образом, чтобы сумма всех коэффициентов веса, определенных одним экспертом для различных параметров, равнялась единице. Это требование можно записать следующим образом: $\sum_{k=1}^k \alpha_{ik} = 1; i = \overline{1, n}$, где n — число экспертов.

Для определения a_i необходимо определить число параметров k , которые будут включены в обобщенный критерий (целевую функцию) и создать базовую таблицу (табл. 1.6).

Метод прямого назначения коэффициентов веса требует от каждого эксперта проводить сверку суммы коэффициентов веса “вручную”, что не способствует процессу алгоритмизации и автоматизации обработки результатов экспертизы.

Таблица 1.6

Базовая таблица для определения a_i прямым назначением

Эксперт	Параметры			Сумма $\sum N_i$
	A	B	C	
1	0.5	0.2	0.3	1.0
2	0.5	0.3	0.2	1.0
3	0.2	0.4	0.4	1.0
4	0.2	0.3	0.5	1.0
5	0.4	0.2	0.4	1.0
6	0.3	0.4	0.3	1.0
7	0.3	0.3	0.4	1.0
8	0.5	0.2	0.3	1.0
\bar{a}_i	0.36	0.29	0.35	1.0

Важным аспектом экспертизы является оценка согласованности или разброса решений экспертов. Для этого применяют коэффициенты вариабельности и конкордации.

Определение коэффициента вариабельности. Коэффициент вариабельности равен отношению стандартного отклонения к величине среднего $v = s_i / \bar{a}_i$. При $V < 0.2$ оценки экспертов можно считать согласованными. В случае $V > 0.2$ после дополнительного обсуждения важности оцениваемых параметров экспертизу проводят повторно.

Определение коэффициента конкордации. Для оценки согласованности мнений группы экспертов в настоящее время используют дисперсионный и энтропийный коэффициенты конкордации [73-76].

Дисперсионный коэффициент конкордации. Если существует матрица результатов ранжировки n объектов группой из m экспертов $\|r_{ij}\|$ ($j=1,...,m; i=1,...,n$), где r_{ij} – ранг, присваиваемый j -м экспертом i -му объекту, можно составить сумму рангов по каждому столбцу. В результате получается вектор с компонентами [73]:

$$r_i = \sum_{j=1}^m r_{ij} \quad (i=1,2,...,n). \quad (1.8)$$

Найдем оценку дисперсии. Будем рассматривать величины r_i как реализации случайной величины. Оптимальная по критерию минимума среднего квадрата ошибки оценка дисперсии определяется следующей формулой:

$$D = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (r_i - \bar{r})^2, \quad (1.9)$$

где \bar{r} – оценка математического ожидания, равная

$$\bar{r} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n r_i. \quad (1.10)$$

Дисперсионный коэффициент конкордации выражается отношением оценки дисперсии (1.9) к максимальному значению этой оценки

$$W = \frac{D}{D_{\max}}. \quad (1.11)$$

Коэффициент конкордации изменяется от 0 до 1, поскольку $0 \leq D \leq D_{\max}$.

Для вычисления максимального значения оценки дисперсии применяют выражение [73]

$$D = \frac{1}{n-1} \left[\sum_{i=1}^n \left(\sum_{j=1}^m r_{ij} \right)^2 - n \bar{r}^2 \right]. \quad (1.12)$$

Максимальное значение дисперсии достигается при наибольшем значении 1-го члена в квадратных скобках. Его величина существенно зависит от расположения рангов – натуральных чисел в каждой строке i . Если все m экспертов дали одинаковую ранжировку для всех n объектов, тогда в каждой строке матрицы $\|r_{ij}\|$ будут расположены одинаковые числа. В итоге суммирование рангов в каждой i -й строке дает m -кратное повторение i -го числа:

$$\sum_{j=1}^m r_{ij} = im. \quad (1.13)$$

Если предположить, что эксперты дают несовпадающие ранжировки, например, для случая $n=m$ все эксперты присваивают разные ранги одному объекту, тогда получаем:

$$\sum_{i=1}^n \left(\sum_{j=1}^m r_{ij} \right)^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{m(m+1)}{2} \right)^2 = \frac{m^2(m+1)^2 n}{4}. \quad (1.14)$$

Сравнение этого выражения с m^2 при $m=n$ показывает, что 1-й член в квадратных скобках формулы равен второму члену и, следовательно, оценка дисперсии равна нулю. Таким образом, максимальное значение оценки дисперсии соответствует случаю полного совпадения ранжировок экспертов.

$$D_{\max} = \frac{m^2(n^3 - n)}{12(n-1)}. \quad (1.15)$$

Введем обозначение

$$S = \sum_{i=1}^n \left(\sum_{j=1}^m r_{ij} - \bar{r} \right)^2. \quad (1.16)$$

Отсюда следует, что

$$D = \frac{1}{n-1} S. \quad (1.17)$$

Таким образом, коэффициент конкордации для случая отсутствия связанных рангов можно записать как:

$$W = \frac{12S}{m^2(n^3 - n)}. \quad (1.18)$$

Если в ранжировках имеются связанные ранги, коэффициент конкордации вычисляется по формуле [73]:

$$W = \frac{12S}{m^2(n^3 - n) - m \sum_{j=1}^m T_j}, \quad (1.19)$$

где

$$T_j = \sum_{k=1}^{H_j} (h_k^3 - h_k). \quad (1.20)$$

В формуле (1.20) T_j – показатель связанных рангов в j -й ранжировке, H_j – число групп равных рангов в j -й ранжировке, h_k – число равных рангов в k -й группе связанных рангов при ранжировке j -м экспертом. Если совпадающих рангов нет, то $H_j=0$, $h_k=0$ и, следовательно, $T_j=0$. Коэффициент конкордации принимает значение равное 1, когда ранжировки экспертов одинаковы, и равное нулю, если все ранжировки различаются, т. е. совпадения полностью отсутствуют.

Поскольку коэффициент конкордации представляет собой случайную величину, при числе объектов $n > 7$ оценка значимости коэффициента конкордации может быть произведена в соответствии с критерием χ^2 . При наличии связанных рангов χ^2 распределение с $\nu = n - 1$ степенями свободы будет иметь вид [73]:

$$\chi^2 = \frac{12S}{mn(n+1) - \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^m T_j}. \quad (1.21)$$

Энтропийный коэффициент конкордации (коэффициент согласия) определяется формулой [73]:

$$W = 1 - \frac{H}{H_{\max}}, \quad (1.22)$$

где H – энтропия, которая вычисляется по формуле

$$H = - \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m p_{ij} \log p_{ij}, \quad (1.23)$$

а H_{\max} – максимальное значение энтропии, p_{ij} – оценка вероятностей j -го ранга, присваиваемого i -му объекту.

Максимальное значение энтропия имеет при равновероятном распределении рангов:

$$H_{\max} = -\frac{1}{n} \log \frac{1}{n} \sum_{i,j=1}^n = n \log n. \quad (1.24)$$

Энтропийный коэффициент конкордации также изменяется от 0 до 1. Расположение объектов по рангам при $w_9 = 0$ равновероятно, поскольку в этом случае $H = H_{\max}$. Данная ситуация может быть обусловлена либо невозможностью ранжирования объектов по сформулированной совокупности показателей, либо полной несогласованностью мнений экспертов. Если все эксперты дают одинаковую ранжировку, то $w_9 = 1$, что достигается при $H = 0$.

При сравнительной оценке дисперсионного и энтропийного коэффициентов конкордации оказывается, что при близких ранжировках эти коэффициенты дают примерно одинаковую оценку согласованности экспертов. Однако, если представить случай, когда мнения группы экспертов разделились на противоположные, и ранжировка в одной подгруппе оказалась прямой, в другой – обратной, то дисперсионный коэффициент конкордации будет равен 0, а энтропийный коэффициент конкордации равен 0.7. Следовательно, исходя из величины энтропийного коэффициента конкордации, можно делать вывод о разделении мнений экспертов на 2 противоположные группы.

1.3.6. Методы свертки многопараметрической информации

Современные аналитические приборы через аналого-цифровой преобразователь связаны с компьютером, оснащенным специализированным ПО, которое позволяет собирать и обрабатывать большие массивы данных в виде цифровых сигналов. Спектр любой сложности, хроматограмму, набор аналитических сигналов от мультисенсорной системы, изображение и т.д. можно представить в виде массива чисел. Например, любую хроматограмму или ИК-спектр можно описать массивом из 1000-3000 чисел, а хромато-масс-спектр – из 600000 чисел [90]. Объемы информации многократно возрастают при анализе сигналов от мультисенсорных систем, 3D-хроматограмм, регистрируемых матричными детекторами и т.п.

Таким образом, актуальной задачей является свертка (редукция) и графическая визуализация многомерных данных для извлечения необходимой и достаточной аналитической информации. В связи с этим в аналитической химии в последние 15 лет стали активно внедряться хемометрические методы обработки результатов многопараметрических (многомерных) данных.

Методы хемометрики для работы с массивами данных подразделяют на 3 основные группы: 1) методы многомерного моделирования для градуировки при использовании неселективных методов (*одновременный многокомпонентный анализ*) и планирования эксперимента (метод поверхностей отклика); 2) методы группировки данных (*кластерный анализ* и проекционные методы, основным из которых является *анализ главных компонент*) для установления сходства между различными объектами – спектрами, химическими структурами, элементными и вещественными составами образцов; 3) *методы классификации*, т.е. отнесения объекта анализа к тому или иному классу.

Преимущество многомерных методов обработки результатов оперирование взаимосвязанными откликами, а не выделение единичных сигналов. Подход, при котором статистический анализ более чем одной переменной сводится к обработке каждой переменной в отдельности, характеризуется ограниченными возможностями, поскольку выводы о совокупности переменных, как правило, не могут быть получены из выводов о каждой переменной [84,85]. По отдельно взятым разрозненным аналитическим сигналам невозможно получить удовлетворительное аналитическое решение, т.е. хемометрическая обработка данных сводится к многомерной диагностической задаче,

когда только совокупное взаимодействие признаков отражает классификацию объектов на классы (группы) по актуальному критерию.

Таким образом, анализ многомерных данных используют в аналитической и фармацевтической химии для: описания данных (моделирование структуры данных); решения задач дискриминации и классификации; регрессионного анализа и предсказания. Наиболее интенсивно применяются *проекционные методы*, позволяющие уменьшить размерность данных, потеряв при этом наименьшее количество информации. Эти методы эффективны при распознавании образов, в реализации компьютерного зрения, сжатии спектральных, хроматографических и мультисенсорных данных [85-87].

Для описания и анализа структуры одноблочных массивов данных и их классификации чаще всего используется *метод главных компонент* (МГК), который позволяет разделить матрицу исходных данных на 2 части: «содержательную» и «шум». Вычисление главных компонент сводится к вычислению собственных векторов и собственных значений ковариационной матрицы исходных данных. В МГК группы аналитов распределяются в n -размерном пространстве в соответствии со схожестью и различиями экспериментальных данных. МГК – быстрый линейный способ обработки экспериментальных данных, альтернативный нелинейным методам распознавания.

По мнению химиков-аналитиков МГК эффективнее, чем другие методы модельного распознавания [86-89]. Применение МГК связано с созданием БД, отражением информации, заключенной в БД с применением наименьшего числа переменных – главных компонент (ГК), и визуализации взаимодействий (связей) между измеренными откликами. Первая главная компонента (ГК1) – это направление (ось), вдоль которой происходит наибольшее изменение исходных данных, это прямая, минимизирующая сумму квадратов расстояний от объектов до неё. Вторая и все следующие компоненты высших порядков (ГК2, ГК3,...) оказываются ортогональными первой и друг другу и лежат в направлении, вдоль которого происходит следующее по величине изменение значений переменных. Таким образом, МГК осуществляет разложение матрицы исходных данных на *сигнал* или *структурную часть* и *шум*. Размерность массива ГК, достаточного для определения измеряемого свойства, задается исследователем для каждой конкретной аналитической задачи. Если для описания массива признаков достаточно всего двух или трех ГК, данные можно представить графически и сгруппировать в классы визуально.

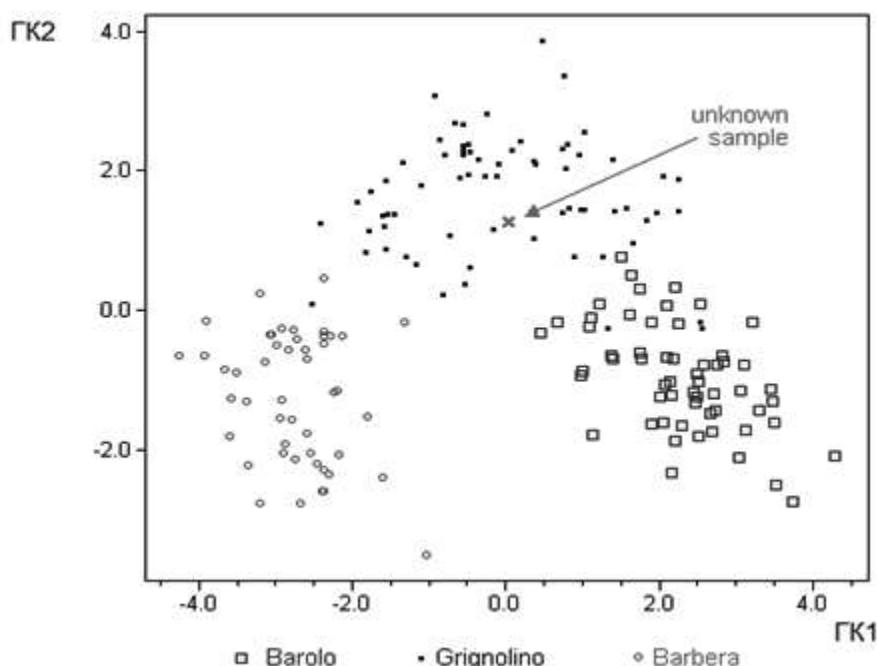


Рис.1.2. Пример идентификации МГК неизвестного образца вина

В качестве примера применения МГК в аналитической химии многокомпонентных систем на рис. 1.2 представлены итоги анализа пробы вина неизвестного происхождения, сопоставленные с данными для 3 видов вина: Grignolino, Barbera, или Barolo [90]. Чтобы установить аутентичность вина, был сделан его химический анализ по 15 переменным (концентрации этанола, метанола, полифенолов и т.д.). Предварительно были проанализированы 150 образцов проб 3 видов вина по тем же 15 переменным. На рис. 1.2 представлен массив данных, выделенный при помощи первых двух ГК, на котором четко различаются 3 отдельные области. Данные для неизвестного вина расположены в середине области, характерной для Grignolino, что позволяет отнести образец к этой марки вина.

Проекционные методы реализованы в нескольких специализированных пакетах, например, в программе *SIMCA*, разработанной компанией *Umetrics*, в пакете *Unscrambler* компании *Camo* [86]. В тройку самых популярных пакетов входит также *PLS ToolBox* компании *Eigenvector Research, Inc.* Многие проекционные методы реализованы в статистических пакетах общего назначения, таких как *Statistica*, *SPSS* и в ряде других [79-83]. В Хемометрическом центре Бристольского университета под руководством проф. Р. Бреретона [91] разработана надстройка *Multivariate Analysis Add-in* для *MS Excel*, обрабатывающая данные проекционными методами.

MatLab – один из наиболее мощных инструментов для анализа данных. По результатам опроса, проведенного на сайте www.chemometrics.it его используют до трети всех исследователей, тогда как программа *Unscrambler* применяется только 16% ученых. Главным недостатком *MatLab* является высокая цена ПО.

Другой метод группировки данных, который интересен для решения задач, поставленных в диссертационной работе – это *кластерный анализ* [79,81-83, 92-97]. Он предназначен для разделения объектов на заданное или неизвестное число классов на основании некоторого математического критерия качества классификации. В этом методе производят последовательную, шаг за шагом, группировку объектов на основании максимальной близости значений их признаков. В результате образуются группы объектов (кластеры), имеющие иерархическую структуру (рис. 1.3).

Большое количество возможных способов вычисления расстояния между отдельными наблюдениями, не меньшее количество методов вычисления расстояния между отдельными кластерами в процессе кластеризации и многообразие оценок оптимальности конечной кластерной структуры не позволяют предложить единую классификацию методов кластерного анализа. Наибольшее распространение в популярных статистических пакетах получили 2 группы алгоритмов кластерного анализа: иерархические агломеративные методы и итеративные методы группировки.

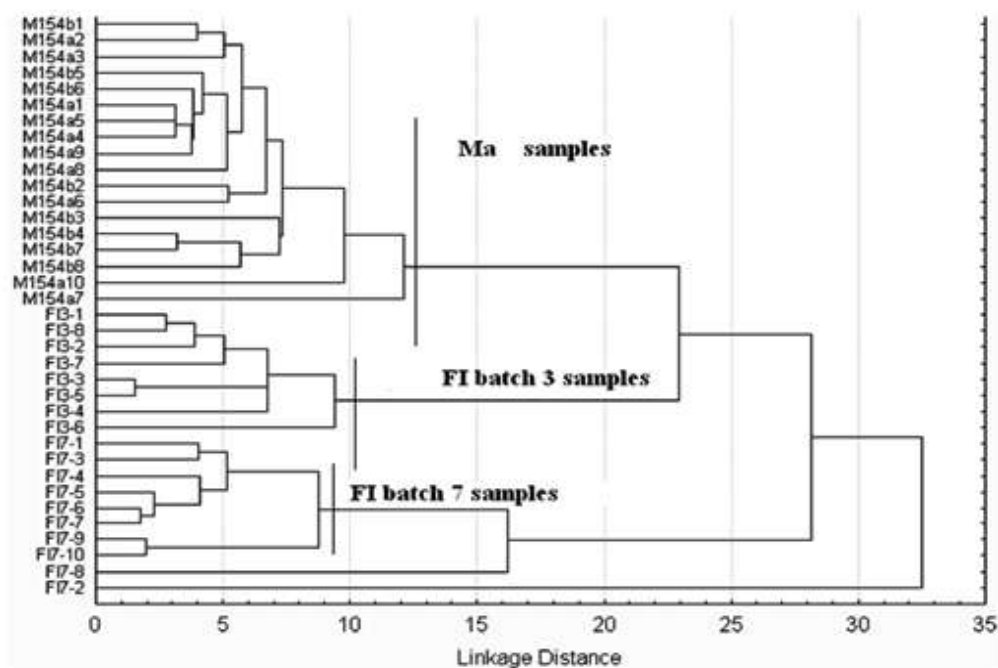


Рис. 1.3. Кластерный анализ продуктов пиролиза гексановых экстрактов *Symborogon citratus* Stapf., Poaceae [98]

Наиболее известный метод представления матрицы расстояний или сходства основан на идее дендрограммы. Дендрограмму можно определить как визуализатор, она показывает степень близости отдельных объектов и кластеров, а также наглядно демонстрирует в графическом виде последовательность их объединения или разделения. Количество уровней дендрограммы соответствует числу шагов слияния или разделения кластеров, на оси абсцисс расположена шкала, на которой откладывается расстояние между объектами в пространстве признаков. На первом шаге все объекты считаются отдельными кластерами, затем при каждом последующем шаге 2 ближайших кластера объединяются в один, в результате все объекты собираются в один кластер. Уровень кластеризации в каждом конкретном случае зависит от характера решаемой задачи. Для оценки степени близости объектов друг другу используют ту или иную меру расстояния между ними. Чем меньше расстояние между объектами, тем они более похожи. Матрица расстояний может быть получена с помощью разнообразных метрик: евклидовой, Махаланобиса, семейства метрик Минковского и т.д. Чаще всего применяют величину *евклидова расстояния*. Евклидовым расстоянием d_{ij} между объектами i и j называется величина

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_{k=1}^p (x_{ik} - x_{jk})^2} . \quad (1.25)$$

В кластерном анализе вместо меры различия часто используют *меру сходства* между объектами. Мера сходства между i -м и j -м объектами определяется как

$$S_{ij} = 1 - \frac{d_{ij}}{d_{ij}(\max)} , \quad (1.26)$$

где $d_{ij}(\max)$ есть максимальное среди всех значений d_{ij} . Для пары тождественных объектов $S_{ij} = 0$. Для максимально различающихся объектов $S_{ij} = 1$.

На рис. 1.3 в качестве примера приведены результаты кластерного анализа пирогамм образцов гексановых экстрактов из растительного сырья *Cymbopogon citratus* Stapf., *Poaceae*, полученных с использованием пиролизера, совмещенного с газовым хромато-масс-спектрометром. Растение *Cymbopogon citratus* Stapf., *Poaceae* используется в качестве БАД в виде чая. Кластерный анализ на основе расчета евклидовых расстояний показал единообразие состава всех образцов, поскольку продукты пиролиза обеих партий (154А и 154В) образуют единый кластер на расстоянии 12 (причем большинство об-

разцов группируются уже на расстоянии 9). Образцы *FI*, напротив, кластеризовались в 2 отдельных группы (каждая из которых образовалась на расстоянии 9), соответствующие партиям 3 и 7, демонстрируя большие различия от партии к партии. Один образец марки *FI* (партия 7, образец *FI7-2*) вовсе не группировался с остальными образцами той же партии, показав типовую неоднородность и межкластерное расстояние 32.

Факторный анализ также активно применяется для анализа и классификации данных, он ориентирован на интерпретацию имеющихся между признаками корреляций. Факторный анализ используется в случае совместного проявления в структуре экспериментальных данных тестируемого и иррелевантного свойств объектов, сопоставимых по степени внутренней согласованности, а также для выделения группы диагностических показателей из общего исходного множества признаков [80,84,94].

Другие способы уменьшения размерности данных – это метод независимых компонент, многомерное шкалирование, а также многочисленные нелинейные обобщения: метод главных кривых и многообразий, поиск наилучшей проекции (*Projection Pursuit*), нейросетевые методы «узкого горла», самоорганизующиеся карты Кохонена и др. [84]. Так, *самоорганизующаяся нейронная сеть (карта) Кохонена* выполняет проецирование многомерных данных в пространство меньшей размерности (обычно двумерное) и применяется обычно на практике при визуализации данных, чтобы человек смог "увидеть" наличие или отсутствие кластерной структуры в данных. Сами по себе нейронные сети задачу кластерного анализа и идентификации не решают, но позволяют выдвинуть гипотезы о наличии кластерной структуры и числе кластеров, зависимостях между значениями отдельных переменных.

1.3.7. Контрольные карты

Графической формой представления данных выборочного или периодического контроля является контрольная карта (КК). На ней отображают изменения уровня настройки и точности процесса, наносят значения статистических характеристик очередных выборок или проб, фиксируя также технологические параметры или режимы. Вместо технологических параметров наносят также параметры точности аналитического процесса, что допустимо, если рассматривать его как

процесс производства информации (т.е. данных анализа). Карты на материальном носителе (бумажной диаграмме и т.п.) теперь заменяются электронными носителями информации, в форме, удобной для введения в ЭВМ [77-81]. В текущем предупредительном контроле технологических процессов условиях могут быть использованы несколько разновидностей КК (рис. 1.4, 1.5).

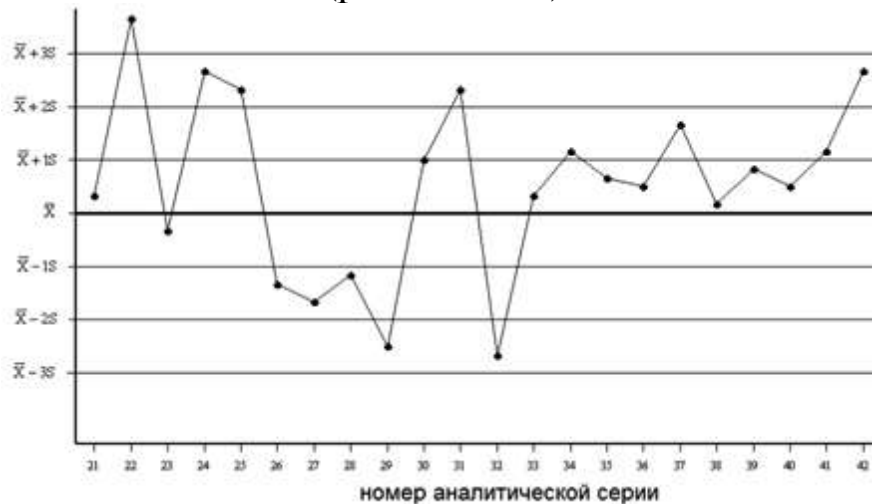


Рис. 1.4. Пример контрольной карты средних значений \bar{X} и выборочных стандартных отклонений S

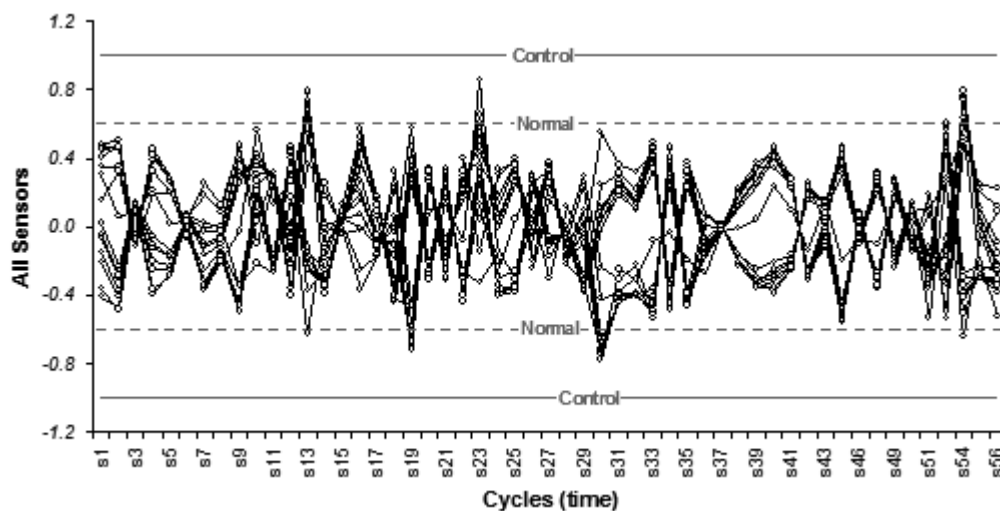


Рис.1.5. КК, фиксирующая аналитический сигнал нескольких сенсоров [91]

Впервые КК были предложены в 1924 г. Уолтером Шухартом (*Shewhart*). В настоящее время разработано и используется большое количество КК. Их можно разделить на три вида: карты Шухарта, приемочные и адаптивные карты. КК представляют собой наглядный графический метод оценки управляемости процесса исходя из результатов сопоставления измерений и заданных контрольных границ.

Классифицируются отклонения показателей качества по 2 видам. Это случайные отклонения, обусловленные например, колебаниями температуры или влажности, и неслучайные отклонения: смещение шкалы измерительного прибора, несоответствие сырья или иных технических условий, и другие систематические погрешности.

КК возможно применять как для анализа количественных данных, т.е. результатов измерений показателя качества, выраженных в числовой форме, так и для анализа данных, представленных в виде «альтернативного» вывода информации типа «да» или «нет». Для первого случая используют КК по количественному признаку, для второго случая – по альтернативному.

Простейшей КК Шухарта является карта для среднего (\bar{x}), предназначенная для управления по количественному признаку (ГОСТ Р 50.1.018-98, ГОСТ Р 50779.42-99). Соответствующее техническим условиям значение наносится на график в виде центральной линии. Проводятся измерения, из результатов которых формируются однородные выборки. Для каждой выборки вычисляют выборочное среднее значение и наносят на КК. Далее на карту наносятся контрольные границы, которые строятся относительно центральной линии на расстоянии, равном 3 среднеквадратическим отклонениям выборочных средних значений. В случае, когда экспериментальная точка выходит за контрольную границу, регистрируется факт сбоя или несоответствия.

В соответствии с ГОСТ Р 50779.42-99 на одном графике параллельно с построением карты среднего строится карта размахов (R) или карта выборочных стандартных отклонений (S). Карта среднего предназначена для обнаружения сбоя или разладки технологического процесса относительно настройки на параметр качества, обнаружения сбоя точности.

При использовании КК Шухарта по альтернативному признаку на карту долей несоответствующих единиц продукции наносят относительные доли бракованной продукции в выборках. В этом случае также строятся центральная линия и контрольные границы, но выход очередной точки за нижнюю границу означает особую причину улучшения технологического процесса, и требуется определить эту причину или благоприятное условие и зафиксировать.

Кроме указанных выше КК в соответствии с ГОСТ Р 50779.42-99 используются также КК Шухарта для медиан и размахов, карты числа несоответствующих единиц, карты числа несоответствий и

карты числа несоответствий, приходящихся на единицу продукции. Принципы построения перечисленных карт аналогичны выше рассмотренным.

КК арифметического среднего строится в соответствии с ГОСТ Р 50779.41-96. Эта карта сложнее, чем КК Шухарта по количественному признаку. Кроме контрольных границ на ней обязательно присутствуют и предупредительные границы. Если за предупредительную границу выходит отдельная точка, это не влечет никаких последствий, однако выход за эту границу определенного количества последовательных точек является сигналом к остановке технологического процесса. В остальном эта КК аналогична остальным КК Шухарта.

Приемочная КК по ГОСТ Р 50779.43-99 совмещает процедуру управления процессом с элементами приемочного выборочного контроля. Она позволяет принимать решение относительно приемлемости процесса с точки зрения нормативной доли несоответствующих единиц продукции.

Предложены КК для идентификации растительных и животных жиров по хроматографическим и физико-химическим данным [4], в которые включены нормативы по жирно-кислотному составу и интегральным показателям жиров (числам). Эти КК оказались удобными при экспертизе качества молочного жира, спредов и растительных масел [82].

1.4. Применение цифровых технологий в аналитическом контроле.

Компьютерные методы обработки цифрового сигнала

В аналитических приборах, совмещенных с компьютером, непрерывный аналоговый сигнал детектирующего устройства посредством АЦП преобразуется в дискретный цифровой сигнал, который затем обрабатывается с помощью специализированного или универсального ПО.

В качестве аналитического сигнала в последнее время широко применяют цифровой видеосигнал, то есть электронные изображения, полученные с помощью цифровых фотокамер, видеокамер, сканеров и т.п. Наибольшее распространение получило использование цифровых изображений в оптической и электронной микроскопии [100,101]. За последние 20 лет в компьютерной оптической и элек-

тронной микроскопии произошли значительные изменения, например, появились возможности построения двумерного изображения на основе трехмерного массива данных и разнообразные методы преобразования цифрового изображения на компьютере. Обработанные и преобразованные цифровые изображения, графические файлы являются по сути вторичным цифровым аналитическим сигналом.

1.4.1. Применение цифровой цветометрии в химическом анализе

Появление профессионального ПО для обработки цветных цифровых изображений дало возможность быстрого, объективного и автоматизированного способа оценки цветометрических характеристик окрашенных образцов и стимулировало развитие цветометрического метода (ЦМ), одного из оптических методов химического анализа [102].

На рис. 1.6 представлена классификация оптических методов, в которых определено место ЦМ. В этом методе в качестве аналитического сигнала применяют видеосигнал, то есть электрический сигнал, используемый для формирования, передачи и воспроизведения изображения в телевидении, фототелеграфии, компьютерной технике и др. Мгновенные значения видеосигнала несут информацию о яркости и/или цвете отдельных участков оптического изображения на светочувствительной поверхности оптоэлектрического преобразователя при считывании изображения (с целью его последующей передачи, обработки, хранения) или на экране электрооптического преобразователя при воспроизведении изображения. В ряде систем для создания изображений используют цифровые методы, обеспечивающие генерацию видеосигнала непосредственно в цифровой форме и воспроизведении изображения при подведении цифрового видеосигнала [103].

Для количественной оценки интенсивности излучения были созданы и постоянно совершенствуются цветоизмерительные системы. Развитию ЦМ способствовала потребность в определении состава сложных смесей красителей, используемых в текстильной и лакокрасочной промышленности.

Решение этой задачи позволило не только разработать компактные цветоизмерительные приборы, но и создать математический аппарат для расчета концентрационных зависимостей по параметрам цвета анализируемых проб [102].

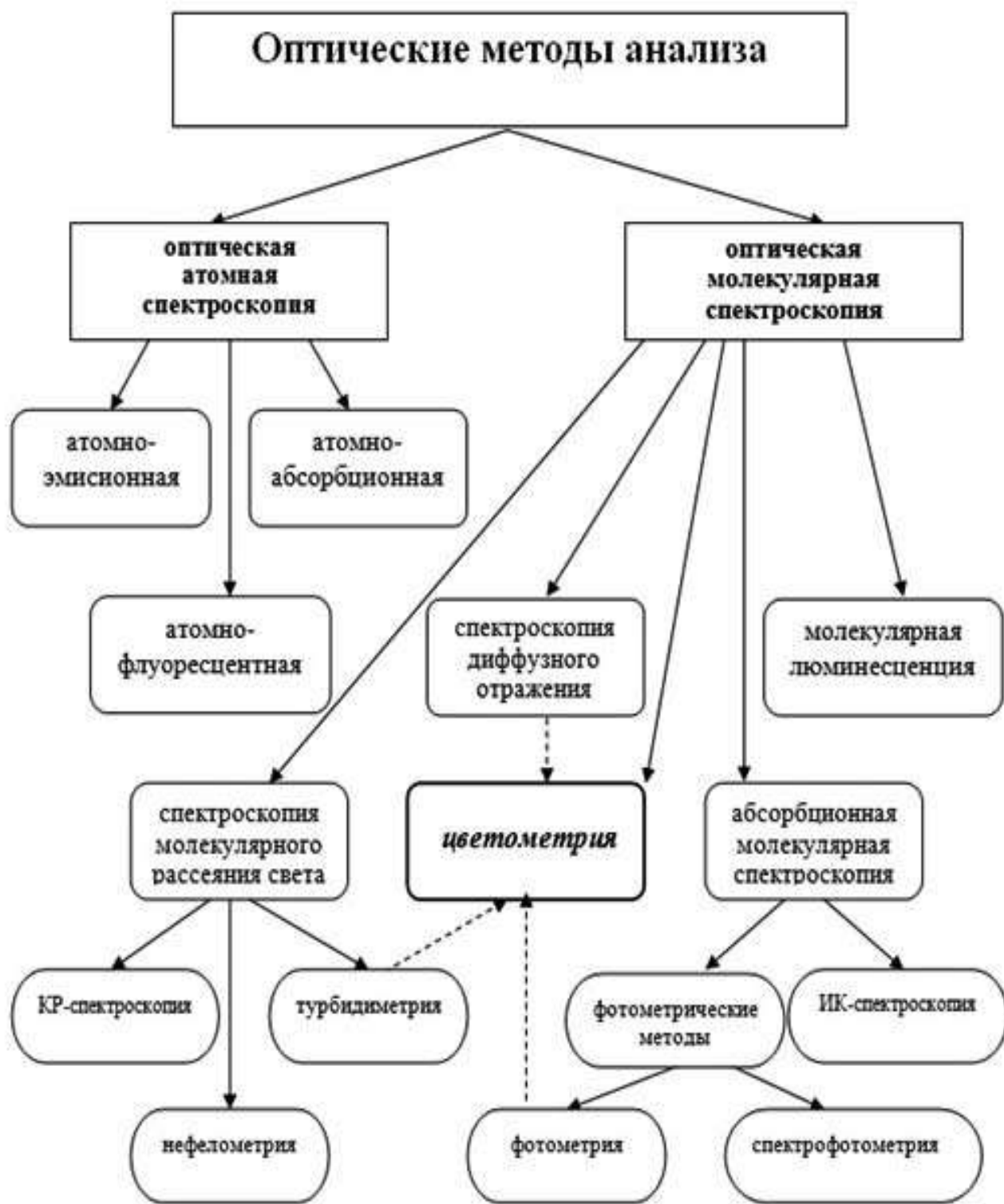


Рис. 1.6. Классификация оптических методов химического анализа

К настоящему времени опубликовано много работ, посвященных созданию систем визуального детектирования и обработке изображений, однако обобщающие труды в виде монографий, рассматривают главным образом традиционные способы измерения цвета и

обработки цветовой информации [102, 104, 105]. Аналитическим сигналом, связанным с концентрацией определяемого компонента, в ЦМ служат цветометрические характеристики электронного изображения анализируемого образца (координаты цвета в различных системах, светлота, насыщенность цвета, желтизна, белизна, цветовой тон и др.). В большинстве случаев эти характеристики рассчитывают на основе спектров поглощения или диффузного отражения с применением ПО для обработки спектральных данных. Преимущества ЦМ как аналитического метода заключаются в повышении чувствительности и селективности определения различных веществ в сорбционно-спектроскопических методах анализа, в возможности исследования аналитов не только в растворе, но и в фазе сорбента, а также при построении градуировочных тест-шкал для визуального определения компонентов в тест-методах анализа [102-106].

Одно из наиболее интересных практических приложений ЦМ – тест-методики (цветные тесты). Например, определение ионов металлов по цвету комплексного соединения, образуемого с тест-реагентом. Для кислотно-основных индикаторов фиксируют изменение цвета при варьировании рН среды. Изменение цвета бумаги (сорбента) после проведения реакции указывает на присутствие определяемого иона в пробе [102,152].

Возможности ЦМ с применением координат цвета проиллюстрированы в [107-108] на примерах создания селективных сорбционно-спектроскопических методик анализа. В работе [109] цветометрически определяли ионы металлов (Zn^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+}) в водном растворе с использованием тест-материалов на основе пленок модифицированной целлюлозы. В работах [107-115] изучена ЦМ с применением планшетных сканеров (ПС) и программы *Adobe Photoshop* для численной оценки интенсивности окраски веществ (например, свободного активного хлора, нитрит- и нитрат-ионов, додецилсульфата натрия, кобальта, салициловой, галловой, 4-гидроксibenзойной кислот, анилина, 1-нафтиламина и др. ароматических аминов и альдегидов фенолов, 1- и 2-нафтолов, индолов, природных красителей), в том числе сорбированных на немодифицированных и химически модифицированных пенополиуретанах и др.

По мнению Иванова В.М. [113], перспективным представляется применение цветометрических характеристик комплексов пирокатехинового фиолетового с различными металлами в присутствии ПАВ на поверхности ионообменников или нейтральных сорбентов с целью

повышения чувствительности определения и создания новых, более эффективных тест-шкал и оптических сенсоров. В [114] рассмотрено использование ЦМ как метода детектирования сигнала оптических химических сенсоров, действие которых основано на проведении реакций с хромофорными реагентами. Отмечено, что сочетание оптических сенсоров с ЦМ практически в одной операции реализует разделение, концентрирование и прямое определение веществ.

Для большинства лекарственных веществ существует набор цветных реакций и способ идентификации по микрокристаллоскопическим реакциям. Рекомендуемые реакции в большинстве случаев позволяют с помощью визуального детектирования устанавливать подлинность испытуемого препарата без предварительного отделения от других ингредиентов смеси. Микрокристаллический метод основан на получении кристаллов при испарении раствора на стекле или при взаимодействии раствора с реактивом. В результате образуется налет, состоящий из микрокристаллов вещества, форма которых определяется его природой и зависит от свойств растворителя, концентрации раствора и способа испарения и т.д. [116].

ЦМ на практике применяют как надежный способ контроля производства стоматологических составов, проверки единообразия покрытия таблеток и т.п. Наибольшее число работ посвящено использованию ЦМ для контроля производства пищевых продуктов, качества косметической и сельскохозяйственной продукции, в виноделии [102]. С помощью ЦМ исследовали кинетику изменения цвета яблок, бананов, свеклы и картофеля при высушивании, кинетику изменения цвета экстрактов натуральных пищевых красителей, соков и йогуртов при хранении [117]. ЦМ применяли для классификации различных видов меда, для контроля содержания соевых протеинов на цветовые характеристики продукта при производстве колбас [102]. В [115] рассмотрен метод предварительного определения цветовых характеристик растительного сырья с помощью ПС при получении пищевых красителей. Цвет считается важным показателем качества коньячных изделий, появились работы по его анализу с применением ЦМ [118]. В [119] предложен интересный подход для классификации на основе цифровых изображений, полученных в системе *RGB*, пищевой продукции (соус песто) с неоднородной матрицей. Авторы строят *колор-программы*, представляющие собой одномерный сигнал, описывающий цвет каждого изображения и состоящие из последовательности частотных кривых распределения 3 величин красного, зеленого и си-

него цветов, относительных параметров (оттенков, насыщенность, интенсивность) и значений анализа развернутого 3D-изображения с помощью МГК. На основе изменения цвета специальных индикаторов предложено оценивать свежесть и пригодность продуктов к употреблению [120]. Для этого используют специальный пигмент и защитный экран.

1.4.2. Цветовые модели для цифровых изображений

Цветовое воздействие видимого излучения на человеческий глаз изучено в настоящее время достаточно хорошо, однако субъективность визуальной экспертизы в век цифровых технологий является анахронизмом. Необходимо нахождение количественных взаимосвязей между цветом и свойством объекта, позволяющих по изображению оценивать качество продукции [121].

Приняты 2 основных способа измерения цвета, различающихся по методике расчета: по спектральному составу излучения и по числу парциальных цветов в смеси [102]. Согласно этой классификации, все цветоизмерительные приборы и методики расчета координат цвета условно разделяют на 2 типа: 1) координаты цвета рассчитывают по спектральному составу излучения анализируемого соединения; 2) на основании измеренной общей функции сложения цветов (нередко соответствующей чувствительности фотоэлементов) сразу получают координаты цвета определяемого компонента.

Существует множество цветовых моделей, разработанных для представления и описания цвета на компьютере. Наиболее часто в цифровых технологиях используются *RGB*, *CMYK*, *XYZ*, *HSB* и *CIELAB* [122].

Модель RGB. Математическое описание цвета в этой модели базируется на том, что любой цвет можно представить в виде суммы определенных количеств 3 линейно независимых цветов: красного (*R*), зеленого (*G*) и синего (*B*), т.е. 3 монохроматических излучений с длинами волн 700, 546.1 и 435.8 нм соответственно [102]. Эта модель является самой распространенной. Интегральное разделение интенсивности светового излучения на 3 составляющие хорошо соотносится с человеческим зрением (поскольку сетчатка глаза имеет красно-, зелено- и синечувствительные волокна). Каждая цветовая составляющая имеет 256 градаций яркости, поэтому, смешав 3 базовых цвета в разных пропорциях, можно получить все многообразие оттенков

(более 16 млн цветов). Все цвета можно представить *RGB*-кубом, грани которого соответствуют весовым коэффициентам красного, зеленого и синего цвета. Система *RGB* является аддитивной, т.к. цвета представляются сложением основных цветов с чёрным цветом (0,0,0). Базисный белый цвет оценивается как $F_W=(255,255,255)$, модельный красный цвет – $F_R=(255,0,0)$, зелёный – $F_G=(0,255,0)$, синий – $F_B=(0,0,255)$, жёлтый – $F_Y=(255,255,0)$ и т.д.

Модель CMYK в отличие от *RGB* описывает поглощаемые цвета. *CMYK* является основной моделью для полиграфии и для цветных принтеров. При переводе *RGB* данных в *CMYK* и наоборот происходит потеря части цветов, т.к. у *CMYK* имеет более узкий цветовой охват. Цвета, которые образуются за счет вычитания определенных участков спектра из белого света, называются субтрактивными (вычитательными). Именно они и используются в модели *CMYK*: Cyan (голубой), Magenta (пурпурный) и Yellow (желтый). Смешение всех цветов модели *CMYK* на самом деле дает не черный, а грязно-коричневый цвет, поэтому был введен черный цвет, обозначенный как *K* (Key). Т.о., модель *CMYK* является четырехканальной. Обе цветовые модели *RGB* и *CMYK* являются аппаратно-зависимыми.

Модель HSB. Эта модель, по сути, аналог *RGB*, основана на ее цветах, но отличается системой координат. Цвет характеризуется тоном (*Hue*), насыщенностью (*Saturation*) и яркостью (*Brightness*). Тон – это собственно цвет. Насыщенность – процент добавленной к цвету белой краски, а яркость – процент добавленной черной краски [122].

Модель XYZ. Функции сложения цветов в ряде цветовых систем могут принимать отрицательные значения, что создает неудобства при расчетах. В связи с этим была предложена неортогональная трехцветная система *XYZ*, описывающая спектральные свойства в виде трехмерных векторных координат [123]. Система координат *XYZ* задается следующими условиями: для всех реальных цветов координаты цвета *XYZ* имеют только положительные значения; координата *Y* определяет яркость цвета; координаты цветности белого равноэнергетического излучения находятся в центре тяжести треугольника, лежащего на единичной плоскости. Для перехода из системы основных цветов *RGB* в систему *XYZ* используют соотношения: $X = X_R R + X_G G + X_B B$, $Y = Y_R R + Y_G G + Y_B B$, $Z = Z_R R + Z_G G + Z_B B$, где X_R , X_G , X_B , Y_R , Y_G , Y_B , Z_R , Z_G и Z_B – координаты основных цветов в трехкоординатном пространстве *RGB*. Координаты цветности в новом цветовом пространстве будут иметь вид:

$$x = \frac{X}{X+Y+Z}, \quad y = \frac{Y}{X+Y+Z}, \quad z = \frac{Z}{X+Y+Z}, \quad x+y+z=1.$$

Использование цветового графика в системе *XYZ* имеет определенные трудности. Так, отдельные расстояния между 2 точками на цветовой диаграмме не соотносятся с визуальным восприятием человека, т.к. шкала диаграммы неравномерна. Кроме того, она не дает информации о светлоте цвета.

Модель CIELAB. Были предприняты неоднократные попытки создания равноконтрастного пространства, в котором расстояние между 2 точками коррелировало бы с визуально воспринимаемым изменением цвета. Самая распространенная из предложенных квази-равноконтрастных – *CIELAB*. Координаты L, A, B в этой системе связаны с координатами X, Y, Z соотношениями $L=116 (Y/Y_w)^{1/3}-16$, $A=500(X/X_w)^{1/3}-(Y/Y_w)^{1/3}$, $B=200 (Y/Y_w)^{1/3}-(Z/Z_w)^{1/3}$, где L – светлота; A, B – координаты цвета (A – красно-зеленая ось, B – желто-синяя ось); X_w, Y_w, Z_w – координаты белого цвета в системе *XYZ*; оси A и B располагаются в плоскости, перпендикулярной оси L .

Цветовое пространство *CIELAB* наиболее точно для расчетов цветовых характеристик, т.к. равные расстояния между точками, соответствующими разным цветам, в любых частях этой системы координат соотносятся со зрительным восприятием, что позволяет ввести удобную меру для количественного определения цветовых различий. Практически координаты цвета в системах *XYZ* и *CIELAB* и цветовые характеристики анализируемых объектов получают, например, из спектра диффузного отражения.

Таким образом, цветовой охват *CIELAB* очень широк и включает в себя *RGB* и *CMYK*, и другие цвета, непредставимые в ряде предыдущих моделей. При конвертации в *CIELAB* все цвета сохраняются. Она удобна для определения контраста, резкости и других тоновых характеристик, используется при переводе изображений из одной цветовой модели в другую, между устройствами и даже между различными платформами.

Вместе с тем именно система *RGB* наиболее привлекательна из рассмотренных. Она самая распространенная, к ее преимуществам можно отнести то, что разделение светового излучения на 3 составляющие удобно для соотнесения с человеческим зрением. Система *XYZ* получена расчетным путем из системы *RGB*, координаты цвета в системе *CIELAB* являются производными от координат системы *XYZ*, а в основе цветовых систем *CMYK* и *HSB* лежит та же система *RGB* [102].

Для компьютерной обработки изображений используют различное профессиональное ПО: графические редакторы (*Adobe Photoshop*, *Photo-paint* и др.); компьютерные денситометры (входят в состав ПО специализированных приборов) и «колорпикеры» (средства определения цветовых параметров пикселя); универсальные математические пакеты с возможностью работы с цифровым изображением на уровне пикселей (*MatLab*, *Mathcad*) [124,125].

1.5. Мультисенсорные системы в химическом анализе

Химические сенсоры можно отнести к сравнительно новым методам определения веществ, позволяющим получать прямую информацию о химическом составе окружающей среды в непрерывном режиме с малым временем отклика [126-128]. Сенсорные анализаторы могут работать автономно и быть связаны с системами накопления и автоматизированной обработки информации. Различают несколько групп химических сенсоров (табл. 1.7). В настоящее время активно разрабатывают интеллектуальные сенсорные системы типа «электронный нос», «сенсоры вкуса», «электронный язык» и «электронный глаз»[129-137]. Применение не одного, а нескольких сенсоров позволяет реализовать так называемые *мультисенсорные системы*. В этих системах используют малоселективные сенсоры или сенсоры с перекрестной чувствительностью, для обработки сигналов применяют математические методы распознавания образов, искусственные нейронные сети [135].

Наибольшее распространение получили системы типа *электронный нос* – анализаторы паров на основе матрицы разнородных (неравнозначных) сенсоров, имитирующих работу органа обоняния человека. Некоторые разработки названы *электронным языком*, под которым понимают аналитические устройства для качественного и количественного анализа многокомпонентных растворов различной природы, состоящие из набора неселективных химических сенсоров, обладающих перекрестной чувствительностью.

В работе [138] предложен необычный дизайн электронного языка, имитирующий биологический (но основанный на оптических сенсорах). В качестве сенсоров использованы зерна полиэтиленгликоль-полистирольной смолы с разными индикаторными молекулами (флуоресцеин, *орто*-крезол-фталейнкомплексон, ализаринкомплексон и др.). Сенсором сравнения была гранула смолы с ацетиленовыми

аминогруппами. Зерна были расположены в микрополостях, изготовленных в пластинах из кремния или нитрида кремния, имитируя расположение вкусовых луковиц на языке.

Таблица 1.7

Классификация химических сенсоров

Тип сенсора	Физический принцип функционирования
Электрохимические	Потенциометрические – ионоселективные электроды, ионоселективные полевые транзисторы; вольт- и амперометрические сенсоры, твердые электролитические газовые сенсоры; полупроводниковые газовые сенсоры, кулонометрические, кондуктометрические, органические полупроводники.
Оптические	Оптические сенсоры – оптические волокна, измерения основаны на явлениях поглощения, отражения и люминесценции света.
Масс-чувствительные	Пьезоэлектрические сенсоры – устройства, основанные на использовании пьезоэлектрического эффекта, а также акустоволновые сенсоры.
Теплочувствительные	Калориметрические сенсоры – устройства, основанные на определении теплового эффекта химической реакции с участием аналита.
Биосенсоры	Биосенсоры – высокоселективные и чувствительные сенсоры на конкретное определяемое вещество, т.к. их действие основано на реакциях: антитело – антиген, фермент – субстрат, рецептор – гормон.

Для анализа аминокислот (АК) и других БАВ определенный интерес представляют биосенсоры, основанные на кислородном электроде. Они отличаются высокой чувствительностью и селективностью. Недостатком биосенсоров является высокая цена ферментов и быстрая потеря ими активности, невысокая термическая устойчивость [139].

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что в аналитическом контроле фармацевтической, пищевой и химической продукции, особенно в рутинном анализе, недостаточно широко при-

меняют методы свертки многопараметрической информации, контрольные карты, информационно-поисковые и экспертные системы, в то время как принципы их создания и алгоритмы реализации разработаны достаточно глубоко. Наметились тенденции в широком применении цифровых технологий в аналитической практике. Вместе с тем, не полностью решены метрологические аспекты этого применения, многие цветные тесты не реализованы в цифровом варианте, когда аналитическим сигналом служит электронное изображение.

Для контроля качества природного лекарственного сырья, многокомпонентных лекарственных средств с вариативным составом покомпонентное определение состава образца с использованием дорогого оборудования не всегда целесообразно. Зачастую достаточно применения обобщенных показателей качества, полученных с помощью хеометрики при интерпретации многомерных данных, поступающих от мультисенсорных, спектральных или хроматографических систем.

Несмотря на то что в микроскопических методах активно применяют разработки по распознаванию образов и математической обработке полученных электронных изображений, в рутинном контроле качества продукции, в тест-анализе актуальной задачей остается разработка мультисенсорных систем, основанных на цветометрическом и морфологическом анализе объектов, которые использовали бы в качестве аналитического сигнала цифровой видеосигнал.

В химическом, фармацевтическом анализе, в фармакогнозии для контроля качества сырья и продукции могут применяться несколько валидированных методик с использованием различных методов пробоподготовки, детектирования, реактивов и растворителей. Ключевой проблемой в этом плане является отсутствие универсального подхода в количественной оценке качества и надежности самой методики, часто в методиках применяются либо излишне дорогие, либо слишком токсичные реактивы, либо неоптимальные режимы детектирования.

Решение этой проблемы заложено в разработке ИЭС, позволяющих по обобщенным критериям или целевым функциям сравнивать уровень оптимизации разных методик, намечать пути повышения технико-эксплуатационных характеристик вновь разрабатываемых методик.

Глава 2. Информационно-аналитическая система СОЛЬВЕНТ-Р подбора растворителей для инструментальных методик анализа

При разработке рутинных методик контроля лекарственных препаратов, токсикантов, качества сырья и готовой продукции, при комплектации типового рабочего места химика-аналитика, провизора-аналитика полезен обоснованный выбор ассортимента и требуемого качества и количества растворителей. Эта проблема обусловлена технической сложностью инструментального аналитического оборудования и напрямую связана с его высокой стоимостью. Второй важной проблемой является обеспечение экологической безопасности химического анализа, в которую включена не только экология помещений лаборатории, но и проблема утилизации использованных химикатов. Из списка примерно в 100 растворителей, выпускаемых химическими фирмами для нужд аналитических и исследовательских лабораторий, как правило, достаточно иметь 10-15 растворителей, чтобы реализовать основные режимы работы приборов, имеющихся в конкретной лаборатории.

Для поиска оптимальных решений при подборе растворителей для пробоподготовки и химического анализа Рудаковой Л.В. с соавторами разработан прототип ИАС, которому дано авторское название *СОЛЬВЕНТ-Р* [233]. В научном английском языке слово *сольвент* обозначает и *растворитель*, и *решение проблемы*. ИАС *СОЛЬВЕНТ-Р* содержит 30 продукционных правил, количество которых можно при необходимости довести до 40-50.

2.1. Продукционные правила информационно-аналитической системы СОЛЬВЕНТ-Р

БД и алгоритмы решений ИАС *СОЛЬВЕНТ-Р* выполнены в оболочке ПО *Microsoft Office Excel* и *Microsoft Office Access*. На рис. 2.1 представлены скриншоты программы в оболочке *Microsoft Office Access*. Рассмотрим продукционные правила ИАС *СОЛЬВЕНТ-Р*, решаемой задачей которой является подбор оптимальных растворителей, используемых в пробоподготовке и анализе БАВ и фармацевтических препаратов конкретными инструментальными методами (табл. 2.1).

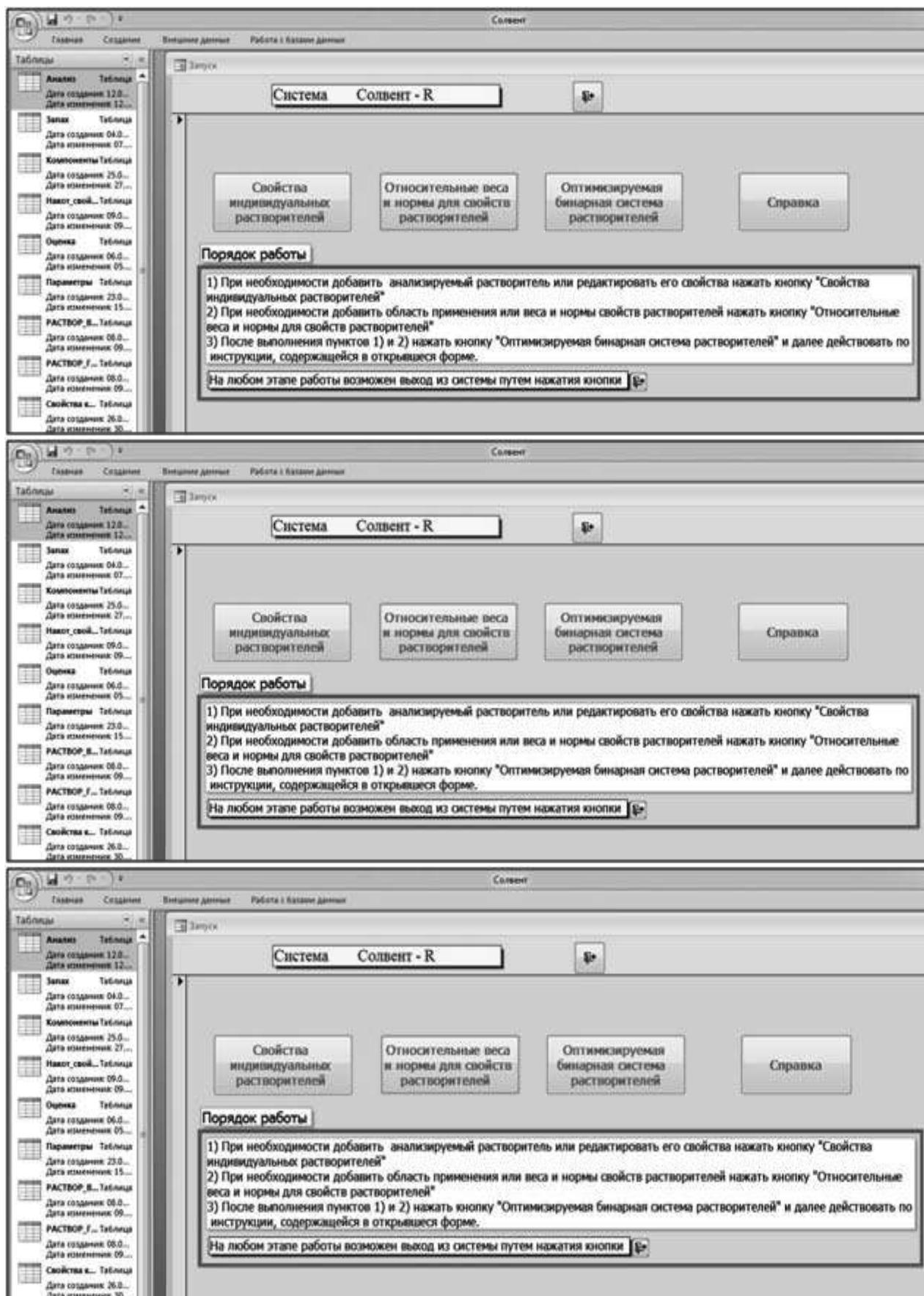


Рис. 2.1. Скриншоты ПО «Сольвент-Р»

Попытка провести в имеющейся БД сортировку индивидуальных растворителей по некоторым наилучшим потребительским свойствам приводит к качественной картине, которая наглядно демонстрирует, что ни один растворитель не обладает универсальными свойствами (табл. 2.2). Идеальный растворитель для химического анализа должен сочетать в себе свойства нескольких растворителей различной природы. Поскольку таких растворителей нет, часто используют смеси растворителей.

Рассматриваемая ИАС, как раз разработана для того, чтобы найти оптимальное сочетание потребительских свойств индивидуальных или бинарных растворителей для конкретной аналитической методики.

Естественно, что в зависимости от решаемой задачи, вес того или иного производственного правила может существенно изменяться, какими-то правилами можно пренебречь, а отдельные правила радикально меняют вектор оптимизации. Так, чем ниже $t_{кип}$, $t_{всп}$ и $t_{свп}$, чем ниже ПДК и выше $P_{пар}$, тем менее приемлем для анализа растворитель с точки зрения техники безопасности; чем он дешевле, чем лучше растворяет аналит и хуже смешивается с водой, тем более пригоден для экстракции; чем он более прозрачен в УФ-свете, тем лучше сочетается УФД, и т.п.

Таблица 2.1

Основные производственные правила для подбора растворителей, применяемых в инструментальных методах

№	Параметр	Правило	Факторы
1	Температура кипения	Достаточно высокая (или достаточно низкая)	Для предотвращения: образования паровых пузырей, мешающих работе клапанов и детекторов; изменения состава и концентрации раствора аналита или состава подвижной фазы из-за испарения низкокипящего компонента; для предотвращения образования токсичных паров растворителей выше уровня ПДК или пожаро-, взрывоопасных воздушных смесей (или для препаративного выделения или концентрирования, для масс-спектрометрического детектирования)

Продолжение табл. 2.1

2	Плотность	Достаточно высокая	Более плотные растворы требуют меньшей высоты напора над входом в жидкостный насос, для них менее вероятен турбулентный тип потока
3	Давление насыщенного пара	Достаточно низкое	Для предотвращения образования токсичных паров растворителей выше уровня ПДК или взрывопожароопасных воздушных смесей
4	Вязкость	Достаточно низкая	В низковязких растворах эффективней диффузия, массообмен, меньше рабочее давление жидкостного насоса
5	Коэффициент проницаемости	Достаточно низкий	Для обеспечения эффективной диффузии и массообмена
6	Поглощение в УФ области	Минимальное	Малая прозрачность растворителей ухудшает чувствительность спектрофотометрического детектора
7	Поглощение в видимой области	Минимальное	Малая прозрачность растворителей ухудшает чувствительность спектрофотометрического детектора в видимой области спектра
8	Показатель преломления	Максимально отличный от показателя преломления аналита	Малая разница в показателе преломления растворителя и аналита ухудшает чувствительность рефрактометрического детектора
9	Поглощение в ИК области	Минимальное	Малая прозрачность растворителей ухудшает чувствительность ИК-спектрофотометрического детектора
10	Химическая стабильность	Максимальная	Чтобы не использовать стабилизаторы, для избегания: дрейфа времен удерживания в хроматографии, дрейфа базисной линии, смещения максимума поглощения или изменения разности показателей преломления
11	Потенциал восстановления	Достаточно высокий	Для обеспечения работы вольтамперометрических детекторов
12	Химическая инертность	Максимальная	Для предотвращения модификации аналита, подвижной и неподвижной фаз в хроматографии
13	Чистота	Отсутствие летучих и нелетучих примесей	Для предотвращения помех в работе детектора
14	Стоимость	Невысокая	Для снижения расходов на анализ
15	Совместимость с разбавителем	Максимальная	Для избегания расслоения растворов аналита и подвижных фаз и избегания помех при детектировании

Продолжение табл. 2.1

16	Полярность (гидрофильность)	Низкая или средняя в случае неполярных и малополярных анализов, средняя и высокая для полярных анализов	Для обеспечения максимальной растворимости аналита в экстрагенте или растворе для анализа, для обеспечения максимальной экстракционной способности или элюирующей силы
17	Смешиваемость с водой	Достаточно высокая (или низкая)	Для предотвращения расслоения растворов и подвижных фаз (или для расслоения и экстракции аналита в органическую фазу)
18	Токсичность	Минимальная	Для обеспечения безопасности работ
19	Температура вспышки	Достаточно высокая	Для безопасности при хранении и использовании
20	Температура самовоспламенения	Достаточно высокая	Для безопасности при хранении и использовании
21	Поверхностное натяжение	Достаточно низкое	Для обеспечения эффективной экстракции аналита из водных растворов
22	Элюирующая сила	Достаточно высокая	Для сокращения времени анализа в хроматографии
23	Диэлектрическая проницаемость	Достаточно высокая (или низкая)	Для обеспечения работы электрохимического детектора (или обеспечения работы диэлькометрического детектора)
24	Запах	Не резкий, не раздражающий	Для обеспечения комфортных условий работы оператора и возможности проведения органолептической экспертизы
24	Температура замерзания	Достаточно низкая	Для обеспечения низкотемпературного концентрирования, для предотвращения образования фазы льда при проведении анализа
25	Способность растворять аналит	Достаточно высокая	Для обеспечения количественного анализа, для предотвращения выпадения аналита в осадок в условиях анализа, для эффективной экстракции или десорбции
26	Способность образовывать гомогенные азеотропные смеси	Наличие способности для смешанных растворителей	Для создания экстрагентов и подвижных фаз, пригодных для многократного применения в рецикле в пробоподготовке, препаративной и аналитической хроматографии
27	Оптическая активность	Отсутствие или максимальное отличие от аналита	Для обеспечения работы поляризметрического детектора
28	Наличие атомов ^1H , ^{12}C или ^{14}N в молекуле	Отсутствие	Для обеспечения работы ЯМР-спектрометра

Продолжение табл. 2.1

29	Молекулярная масса	Сравнительно высокая (или низкая)	Для уменьшения летучести (для увеличения летучести в газовой хроматографии)
30	Наркотические свойства	Слабо выраженные или отсутствуют	Для безопасности при хранении и использовании

Таблица 2.2

Рейтинг растворителей с некоторыми наилучшими потребительскими свойствами

Рейтинг	1	2	3
$t_{\text{кип}}$	Глицерин	Диэтиленгликоль	1,2,4-Трихлорбензол
Плотность	Бромформ	Тетрахлорэтилен	Тетрахлорэтан
Вязкость	Пентан	Диэтиловый эфир	Гексан
Показатель преломления	Трифторуксусная кислота	Трифторэтанол	Метанол
Прозрачность в УФ-свете	Вода	Ацетонитрил	Гексан
Стоимость	Кумол	Пропановая кислота	Диэтиламин
Токсичность	Вода	1,2,2-трифтор-1,1,2-трихлорэтан	Этанол
Воспламеняемость	Вода	Тетрахлорметан	1,2,2-трифтор-1,1,2-трихлорэтан

Если рассматривается БД из индивидуальных растворителей или смешанных растворителей для их сопоставления пригоден обобщенный критерий R_E , который находится по формуле (1.4). Он позволяет количественно сравнивать совокупность параметров, учитывающих производственные правила, и проводить рейтинг технико-эксплуатационных свойств растворителей, имеющих в БД.

Ограничением при поиске оптимального решения с использованием обобщенного критерия является дискретный характер последнего. Он рассчитывается для конкретного индивидуального или смешанного растворителя по экспериментальным данным и не дает оценок для смесей растворителей произвольного состава. Эту задачу позволяют решать целевые функции. Однако для получения этих функций зачастую необходимо проведение специальных экспериментов, позволяющих получить для этих функций математическое описание.

2.2. Обобщенные критерии для различных методов детектирования

К основным оптическим методам детектирования можно отнести спектрофотометрию в УФ-, видимой, и ИК-области спектра и рефрактометрию. Научометрическое исследование аналитических методов контроля, рекомендованных отечественной Государственной Фармакопеей (X и XII издания), а также Международной, Европейской, Германской и Украинской Фармакопеями показало, что общая доля инструментальных методов анализа лекарственных средств в Европейской Фармакопее – 87%, Украинской – 81%, Международной – 72%, ГФ XII издания – 69%, ГФ X издания – 30% и в Германской Фармакопее – 80%, а среди инструментальных методов анализа во всех первоисточниках чаще всего рекомендуются оптические и спектральные методы (на их долю приходится в среднем 55-70% методик, одна треть которых УФ- и ВИД-спектрофотометрия и 10-19% ИК-спектроскопия [165-174].

Рассмотрим рейтинг 100 растворителей с помощью ИАС *СОЛЬВЕНТ-R* для каждого из этих методов детектирования. Возьмем за основу рейтинга 9-10 производционных правил, исключив из рассмотрения малозначимые для данных методов правила, учтя для определения весовых коэффициентов частных критериев оценки 5 экспертов по 10-балльной системе.

Ультрафиолетовая спектрофотометрия. Для УФД наиболее важным параметром является порог прозрачности растворителя в УФ-свете. Анализ оптических свойств лекарственных веществ [58,61,166-176], поглощающих в УФ области спектра, показывает, что можно выделить 3 группы аналитов, имеющих поглощение в интервалах 203-210, 254-270 и 320-360 нм. Чтобы отсеять заведомо неприемлемые свойства, в БД производят выборку растворителей по граничным условиям, используя опцию автофильтра.

Растворители для 1-й группы аналитов. В табл. 2.3. приведены растворители, удовлетворяющие 1-й группе аналитов.

В связи с тем, что растворителей, имеющих низкий порог прозрачности в УФ свете (≤ 200 нм) мало, из 100 растворителей данным граничным условиям табл. 2.3 удовлетворяет всего 8 растворителей (табл. 2.4).

Из полярных растворителей высокий рейтинг у воды и ацетонитрила (несмотря на ряд негативных свойств этого растворителя).

Бутиронитрил, попавший в рейтинг, в отличие от ацетонитрила, плохо растворим в воде, высоко токсичен и не представляет практического интереса для химического анализа. Из неполярных растворителей наиболее подходящими являются гептан и изооктан.

Таблица 2.3

Частные критерии, нормы и весовые коэффициенты a_i ур.(1.4) растворителей для УФД в области 203-210 нм

Частный критерий	Граничные условия	Норма	\bar{a}_i
Порог прозрачности в УФ, нм	≤ 200	200	0.29
Температура кипения, °С	≥ 35	70	0.12
Плотность, г/см ³	> 0.60	0.90	0.06
Вязкость, МПа·с	≤ 0.90	0.50	0.03
Стоимость, у.е./кг	< 40	30	0.14
ПДК, мг/м ³	≥ 10	100	0.11
$t_{\text{всп}}$, °С	≥ -40	20	0.10
$t_{\text{свп}}$, °С	> 200	300	0.07
$P_{\text{пар}}$, мм рт. ст.	< 400	50	0.08
Коэффициент вариабельности,	0.18		
Коэффициент конкордации, W_9	0.72		

Таблица 2.4

Обобщенные критерии растворителей, прозрачных до 200 нм

Вода	Геп-тан	Изо-октан	Гек-сан	Цикло-пентан	Пентан	Бутиро-нитрил	Ацето-нитрил
3.25	0.25	0.4	0.20	0.17	0.15	-0.04	-0.09

Растворители для 2-й группы аналитов. Большое количество БАВ и, прежде всего, ароматические соединения имеют интенсивное поглощение в области, близкой к 254 нм, в связи с этим выпускаются УФД упрощенной конструкции, имеющие только одну рабочую длину волны – 254 нм. Для этих аналитов выбор пригодных растворителей увеличивается, поэтому к ним возможно установить более жесткие требования по химической и пожарной безопасности. В табл. 2.5 приведены критерии и нормы, установленные для этих растворителей, а в табл. 2.6 – обобщенные критерии для 12 наилучших растворителей.

Таблица 2.5

Частные критерии, нормы и весовые коэффициенты a_i уравнения (1.4) для УФД аналитов, поглощающих при 254-270 нм

Частный критерий	Граничные условия	Норма	\bar{a}_i
Порог прозрачности в УФ,	≤ 240	230	0.24
Температура кипения, °C	≥ 60	70	0.14
Плотность, г/см ³	> 0.60	0.90	0.05
Вязкость, мПа·с	≤ 0.90	0.50	0.04
Стоимость, у.е./кг	< 40	30	0.14
ПДК, мг/м ³	≥ 10	100	0.14
$T_{\text{всп}}$, °C	≥ -20	20	0.08
$T_{\text{свп}}$, °C	> 200	300	0.05
$P_{\text{пар}}$, мм рт. ст.	< 160	50	0.12
Коэфф. вариабельности, V	0.14		
Коэфф. конкордации, W_9	0.80		

Растворители из табл. 2.6 можно разделить на хорошо растворимые в воде, универсальные (растворимые как в полярных, так и неполярных растворителях) и хорошо растворимые в неполярном гексане. Растворители, смешивающиеся с водой, используют в ОФХ, а растворители, смешивающиеся с гексаном, пригодны для НФХ. Такие растворители, как ИПС, ТГФ и диоксан, являются универсальными и могут быть использованы в обоих вариантах ЖХ.

Этанол же, получивший 2-ое место в рейтинге, в реальной практике используется не так часто. Ограничением для его использования является высокая стоимость абсолютизированного спирта, высокая стоимость ректификованного спирта, обусловленная его использованием для изготовления ликероводочных изделий (акцизы) и, так называемый, человеческий фактор, приводящий к строгой регламентации расходования этанола.

Метанол и ацетонитрил, несмотря на высокую токсичность, наиболее широко применяются в качестве модификаторов ПФ в ОФХ.

ТГФ и диоксан используются реже из-за высокой реакционной способности, они легко образуют пероксиды при контакте с воздухом.

Таблица 2.6

Обобщенные критерии растворителей для УФД аналитов,
поглощающих при 254-270 нм

Растворитель	R_E	Растворимость в воде	Растворимость в гексане
Вода	4.22	+	-
Этанол	1.34	+	+
ИПС	1.27	+	+
Гептан	0.43	-	+
Изооктан	0.43	-	+
Гексан	0.38	-	+
Метанол	0.10	+	-
ТГФ	0.08	+	+
Циклогексан	0.06	-	+
Трихлорэтилен	0.00	-	+
Ацетонитрил	0.00	+	-
1.4-диоксан	-0.01	+	+
1.2-дихлорэтан	-0.02	-	+
Метиленхлорид	-0.04	-	+
Хлороформ	-0.05	-	+

Растворители для 3-й группы аналитов. Для растворителей, прозрачных при 330-360 нм, весовые коэффициенты те же, что и для 2-й, только смещены граничные условия по порогу прозрачности в длинноволновую сторону (≤ 310 нм). В этом случае в 1-ю десятку рейтинга попадает этилацетат с $R_E=0.20$. При использовании СФД в видимой области среди лучших растворителей оказывается метилизобутилкетон ($R_E=0.19$), высокий рейтинг имеют бутанон и ацетон, ароматические углеводороды. Ограничения по применению кетонов связаны с их реакционной способностью по отношению к таким аналитам, как аминопроизводные, которые реагируют с оксогруппой, образуя основания Шиффа, такие же ограничения по выбору неподвижной фазы, кетоны не пригодны при использовании привитой аминопропильной неподвижной фазы в НФХ и ОФХ), ароматические соединения целесообразны для применения в нормально-фазовой ТСХ из-за важного для этого типа ЖХ высокого коэффициента проницаемости ψ .

Рефрактометрическое детектирование. Применение РМД, как показал опрос экспертов ($W_3=0.75$) в целом оставляет практически те

же требования к растворителям, что и УФД (табл. 2.5), изменяется лишь коэффициент веса по показателю преломления ($\bar{a}_i=0.24$), а прозрачностью в УФ-свете можно пренебречь. В качестве граничного условия было принято $n_D \leq 1.45$. Как показали результаты рейтинговой оценки (табл.2.7), в 20-ку наиболее пригодных входят те же растворители, что и для СФД.

Таблица 2.7

Обобщенные критерии растворителей для РМД

Растворитель	R_E	Растворимость в воде	Растворимость в гексане
Вода	3.78	+	-
Этанол	0.90	+	+
Изопропанол	0.83	+	+
Гептан	-0.03	-	+
Изооктан	-0.03	-	+
Гексан	-0.08	-	+
Петролейный эфир	-0.12	-	+
Метилизобутилкетон	-0.14	-	+
Диизопропиловый эфир	-0.15	-	+
Этилацетат	-0.19	-	+
2-бутанон	-0.19	-	+
Ацетон	-0.23	-	+
Метанол	-0.32	+	-
ТГФ	-0.37	+	+
Циклогексанон	-0.41	-	+
Циклогексан	-0.41	-	+
Ацетонитрил	-0.44	+	-
Трихлорэтилен	-0.46	-	+
Метиленхлорид	-0.48	-	+
Хлороформ	-0.48	-	+

Электрохимическое детектирование. ЭХД применяют, как правило, для ОФХ, в ионообменной и ионной хроматографии. В качестве ПФ в этих случаях используют воду, солевые, кислые, основные или буферные водные и водно-органические растворы. Для модификатора важным требованием является высокая электропроводность и раство-

римось в воде. В табл. 2.8 приведены критерии и нормы для таких растворителей, а в табл. 2.9 даны результаты рейтинговой оценки.

Адекватность экспертной оценки, выполненной при помощи 5 экспертов в оболочке ИАС *СОЛВЕНТ-Р*, подтверждается тем, что растворители с наиболее высоким рейтингом в аналитической практике наиболее часто используются для пробоподготовки жидкостно-экстракционными методами или в составе ПФ для ВЭЖХ в рассмотренных методах детектирования.

В работах [177,178] обсуждены частные случаи применения рейтингов растворителей с использованием обобщенных критериев применительно к НФХ и ОФХ с детектированием при помощи УФД и РМД. Процедура проведения рейтинга растворителей по технико-эксплуатационным свойствам оказалась полезной также в оптимизации жидкостной экстракции [179-189], в оценке эксплуатационных свойств смешанных технических растворителей [184-191].

Таким образом, рассмотренная методология носит универсальный характер и является полезной в аналитической практике не только для начинающих исследователей, но и для опытных экспертов при выборе, разработке или усовершенствовании инструментальной методики анализа продукции.

В качестве примера рассмотрим рейтинг растворителей для экстракционно-инструментальных методик определения фенолов, который проведен в работах [180,189,190]. С помощью обобщенного критерия, включающего 8 частных критериев (стоимость, ПДК, $t_{всп}$, $t_{свп}$, $t_{кип}$, $P_{пар}$, предел прозрачности в УФ-свете, коэффициент распределения фенола) проведен рейтинг 200 индивидуальных и смешанных растворителей, испытанных в качестве экстрагентов фенольных соединений из водных и водно-солевых сред. Результаты исследования применили при оптимизации спектрофотометрической методики контроля фенольного индекса, определения смесей фенолов в воде методом ВЭЖХ и т.д.

В настоящее время имеется большая БД по коэффициентам распределения фенолов между водной (водно-солевой) и органической фазой [183,193-196]. Однако этот массив информации не был до сих пор проанализирован с точки зрения целесообразности применения того или иного варианта жидкостной экстракции в инструментальных методиках определения фенолов. При выборе растворителей, пригодных к применению в качестве экстрагентов фенолов и им подобных аналитов для массового анализа с помощью рутинных спектрофото-

метрических и хроматографических методик, требуется выполнить ряд граничных условий.

Таблица 2.8

Частные критерии, нормы и весовые коэффициенты a_i уравнения (1.4) для детектирования с помощью УФД анализов, поглощающих при 254-270 нм

Частный критерий	Граничные условия	Норма	\bar{a}_i
Диэлектрическая проницаемость	>10	78	0.25
$t_{кип}, ^\circ\text{C}$	≥ 60	70	0.14
Плотность, г/см^3	>0.60	0.90	0.05
Вязкость, $\text{МПа}\cdot\text{с}$	≤ 0.90	0.50	0.03
Стоимость, у.е./кг	<40	30	0.14
ПДК, мг/м^3	≥ 10	100	0.14
$t_{всп}, ^\circ\text{C}$	≥ -20	20	0.08
$t_{свп}, ^\circ\text{C}$	>200	300	0.05
$P_{пар}$, мм рт. ст.	<160	50	0.12
Коэфф. вариабельности, V	0.15		
Коэфф. конкордации, W_3	0.79		

Таблица 2.9

Обобщенные критерии растворителей для ЭХД

Растворитель	R_E
Вода	4.68
Этанол	1.64
2-метоксиэтанол	0.58
Диметилсульфоксид	0.56
Диметилформамид	0.46
Метанол	0.43
Ацетонитрил	0.32

Таблица 2.10

Свойства и рейтинг растворителей для ЖЖЭ фенола из водно-солевых сред для пробоподготовки в обращенно-фазовой ВЭЖХ

Экстрагент (объемные доли)	Стои- мость, у.е./кг	ПДК, мг/м ³	$t_{всп},$ °C	$t_{свп},$ °C	$P_{пар},$ мм рт. ст.	$t_{кип},$ °C	Предел в УФ, нм	D	R_E
Вода:ИПС (0.3:0.7)	23	1000	18	475	21	87	205	790	50.6
Вода:ИПС (0.28:0.72)	23	1000	18	470	21	86	205	760	50.5
Вода:ИПС (0.24:0.76)	23	1000	16	460	22	86	205	720	50.5
Вода:ИПС (0.2:0.8)	24	1000	15	450	26	86	205	690	50.5
Вода:АН (0.42:0.68)	35	50	35	530	65	95	195	1370	50.5
Диацетоновый спирт	2	100	64	643	54	169	250	610	50.4
Вода:ИПС (0.4:0.6)	22	1000	20	460	20	88	205	590	50.4
Вода:ИПС (0.16:0.84)	24	1000	14	420	26	84	205	650	50.4
Вода:ИПС (0.17:0.87)	24	1000	13	410	28	84	205	630	50.4
Вода:ИПС (0.1:0.9)	24	1000	13	410	28	84	205	630	50.4
Вода:АН (0.16:0.84)	37	38	18	510	74	92	195	1340	50.4
Вода:АН (0.13:0.87)	37	35	17	510	76	90	195	1300	50.3
Вода:АН (0.1:0.9)	38	30	15	500	80	87	195	1100	50.2
Вода:ТБС (0.4:0.6)	32	190	11	540	31	90	215	730	50.1
Вода:АН (0.07:0.93)	38	25	12	500	82	85	195	950	50.1
Вода:ТБС (0.3:0.7)	35	170	13	510	36	89	215	690	50.1
Вода:АН (0.06:0.94)	39	20	10	500	85	83	195	890	50.1
Вода:ДО (0.36:0.64)	37	40	20	400	20	100	200	640	50.0
Вода:ТБС (0.24:0.76)	36	150	14	500	36	86	215	600	50.0

ЭА:ИПС (0.2:0.8)	34	800	8	405	40	90	230	250	50.0
Вода:ТБС (0.1:0.9)	39	120	15	490	37	86	215	590	50.0
Вода:ДО (0.25:0.75)	40	35	15	370	21	100	220	630	49.9
ЭА:ИПС (0.3:0.7)	35	700	5	415	45	95	230	265	49.9
Вода:ДО (0.4:0.6)	36	20	10	350	23	101	220	515	49.9
Вода:ДО (0.22:0.78)	41	23	12	350	22	100	220	580	49.9
ЭА:ИПС (0.4:0.6)	39	600	4	425	50	100	230	280	49.9
Вода:ДО (0.13:0.87)	43	23	10	330	23	100	220	550	49.8
ЭА:ИПС (0.5:0.5)	42	500	1	435	55	104	230	290	49.8
Вода:ДО (0.04:0.96)	46	20	7	310	25	100	220	515	49.8
ЭА:ИПС (0.6:0.4)	46	400	0	445	60	110	230	295	49.7
ЭА:ИПС (0.7:0.3)	49	300	-2	455	63	115	230	300	49.7
Граничные условия	<50	>5	>-20	>200	<100	>70	<250	>250	
Норма, x_i^w	20	300	25	440	45	100	230	500	
Вектор оптимизации	min	max	max	max	min	max	min	max	
Коэффициент веса, a_i	0.2	0.1	0.05	0.05	0.05	0.05	0.15	0.3	

Во-первых, растворитель должен иметь сравнительно невысокую стоимость, так как при ЖЖЭ расход экстрагента достаточно велик. Растворитель должен быть прозрачен в диапазоне, близком к аналитическим длинам волн для фенолов и их производных (при 270-280 нм).

Важным фактором является химическая и пожарная безопасность экстрагента, который можно охарактеризовать величинами ПДК в воздухе рабочей зоны, $t_{всп}$, $t_{свп}$, $t_{кип}$ и $P_{пар}$. Экстракционную способность можно оценить по величине коэффициента распределе-

ния аналита D между водным (водно-солевым) раствором и органическим растворителем.

Таблица 2.11

Свойства и рейтинг растворителей для ЖЖЭ фенола из водно-солевых сред для пробоподготовки в нормально-фазовой ВЭЖХ

Экстрагент (объемные доли)	Стоимость, у.е./кг	ПДК, мг/м ³	$t_{всп},$ °С	$t_{свп},$ °С	$P_{пар},$ мм рт.ст.	$t_{кип},$ °С	Предел в УФ, нм	D	R_E
ГН:ИПС 0.1:0.9	26	900	5	390	37	80	200	620	0.30
ГН:ИПС (0.2:0.8)	27	850	3	380	40	79	200	640	0.27
ГН:ИПС (0.3:0.7)	27	750	-3	370	55	78	200	680	0.23
ГН:ИПС (0.4:0.6)	28	700	-4	350	65	76	200	700	0.19
ГН:ИПС (0.5:0.5)	29	650	-5	331	77	76	200	730	0.17
ГН:ИПС (0.6:0.4)	30	550	-6	300	73	71	200	680	0.09
ГН:ИПС (0.7:0.3)	31	500	-11	270	72	68	200	500	-0.06
ГН:ИПС (0.8:0.2)	32	450	-15	265	70	60	200	310	-0.21
2-Бутанол	23	150	24	400	18	100	220	300	-0.07
ЭА	60	100	-9	470	74	126	256	683	-0.36
Бутилацетат	60	100	-9	470	18	100	256	590	-0.37
ЭА:БС 0.3:0.7	38	60	14	450	20	120	256	300	-0.29
ЭА:БС 0.4:0.6	41	80	11	450	35	120	256	350	-0.31
ЭА:БС 0.5:0.5	44	105	10	450	39	120	256	380	-0.32
ЭА:БС 0.6:0.4	47	135	5	450	45	120	256	390	-0.35
ЭА:БС 0.7:0.3	50	150	0	450	50	120	256	400	-0.38
ЭА:БС 0.8:0.2	53	185	-2	450	60	120	256	380	-0.43
ЭА:БС 0.9:0.1	56	195	-7	450	70	120	256	340	-0.50
Граничные условия	≤60	>5	>-20	>200	<100	>70	≤250	>250	
Коэффициент веса, a_i	0.2	0.1	0.05	0.05	0.05	0.05	0.15	0.3	

В табл. 2.10 приведены итоги рейтингования гидрофильных экстракционных систем, применяемых с добавлением высаливателя, для образования органической (водно-органической) фазы, в которой концентрируется аналит. Как видно из табл. 2.10 эксперты присвоили максимальный коэфф. веса ($a_i=0.3$) экстракционной способности, т.е. значению коэфф. D .

Несколько меньше вес у стоимости растворителя ($a_i=0.2$) и прозрачности в УФ-свете ($a_i=0.15$). Критерии безопасности, каждый по отдельности имеет небольшой вес, но в сумме их вес равен весу экстракционной способности.

В тех случаях, когда не были известны экспериментальные данные по критериям для смешанных растворителей, в БД были введены суммарные значения, найденные по аддитивной зависимости $S_{12}=\varphi_1 S_1+\varphi_2 S_2$, где φ_1 и φ_2 – объемные доли смешиваемых растворителей.

Значения S_{12} носят характер первого приближения, поскольку нередко свойства смесей, как будет показано в следующих разделах, зависят от состава нелинейно, имея отклонения от аддитивности, иногда на доли, иногда на десятки процентов. Тем не менее, аддитивные модели позволяют количественно рассчитать рейтинг.

В результате рейтинговой оценки в качестве оптимальных экстрагентов рекомендованы смеси ИПС, ацетонитрила и диоксана с водой, «работающие» только в присутствии высаливателей.

Ацетонитрил расслаивается также при отрицательных температурах с водой и водно-солевыми системами, что позволяет его использовать для ЖЖЭ, не прибегая к высаливателям [188,189]. В числе оптимальных экстрагентов особо хочется выделить азеотропную смесь ацетонитрила с водой, которая легко возвращается на повторное использование простой перегонкой.

При рейтинге гидрофобных растворителей для ЖЖЭ на стадии пробоподготовки фенолов в НФХ (табл. 2.11) векторы оптимизации и коэффициенты веса всех параметров экспертами были оставлены такими же, как и для ОФХ, но сделали менее жесткими граничные условия по стоимости и порогу прозрачности, иначе практически не осталось бы подходящей выборки растворителей для поиска решения.

При оценке экстрагентов для ЖХ с ЭХД обнулили коэфф. веса прозрачности растворителя в УФ (табл. 2.12). ПДК воды условно приняли для возможности проведения количественных расчетов равной 1000 мг/м^3 .

Таблица 2.12

Свойства и рейтинг растворителей для ЖЖЭ фенола из водно-солевых сред для пробоподготовки в обращенно-фазовой ВЭЖХ с амперометрическим детектором

Экстрагент	Стоимость, у.е./кг	ПДК , мг/м ³	$t_{всп},$ °С	$t_{свп},$ °С	$P_{пар},$ мм рт. ст.	$t_{кип},$ °С	D	ε_T	R_E
Вода:ИПС (0.24:0.76)	23.3	1000	16	460	22	86	720	27.1	0.88
Вода:ИПС (0.2:0.8)	23.5	1000	15	450	26	86	690	25.5	0.85
Вода:АН (0.42:0.68)	35.1	50	35	530	65	95	1370	55.7	0.85
Вода:ИПС (0.4:0.6)	22.4	1000	20	460	20	88	590	34.6	0.81
Вода:ИПС (0.16:0.84)	23.7	1000	13.9	420	26	84	650	24.0	0.79
Вода:ИПС (0.17:0.87)	23.9	1000	12.5	410	28	84	630	24.4	0.79
Вода:ИПС (0.1:0.9)	23.9	1000	12.5	410	28	84	630	22.0	0.77
Вода:АН (0.16:0.84)	36.5	38	18	510	74	92	1340	43.8	0.65
Вода:АН (0.13:0.87)	37.1	35	17	510	76	90	1300	42.4	0.61
Вода:АН (0.1:0.9)	37.7	30	15	500	80	87	1100	40.9	0.46
Вода:ТБС (0.4:0.6)	32.4	190	11	540	31	90	730	39.0	0.42
Вода:АН (0.07:0.93)	38.5	25	12	500	82	85	950	39.4	0.35
Вода:ТБС (0.3:0.7)	34.6	170	12.5	510	36	89	690	32.4	0.34
Вода:АН (0.06:0.94)	38.6	20	10	500	85	83	890	38.9	0.30
Вода:ДО (0.36:0.64)	36.8	40	20	400	20	100	640	24.3	0.25
Вода:ТБС (0.24:0.76)	35.9	150	14	500	36	86	600	28.4	0.22
Вода:ТБС (0.1:0.9)	39.0	120	15	490	37	86	590	19.2	0.17
Вода:ДО (0.25:0.75)	39.8	35	15	370	21	100	630	16.9	0.15
Вода:ДО (0.4:0.6)	35.7	20	10	350	23	101	515	27.2	0.13
Вода:ДО (0.22:0.78)	40.7	23	12	350	22	100	580	15.0	0.09
Вода:ДО (0.13:0.87)	43.1	23	10	330	23	100	550	9.5	0.02
Вода:ДО (0.04:0.96)	45.6	20	7	310	25	100	515	4.4	0.05
Граничные условия	<50	>5	>-20	>200	<100	>70	>250	>10	
Норма x_i^w	20	300	25	440	45	100	500	50	
Вектор оптимизации	min	max	max	max	min	max	max	max	
Коэффициент веса a_i	0.2	0.15	0.05	0.05	0.05	0.05	0.3	0.15	

Как видно из табл. 2.11 в рейтинг гидрофобных и гидрофобно-гидрофильных экстрагентов, пригодных для УФ детектирования фенолов в пробе, не попали различные кетоны, их смеси с разбавителем, ароматические и галогенпроизводные углеводов, лактоны, лактамы и прочие, испытанные ранее Коренманом Я.И. с соавторами в качестве экстрагентов [192-195]. В качестве основных причин низкого рейтинга таких растворителей является их высокая стоимость, умеренная экстракционная способность, большая оптическая плотность в УФ-свете. В целом, рейтинг гидрофобных и гидрофобно-гидрофильных индивидуальных и смешанных растворителей на 2 порядка хуже по величине R_E , чем рейтинг гидрофильных растворителей. Результаты приведенного выше рейтинга привели к «закрытию». Из них можно заключить, что применение гидрофобных и гидрофобно-гидрофильных экстрагентов в массовых анализах производных фенола не целесообразно.

Что касается экстрагентов для пробоподготовки к методикам анализа с ЭХД, отметим, что наибольший рейтинг получили практически те же гидрофильные растворители, что и растворители для обращенно-фазовой ВЭЖХ (табл. 2.12), это смеси ацетонитрила, ИПС и диоксана с водой.

Как показано выше, для электрохимических детекторов важна диэлектрическая проницаемость, электропроводность растворителей, их смешиваемость с буферными растворами и растворами некоторых солей.

Экстракционные системы на основе ацетонитрила, диоксана и ИПС успешно испытаны на стадии пробоподготовки в усовершенствованных методиках, в которых состав экстракционной системы максимально приближен к рабочему составу растворителей, применяемых в качестве раствора пробы или в качестве ПФ в ВЭЖХ [180-183, 186-190].

2.3. Критерий желательности для индивидуальных растворителей

Для целей оценки аналитических свойств растворителей применим и критерий желательности Харрингтона [197]. Были обработаны данные для 32 растворителей в соответствии с производственными правилами, изложенными в табл. 2.1. В соответствии с процедурой оптимизации по Харрингтону [69] для каждого параметра нашли мини-

мально и максимально желаемые значения (Y_{\min} и Y_{\max}), которым присвоили минимальное и максимальное значения частного критерия желательности d_i . Абсолютно неприемлемым значениям Y_{\min} были присвоены значения $d_{\min}=0$, однозначно лучшей характеристике Y_{\max} соответственно присвоены $d_{\max}=1$, в прочих случаях $d_{\min}=0.2$, а $d_{\max}=0.8$. Промежуточные значения найдены после преобразования Y_i в d_i по формуле $d_i = \exp[-\exp(-b_0 - b_1 Y_i)]$. Для интервала $0.2 < d_i < 0.8$ было получено $b_1 = 1.9758 / (Y_{\max} - Y_{\min})$, $b_0 = 1.4999 - b_1 Y_{\max}$.

Нелинейное преобразование Y_i в d_i имеет особую важность, так как малому изменению свойства вблизи ограничивающего предела соответствует резкое изменение желательности. Обобщенную функцию желательности нашли как среднее геометрическое частных функций d_i : $D = (d_1 d_2 \dots d_n)^{1/n}$. Очевидно, что если хоть одно $d_i=0$, то соответствующее $D=0$. Диапазон значений $D=1 \div 0.80$ взяли за высшую оценку в рейтинге, $D=0.80 \div 0.60$ – хорошую, $D=0.60 \div 0.40$ – удовлетворительную, а $D=0.40 \div 0$ – низшую оценку.

Растворители разбили на 4 группы – разбавители для НФХ, универсальные модификаторы, нормально-фазовые и обращенно-фазовые модификаторы. В итоговой табл. 2.13 приведены только те модификаторы, которые хорошо смешиваются с соответствующими разбавителями ($d=1$).

В целом приведенные количественные оценки рейтинга по Харрингтону так же хорошо соответствуют статистике практической ЖХ, как и рассмотренные выше оценки, полученные с применением обобщенных критериев.

Из разбавителей нормальной ПФ наибольший рейтинг у изооктана и гексана. Из липофильных модификаторов для НФХ максимальные оценки у этилацетата, 1,2-дихлорэтана, хлороформа и метилхлорида. Лучшие гидрофильные модификаторы обращенной ПФ – метанол и ацетонитрил. Этанол, ИПС, 1-пропанол, ТГФ и диоксан – универсальные модификаторы, которые, судя по хроматографическим свойствам и способности смешиваться как с алканами, так и с водой, могут успешно применяться и в НФХ, и в ОФХ. Опять же высоким оказался рейтинг у этанола и уксусной кислоты. Ограничения практического применения этанола мы уже обсудили. Уксусная кислота используется часто, но преимущественно в качестве специфического модификатора в многокомпонентных ПФ, концентрация которого невелика. Ее отрицательными свойствами являются неучтен-

ные в рейтинге высокая токсичность концентрированных растворов и резкий запах.

Таблица 2.13

Критерии желательности хроматографических свойств растворителей

Раствори- тель		d_T	d_p	d_η	d_{pD}	$d_{сфД}$	$d_\$$	d_\oplus	D_{pD}	$D_{сфД}$
Разбавители для НФХ	ГН	0.40	0.22	0.78	0.70	0.80	0.67	0.30	0.60	0.62
	ГП	0.57	0.23	0.76	0.67	0.79	0.65	0.30	0.51	0.54
	ПН	0.21	0.20	0.80	0.74	0.77	0.67	0.30	0.57	0.58
	ИО	0.58	0.24	0.74	0.67	0.79	0.77	0.30	0.62	0.65
	ЦГ	0.48	0.31	0.61	0.55	0.78	0.69	0.22	0.56	0.61
Модификаторы для НФХ	БН	0.47	0.32	0.76	0.69	0.39	0.67	0.27	0.61	0.53
	ДО	0.59	0.49	0.49	0.56	0.75	0.45	0.20	0.55	0.59
	ДХЭ	0.49	0.63	0.65	0.49	0.72	0.65	0.20	0.57	0.63
	ДЭЭ	0.20	0.25	0.80	0.75	0.74	0.71	0.30	0.59	0.59
	МХ	0.23	0.68	0.76	0.56	0.71	0.73	0.21	0.57	0.61
	ЭА	0.46	0.40	0.75	0.71	0.64	0.77	0.27	0.64	0.62
Модификаторы для НФХ и ОФХ	АЦ	0.47	0.32	0.76	0.69	0.39	0.67	0.27	0.61	0.53
	ПС	0.59	0.49	0.49	0.56	0.75	0.45	0.20	0.55	0.59
	ИПС	0.49	0.63	0.65	0.49	0.72	0.65	0.20	0.57	0.63
	ТГФ	0.20	0.25	0.80	0.75	0.74	0.71	0.30	0.59	0.59
	ЭЛ	0.23	0.68	0.76	0.56	0.71	0.73	0.21	0.57	0.61
Модификаторы для ОФХ	АН	0.48	0.31	0.77	0.77	0.80	0.52	0.20	0.59	0.60
	ДМ	0.80	0.42	0.64	0.53	0.61	0.55	0.20	0.57	0.59
	ФА	0.38	0.31	0.72	0.80	0.77	0.78	0.20	0.61	0.61
	МС	0.68	0.50	0.53	0.71	0.71	0.57	0.20	0.61	0.61
	УК									
Вода		0.58	0.47	0.61	0.79	0.80	0.80	1.00	0.79	0.79

В табл. 2.13 величины d_T , d_ρ , d_η , d_{RD} , d_{CFD} , $d_\$$ и d_\oplus – частные критерии желательности для температуры кипения, плотности, вязкости, показателя преломления, прозрачности в УФ-свете, стоимости и токсичности, D_{RD} – обобщенный критерий желательности для хроматографа с РФД, а D_{CFD} – для хроматографа с СФД.

Пользуясь табл. 2.13, легко выбрать растворитель с требуемым частным критерием желательности d_i , или рассчитать критерий D с учетом меньшего или большего числа оцениваемых характеристик, исходя из оснащенности лаборатории и поставленных аналитических задач.

Сортировку, фильтрацию, автоматический расчет критериев удобно осуществлять при помощи табличного процессора Microsoft Excel. Необходимо только один раз ввести в электронную таблицу параметры растворителей и формулы расчета критериев.

В работе [198] критерии желательности были апробированы при оптимизации состава ПФ при усовершенствовании методики ВЭЖХ производных алкиламидов 1-гидрокси-2-нафтойной кислоты, которые нерастворимы в воде, гексане, малорастворимы в ацетонитриле, метаноле, но растворимы в ИПС, хлороформе, диоксане и этилацетате, имеют максимумы поглощения в области 254-289 нм. Растворителям, растворяющим алкиламиды, присвоили $d=1$, мало растворяющим – $d=0.5$, а не растворяющим – $d=0$.

Растворителям, имеющим порог прозрачности выше 254 нм, так же присвоили значение $d_{CFD}=0$. Поскольку алкиламиды плохо растворимы в гексане, учли полярность растворителей, включив в таблицу данные по полярности [58] и рассчитали для них критерий желательности. Получили, что оптимальными модификаторами для данной задачи являются хлороформ и диоксан. Действительно, экспериментально подобранные ранее ПФ для алкиламидов имели состав гексан – диоксан и гексан – хлороформ (80:20)

Таким образом, учитывая данные рейтинга по критерию Харрингтона и обзор методик ВЭЖХ в обязательный ассортимент хроматографической лаборатории можно рекомендовать 14 растворителей: воду, гексан, изооктан, метанол, ацетонитрил, этанол, этилацетат, метиленхлорид, 1,2-дихлорэтан, хлороформ, диоксан, ТГФ, ИПС и уксусную кислоту. Критерии Харрингтона и обобщенные критерии, как видно из результатов расчетов, дают сопоставимые рейтинговые оценки аналитических свойств растворителей.

2.4. Целевые функции для бинарных растворителей

Физико-химические и технико-эксплуатационные свойства индивидуальных растворителей могут иметь одновременно и положительные, и отрицательные отклонения от нормы, характерной для гипотетического оптимального растворителя. Например, чем чище растворитель, тем он дороже. Растворитель может иметь небольшую вязкость, но быть очень токсичным. Он может устраивать по большинству свойств, но проявлять слишком высокую или, наоборот, слишком низкую элюирующую силу. Типичный пример – вода для целей ОФ ВЭЖХ. Вода плохо растворяет и практически не вымывает из щетки обращенно-фазового сорбента малополярные и неполярные аналиты, при этом она прозрачна в УФ спектре, безвредна для здоровья, идеальна с точки зрения пожарной безопасности. В связи с тем, что не существует идеальных индивидуальных растворителей, удачно сочетающих весь спектр аналитических свойств в химическом анализе, и особенно, в методах ЖХ возникла необходимость применения смешанных растворителей – бинарных, тройных, реже многокомпонентных. Варьируя качественным и количественным составом смесей из нескольких и даже 2-х растворителей, можно добиться приемлемого сочетания свойств смеси для конкретной аналитической задачи.

В ИАС *СОЛЬВЕНТ-Р* включен алгоритм рейтинговой оценки бинарных растворителей с использованием обобщенных целевых функций, по которому оптимальное решение находится в результате поиска локального максимума этой функции в области, определенной граничными условиями, при изменении объемной доли 2-х компонентов смеси от 0 до 1. БД для выполнения данного алгоритма включает в себя зависимости «состав бинарной смеси – свойство», которые используются как частные целевые функции в процедуре оптимизации состава для конкретных инструментальных методик. Информация в БД почерпнута из литературных данных [58145,180,184,199-216,221-225,229,230].

Вариативность степени чистоты растворителей, в зависимости от способа получения, партии, методов очистки и контроля чистоты, приводит к тому, что физико-химические параметры, найденные в разных лабораториях, могут отличаться друг от друга на несколько процентов, о чем свидетельствует анализ литературных данных. В практической работе химики имеют дело не с «идеальными» (абсо-

лотно чистыми) растворителями, а с «реальными», имеющими разнообразные минорные примеси. Из-за этого информация о том, как изменяются физико-химические свойства смеси от состава основных компонентов, носит вероятностный характер.

Аналитические свойства бинарного растворителя зависят от состава не аддитивно [58]. Наблюдаются как положительные, так и отрицательные отклонения от аддитивности в пределах от долей до десятков процентов. Иногда зависимости носят *S*-образный характер. В табл. 2.14 приведены математические модели, заложенные в БЗ системы *СОЛВЕНТ-Р* для прогноза свойств бинарной системы растворителей при произвольном составе.

В тех случаях, когда характер изменения свойства от состава бинарной смеси был не известен, в системе *СОЛВЕНТ-Р* использовали аддитивные модели. В первом приближении аддитивные модели расчета свойства, особенно в случаях, когда $\Delta\varphi$ невелико (не более 5%) пригодны для прогноза большинства аналитических свойств. Однако при большом размахе выборки, когда наблюдается неаддитивное изменение физико-химических свойств смесей, его необходимо учитывать при поиске оптимального решения. Для приведенных в табл. 2.14 математических моделей методом компьютерной оптимизации были подобраны эмпирические коэффициенты, позволяющие адекватно описать при помощи этих моделей экспериментальные зависимости свойств бинарных растворителей, используемых в качестве бинарных ПФ в ВЭЖХ или экстрагентов в ЖЖЭ в самом широком диапазоне составов ($\varphi_i=0-1$).

Приготовление жидких смесей с массовой или молярной концентрацией требует взвешивания, дополнительных расчетов и не прижилось в практике приготовления ПФ или экстрагентов. Ручная или автоматическая дозировка жидких компонентов в лабораторных условиях для создания бинарных или многокомпонентных смесей растворителей для ЖХ или ЖЖЭ обычно осуществляется волюмометрическим методом.

При подаче в ёмкость (смеситель) заданных объемов смешиваемых растворителей за объемную долю i -го компонента φ_i по умолчанию принимают величину, полученную отношением *измеряемых величин*, например:

$$\varphi_2 = V_2 / (V_1 + V_2), \quad (2.23)$$

где V_1 и V_2 – смешиваемые объемы, то есть исходят из того, что плотность есть объемно-аддитивная функция состава:

$$\rho_{12} = \rho_2 \varphi_2 + \rho_1 (1 - \varphi_2). \quad (2.24)$$

Вместе с тем, в большинстве бинарных неводных смесей наблюдаются относительные отклонения экспериментальных значений ρ_{12} от рассчитанных по (2.24) до 1%. Для водно-органических смесей эти отклонения могут превышать 4% [145]. Истинное значение $\varphi_{2,\text{ист}}$ равно:

$$\varphi_{2,\text{ист}} = m_2 \cdot \rho_{12} / \rho_2, \quad (2.25)$$

где ρ_{12} – плотность бинарной смеси, m_2 и ρ_2 – массовая доля и плотность модификатора. Для его определения необходимо проводить специальные эксперименты.

Таблица 2.14

Зависимости аналитических свойств бинарных смесей растворителей, использованные в БЗ системы *СОЛВЕНТ-Р*

Параметр ПФ	Уравнения (2.1)-(2.22)	Ссылки
Плотность, ρ , г/см ³	$\rho_{12} = \rho_1 + \beta \rho_1 \varphi_2 + (\rho_2 - \beta \rho_1 - \rho_1) \varphi_2^2$ (2.1)	145, 199, 206, 210
Оптическая плотность	$A_{12} = A_1 + \beta A_1 \varphi_2 + (A_2 - \beta A_1 - A_1) \varphi_2^2$ (2.2)	200, 202, 203, 227
Оптическая плотность водных смесей	$A_{12} = (A_2 - \beta) \varphi_2 + \beta \varphi_2^2$ (2.3)	200, 202, 203, 227
Показатель преломления, n_D	$n_{12} = n_1 + \beta n_1 \varphi_2 + (n_2 - \beta n_1 - n_1) \varphi_2^2$ (2.4) $n_{12} = n_1 + \alpha n_1 \varphi_2 + (b n_2 - \alpha n_1 - n_1) \varphi_2^2 + (n_2 - b n_2) \varphi_2^3$ (2.5)	147, 207, 214, 228
Диэлектрическая проницаемость, ε_r	$\varepsilon_{12} = \varepsilon_1 + \beta \varepsilon_1 \varphi_2 + (\varepsilon_2 - \beta \varepsilon_1 - \varepsilon_1) \varphi_2^2$ (2.6)	211, 212
Предел прозрачности в УФ свете, нм	$\lambda_{12}^* = \{ \lambda_{12}^* + [\lambda_{22}^* (1 + A + B) - \lambda_{11}^*] \varphi_2 \} / (1 + A \varphi_2 + B \varphi_2^2)$ (2.7)	200

Продолжение табл. 2.14

Вязкость, η , сп	$\eta_{12}=\{\eta_1+[\eta_2(1+A+B)-\eta_1]\varphi_2\}/(1+A\varphi_2+B\varphi_2^2)$ (2.8)	146
Коэффициент проницаемости, ψ , м/с	$\psi_{12}=\psi_1+A\psi_1\varphi_2+(B\psi_2-A\psi_1-\psi_1)\varphi_2^2+(B\psi_2-\psi_1)\varphi_2^3$ (2.9)	205
Температура кипения, $t_{\text{кип}}$, °С	$t_{12}=\{t_1+[t_2(1+A+B)-t_1]\varphi_2\}/(1+A\varphi_2+B\varphi_2^2)$ (2.10)	213
Элюирующая сила, ε^o в ОФХ	$R_{L12}=R_{L2}\varphi_2$ (2.11)	217
Элюирующая сила, ε^o в НФХ	$\varepsilon^o_{12}=\{\varepsilon^o_1+[\varepsilon^o_2(1+A+B)-\varepsilon^o_1]\varphi_2\}/(1+A\varphi_2+B\varphi_2^2)$ (2.12) $\log \varepsilon^o_{12}=\log \varepsilon^o_{12}+A\log \varphi_2$ (2.13)	201, 215
Поверхностное натяжение, σ , мН/м	$\sigma_{12}=\sigma_1+A\sigma_1\varphi_2+(B\sigma_2-A\sigma_1-\sigma_1)\varphi_2^2+(\sigma_2-B\sigma_2)\varphi_2^3$ (2.14)	205, 216
Температура вспышки, $t_{\text{всп}}$, °С	$t_{\text{всп}12}=a\varphi_1^3+b\varphi_1^2+c\varphi_1+t_{\text{всп}12}$ (2.15)	218, 220
Давление насыщенного пара, $P_{\text{пар}}$, Па	$P_{12}=P_1(1-\varphi_2)+P_2\varphi_2$ (2.16)	4, 58
Температура самовоспламенения, $t_{\text{свп}}$, °С	$t_{\text{свп}12}=t_{\text{свп}1}(1-\varphi_2)+t_{\text{свп}2}\varphi_2$ (2.17)	58
ПДК, мг/м ³	$\text{ПДК}_{12}=\text{ПДК}_1(1-\varphi_2)+\text{ПДК}_2\varphi_2$ (2.18)	4, 58
Стоимость, у.е.	$\$_{12}=\$_1(1-\varphi_2)+\$_2\varphi_2$ (2.19)	4,58
Коэффициент распределения D аналита	$D_{12}=\{D_1+[D_2(1+A+B)-D_1]\varphi_2\}/(1+A\varphi_2+B\varphi_2^2)$ (2.20)	196
Растворимость аналита	$L_{12}=L_2\varphi_2+L_1(1-\varphi_2)$ (2.21) $L_{12}=L_1+AL_1\varphi_2+(L_2-AL_1-L_1)\varphi_2^2$ (2.22)	4

В работе [58] предложено ориентироваться на $\varphi_{2,\text{ист}}$. Однако пользоваться данными « $\varphi_{2,\text{ист}}$ – свойство» в аналитической практике так же неудобно, как и данными « m_2 – свойство» или « x_2 – свойство». Поэтому в настоящей работе под φ_2 взяли привычные для хроматографистов значения, получаемые расчетом из *измеряемых* величин по

(2.23), дополнительным условием приняли, что смесь приготовлена при 298 К.

В следующих разделах 2-й главы рассмотрены свойства бинарных растворителей, представлены результаты экспериментальных измерений и обсуждены величины коэффициентов математических моделей, описывающих эксперимент.

2.4.1. Плотность бинарных растворителей

Нормально-фазовые элюенты. Проанализируем влияние объемной доли модификаторов φ_2 на ρ_{12} бинарных ПФ для НФХ, в которых в качестве разбавителя применяют гексан. В этом варианте ЖХ чаще всего применяют смеси, состоящие из неполярного разбавителя (гексана, гептана или изооктана) и более полярного модификатора (спирт, простой или сложный эфир, галогеналкан и др.). Варьированием φ_2 и природы модификатора направленно изменяют аналитические свойства элюента.

Таблица 2.15

Экспериментальные значения ρ_{12} (г/мл) для системы гексан – диоксан при разных температурах (К)

φ_2	292	298	302.5
	ρ_{12}		
0	0.6599	0.6547	0.6519
0.1	0.6964	0.6908	0.6865
0.2	0.7325	0.7265	0.7222
0.3	0.7689	0.7621	0.7591
0.4	0.8065	0.8004	0.7966
0.5	0.8444	0.8382	0.8340
0.8	0.9585	0.9520	0.9484
1	1.0337	1.0268	1.0237
Коэфф. β ур. (2.1)	0.55	0.55	0.55

При создании ИАС, предназначенной для оценки и сопоставления качества ЖХ методик по обобщенным целевым функциям, целесообразно получить аналитические зависимости параметров типичных бинарных ПФ, влияющих на механическую работу хроматографа

(плотность, вязкость, летучесть и т.д.). Если говорить о плотности, как частной целевой функции, то при оптимизации состава ПФ следует учитывать, что более плотные жидкости требуют меньшей высоты напора над входом в насос, что особенно важно для микроколоночной аналитической ВЭЖХ, осуществляемой на хроматографах со шприцевым насосом среднего давления. Отношение плотности к вязкости важно для препаративной ВЭЖХ: из-за перепада давления в трубопроводах возможен переход от ламинарного к турбулентному режиму потока, в результате чего в системе возрастает противодавление.

Таблица 2.16

Экспериментальные значения ρ_{12} (г/мл) для системы гексан – этилацетат при разных температурах (К)

φ_2	293	299	303	305	314.5
	ρ_{12}				
0	0.6585	0.6552	0.6516	0.6454	0.6432
0.1	0.6796	0.6752	0.6721	0.6653	0.6625
0.2	0.7024	0.6979	0.6943	0.6877	0.6843
0.3	0.7254	0.7200	0.7154	0.7110	0.7067
0.4	0.7489	0.7433	0.7381	0.7335	0.7310
0.5	0.7730	0.7676	0.7627	0.7569	0.7543
0.8	0.8467	0.8421	0.8355	0.8310	0.8263
1	0.9010	0.8940	0.8881	0.8849	0.8802
Коэфф. β ур. (3.1)	0.33	0.32	0.31	0.32	0.32

При описании зависимостей $\rho_{12}=f(\varphi_2)$ использована параболическая функция (2.1), удобная для практических расчетов, она содержит только один эмпирический коэффициент, ограничивают изотермы при $\varphi_2=0$ или 1 значениями ρ исходных растворителей, достаточно точно учитывает отклонения от аддитивности (степени аппроксимации $R^2 > 0.995$). В табл. 2.15-2.18 приведены экспериментальные данные по влиянию φ_2 на ρ_{12} системы гексан – модификатор и найденные значения эмпирических коэфф. β уравнения (2.1). Для систем гексан – диоксан (этилацетат, ТГФ) данные зарегистрированы при разных температурах. Для системы гексан – диэтиловый эфир, из-за высокой летучести последнего, корректные измерения при температуре выше 293 К сложно проводить.

Таблица 2.17

Экспериментальные значения ρ_{12} (г/мл) для системы гексан – ТГФ при разных температурах (К)

φ_2	288.5	294.5	298	302.5	308
	ρ_{12}				
0	0.6630	0.6571	0.6556	0.6480	0.6468
0.1	0.6859	0.6792	0.6769	0.6717	0.6677
0.2	0.7084	0.7015	0.6996	0.6936	0.6903
0.3	0.7308	0.7234	0.7211	0.7204	0.7137
0.4	0.7547	0.7481	0.7453	0.7401	0.7370
0.5	0.7767	0.7705	0.7674	0.7647	0.7578
0.8	0.8456	0.8389	0.8372	0.8321	0.8275
1	0.8924	0.8855	0.8829	0.8785	0.8733
Коэфф. β ур. (3.1)	0.34	0.32	0.35	0.36	0.34

На рис. 2.2 приведены примеры найденных изотерм $\rho_{12}=f(\varphi_2)$. Коэффициенты β уравнения (2.1) в рассмотренных диапазонах температур для смесей гексана с модификаторами слабо зависят от температуры и определяются природой модификатора. При варьировании не только модификатора, но и разбавителя (табл. 2.19), установлено [145], что между значениями β и разностью плотностей разбавителя и модификатора $\Delta\rho=\rho_1-\rho_2$ наблюдается нелинейная зависимость, которую можно линеаризовать[210], преобразовав в полулогарифмическую анаморфозу (рис. 2.3) со степенью аппроксимации $R^2=0,98$ для общего числа точек $n=32$:

$$\log(\beta+1)=0,44-0,41(\Delta\rho+1). \quad (2.26)$$

Уравнение (2.26) может быть использовано для прогноза величин β по $\Delta\rho$, не прибегая к экспериментальному определению вида изотерм и итерационным расчетам при поиске коэффициента β .

В нормально-фазовых бинарных ПФ диссоциация гомомолекулярных ассоциатов более полярного модификатора, не взаимодействующего с разбавителем, приводит к расширению, т. е. к положительным отклонениям $\delta=(1-\rho_{12}/\rho_{\text{адд}})100$. Наиболее выражены отклонения от аддитивности в системе гексан – этилацетат, они достигают до 1,1% при $\varphi_2=0,4$. Коэфф. β ур. (2.1) для других нормально-фазовых бинарных смесей также положителен.

Таблица 2.18

Экспериментальные значения ρ_{12} для системы гексан – диэтиловый эфир при 293 К

φ_2	ρ_{12}
0	0.6582
0.1	0.6626
0.2	0.6661
0.3	0.6720
0.4	0.6769
0.5	0.6825
0.8	0.7000
1	0.7149

Таблица 2.19

Значения эмпирических коэффициентов β уравнения (2.1) для изотерм плотности бинарных смесей растворителей для НФХ при 298 К [145, 210]

Система ($\varphi_2=0-1$)	ρ_1	ρ_2	β
Гептан – диоксан	0.6840	1.0268	0.47
Циклогексан – диоксан	0.7790	1.0268	0.28
Гептан – этилацетат	0.6840	0.9020	0.29
Гексан – диоксан	0.6548	1.0268	0.55
Гексан – этилацетат	0.6548	0.9020	0.32
Гексан – диэтиловый эфир	0.6548	0.7076	0.06
Гексан – тетрагидрофуран	0.6548	0.8842	0.34
Гексан – хлороформ	0.6548	1.4830	1.22
Гексан – 1,2-дихлорэтан	0.6548	1.2458	0.88
Гексан – 1-пропанол	0.6548	0.7995	0.21
Гексан – ИПС	0.6548	0.7810	0.17
Гексан – этанол	0.6548	0.7893	0.19
Дихлорметан – 1-пропанол	1.3266	0.7995	-0.39
Хлороформ – метанол	1.4830	0.7868	-0.49
Этилацетат – метанол	0.9020	0.7868	-0.12
Диэтиловый эфир – метанол	0.7076	0.7868	0.16
Бензол – метанол	0.8737	0.7868	-0.10
Ацетонитрил – метанол	0.7767	0.7868	0.03
Тетрагидрофуран – метанол	0.8842	0.7868	-0.09

С увеличением температуры плотность практически линейно уменьшается (табл. 2.22, рис. 2.3):

$$\rho_i = a - bT_i \quad (2.27)$$

Чистые растворители (гексан, модификаторы) имеют индивидуальные значения коэффициентов a и b температурной зависимости (2.27), а для их смесей характерны промежуточные величины (табл. 2.22). Данные этой таблицы позволяют прогнозировать изменения ρ при изменении температуры. В работе [123] приведены аналогичные температурные зависимости для индивидуальных растворителей.

Таблица 2.20

Эмпирические коэффициенты a и $b \times 10^3$ уравнения (2.27)
для систем гексан – модификатор

φ_2	диоксан		этилацетат		ТГФ	
	a	$b \times 10^3$	a	$b \times 10^3$	a	$b \times 10^3$
1	1.32	1.0	1.18	1.0	1.17	1.0
0.8	1.25	1.0	1.14	1.0	1.11	0.9
0.5	1.14	1.0	1.04	0.9	1.05	0.9
0.4	1.06	0.9	1.00	0.9	1.11	0.9
0.3	1.04	0.9	0.99	0.9	1.02	0.9
0.2	1.11	0.9	0.96	0.9	0.98	0.9
0.1	0.94	0.8	0.93	0.8	0.96	0.9
0	0.88	0.8	0.88	0.8	0.92	0.9

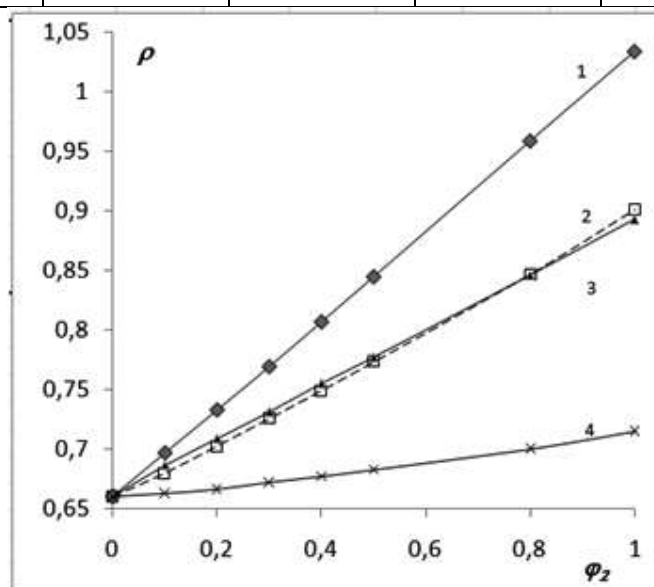


Рис. 2.2. Зависимость плотности от объемной доли модификатора в системе гексан – модификатор: 1 – диоксан; 2 – этилацетат; 3 – ТГФ; 4 – диэтиловый эфир; 292 К

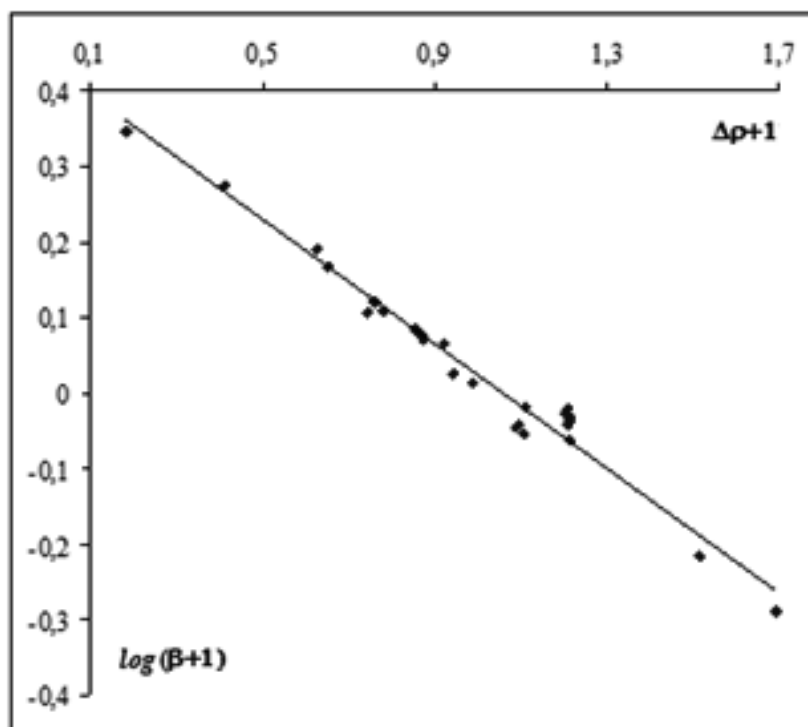


Рис. 2.3. Зависимость между коэффициентом β ур. (2.1) и разностью плотностей разбавителя и модификатора $\Delta\rho$

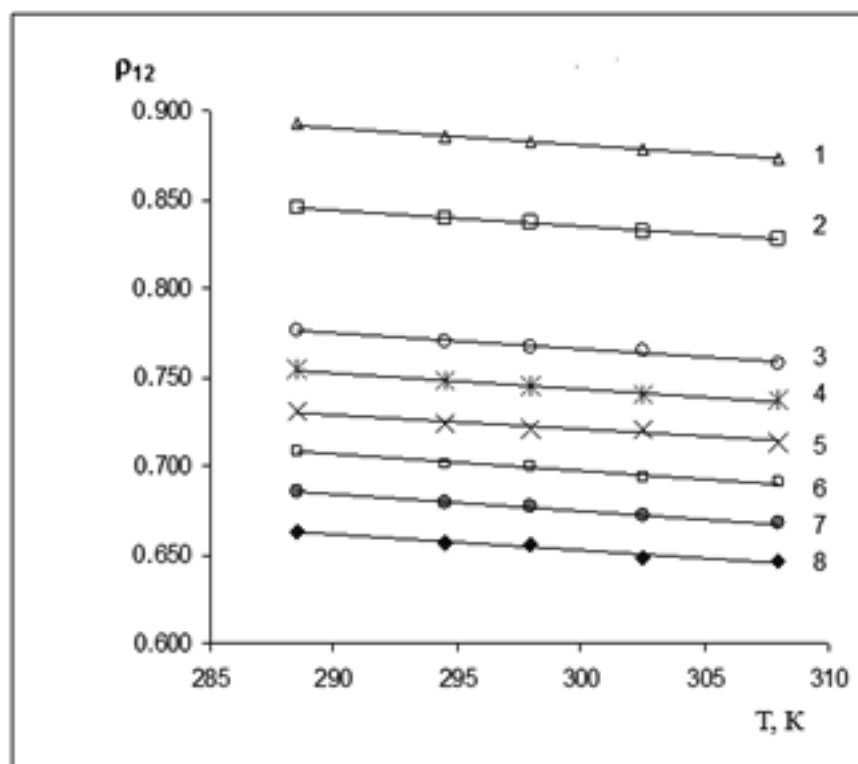


Рис. 2.4. Температурные зависимости $\rho_i=a-bT_i$ для системы гексан – этилацетат при различных объемных долях модификатора (φ_2): 1) 1; 2) 0.8; 3) 0.5; 4) 0.4; 5) 0.3; 6) 0.2; 7) 0.1; 8) 0

Обращенно-фазовые элюенты. В ОФХ в качестве модификаторов применяют гидрофильные растворители – ацетонитрил, метанол, ТГФ и другие полностью или частично растворимые в воде растворители. В табл. 2.21-2.25 приведены зависимости $\rho_{12}=f(\varphi_2)$, а на рис.2.5 и 2.6 примеры 3D-диаграмм. Поскольку объемные эффекты для водно-органических смесей выражены сильно, в табл. 2.21-2.25 показаны не только φ_2 , но и $\varphi_{2,ист.}$ В водных смесях гетеромежмолекулярные взаимодействия, связанные с образованием ассоциатов, приводят к сжатию смеси, и к отрицательным значениям δ .

Положение максимального по абсолютной величине отклонения δ , как показано в [145,219,226], обусловлено стехиометрией ассоциатов и конкуренцией гомо- и гетеромежмолекулярных взаимодействий двух растворителей. Коэфф. β ур. (2.1) для типичных бинарных смесей вода-модификатор имеют отрицательные значения в диапазоне от -0.02 до -0.22 (табл. 2.26). При повышении температуры плотность водно-органических смесей уменьшается сильнее, чем у чистой воды. Возможно, этот эффект обусловлен тем, что равновесие между гомо- и гетеромежмолекулярными ассоциатами, приводящими к сжатию смесей, при увеличении температуры смещается в сторону более «рыхлых» гомо- или гетеромежмолекулярных структур. Уменьшение плотности в диапазоне 283-313 К можно, как и для нормально-фазовых систем, адекватно описать линейным ур. (3.27) (табл. 2.27).

Таблица 2.21

Экспериментальные значения ρ_{12} (г/мл) для систем вода – ацетонитрил при разных температурах, К

φ_2	$\varphi_{2,ист}$ (293)	277	281	285	291	298
		ρ_{12}				
0	0	1.0000	0.9999	0.9990	0.9988	0.9977
0.1	0.1031	0.9802	0.9792	0.9782	0.9773	0.9757
0.2	0.2057	0.9600	0.9585	0.9574	0.9559	0.9537
0.3	0.3076	0.9399	0.9378	0.9366	0.9344	0.9317
0.4	0.4090	0.9197	0.9171	0.9158	0.9130	0.9097
0.5	0.5098	0.8995	0.8965	0.8950	0.8915	0.8878
0.8	0.8084	0.8390	0.8344	0.8326	0.8271	0.8218
1	1	0.7986	0.7930	0.7910	0.7842	0.7778
Коэфф. β ур. (3.1)		-0.20	-0.21	-0.21	-0.21	-0.22

Таблица 2.22

Экспериментальные значения ρ_{12} (г/мл) для систем вода – метанол
при разных температурах, К

φ_2	$\varphi_{2,\text{ист}}(293)$	288	293	298
		ρ_{12}		
0	0	0.9997	0.9985	0.9961
0.1	0.1055	0.9811	0.9795	0.9766
0.2	0.2101	0.9636	0.9614	0.9582
0.3	0.3137	0.9454	0.9427	0.9391
0.4	0.4163	0.9264	0.9233	0.9194
0.5	0.5180	0.9066	0.9030	0.8990
0.8	0.8173	0.8427	0.8383	0.8338
1	1	0.7963	0.7917	0.7866
Коэфф. β ур. (3.1)		-0.17	-0.18	-0.18

Таблица 2.23

Значения ρ_{12} (г/мл) для систем вода – ТГФ при разных Т, К

φ_2	$\varphi_{2,\text{ист}}(293)$	289.5	292.5	296	297	301	304.5	307	310.5
		ρ_{12}							
0	0	0.9989	0.9984	0.9980	0.9976	0.9963	0.9954	0.9947	0.9934
0.1	0.1027	0.9938	0.9941	0.9927	0.9929	0.9906	0.9919	0.989	0.9891
0.2	0.2049	0.9923	0.9922	0.9911	0.9906	0.9886	0.9883	0.9859	0.9855
0.3	0.3065	0.9881	0.9871	0.9859	0.9856	0.9821	0.9822	0.9795	0.9781
0.4	0.4076	0.9782	0.9771	0.9751	0.9749	0.9706	0.9711	0.9667	0.9665
0.5	0.5081	0.9697	0.9697	0.9664	0.9662	0.9602	0.9624	0.9578	0.9572
0.8	0.8064	0.9269	0.9254	0.9230	0.9225	0.9169	0.9169	0.911	0.9102
1	1	0.8899	0.8874	0.8847	0.8840	0.8780	0.8770	0.8723	0.8701
Коэфф. β ур. (3.1)		-0.01	-0.01	-0.02	-0.01	-0.02	-0.02	-0.03	-0.02

Таблица 2.24

Значения ρ_{12} (г/мл) для систем вода – ИПС при разных Т, К

φ_2	$\varphi_{2,\text{ист}} (298)$	288	293	303
		ρ_{12}		
0	0	0.9997	0.9985	0.9957
0.1	0.1050	0.9819	0.9802	0.9757
0.2	0.2091	0.9621	0.9596	0.9535
0.3	0.3122	0.9418	0.9387	0.9314
0.4	0.4143	0.9211	0.9174	0.9092
0.5	0.5155	0.9002	0.8959	0.8870
0.8	0.8130	0.8340	0.8291	0.8203
1	1	0.7896	0.7854	0.7771
Коэфф. β ур. (3.1)		-0.19	-0.20	-0.22

Таблица 2.25

Значения ρ_{12} (г/мл) для систем вода – этанол при разных Т, К

φ_2	$\varphi_{2,\text{ист}} (298)$	283	293	303	313
		ρ_{12}			
0	0	0.9998	0.9985	0.9957	0.9923
0.1	0.1047	0.9836	0.9805	0.9761	0.9717
0.2	0.2086	0.9671	0.9621	0.9566	0.9504
0.3	0.3116	0.9495	0.9429	0.9366	0.9288
0.4	0.4138	0.9309	0.9231	0.9161	0.9071
0.5	0.5151	0.9112	0.9025	0.8950	0.8851
0.8	0.8139	0.8456	0.8363	0.8285	0.8176
1	1	0.7979	0.7895	0.7809	0.7722
Коэфф. β ур. (3.1)		-0.15	-0.18	-0.19	-0.21

Таблица 2.26

Значения эмпирических коэффициентов β уравнения (2.1) для изотерм плотности бинарных систем вода – модификатор при 298 К

Система ($\varphi_2=0-1$)	ρ_1	ρ_2	β
Вода – этанол	0.9971	0.7893	-0.18
Вода – метанол	0.9971	0.7868	-0.18
Вода – ТГФ	0.9971	0.8842	-0.02
Вода – ацетон	0.9971	0.7845	-0.05
Вода – ацетонитрил	0.9971	0.7767	-0.22
Вода – ИПС	0.9971	0.7810	-0.21

Таблица 2.27

Эмпирические коэффициенты a и b уравнения (2.27)
для систем вода – модификатор

φ_2	метанол		ацетонитрил		ТГФ		ИПС		этанол	
	a	$b \times 10^3$	a	$b \times 10^3$	a	$b \times 10^3$	a	$b \times 10^3$	a	$b \times 10^3$
0	1.10	0.4	1.03	0.1	1.08	0.3	1.08	0.3	1.07	0.3
0.1	1.11	0.5	1.04	0.2	1.07	0.3	1.10	0.4	1.10	0.4
0.2	1.12	0.5	1.04	0.3	1.10	0.4	1.13	0.6	1.12	0.6
0.3	1.13	0.6	1.05	0.4	1.13	0.5	1.14	0.7	1.14	0.7
0.4	1.13	0.7	1.05	0.5	1.15	0.6	1.15	0.8	1.15	0.8
0.5	1.13	0.8	1.05	0.6	1.16	0.6	1.15	0.9	1.15	0.9
0.8	1.10	0.9	1.07	0.8	1.18	0.9	1.10	0.9	1.11	0.9
1	1.08	1.0	1.07	1.0	1.17	1.0	1.03	0.8	1.04	0.9

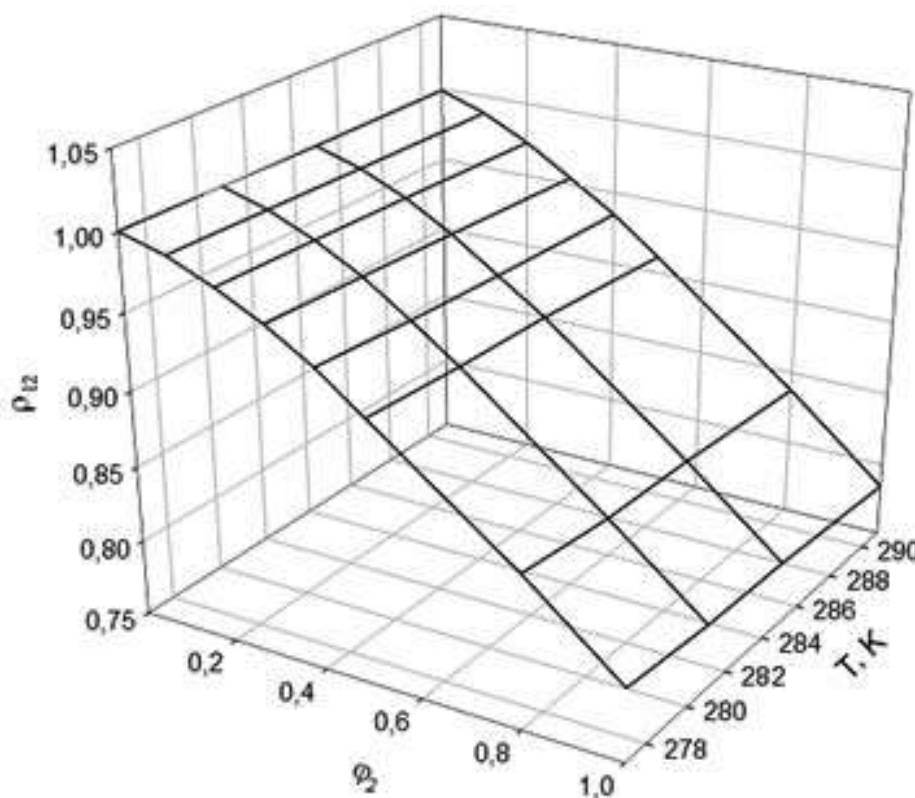


Рис. 2.5. Изменение плотности в системе «вода – ацетонитрил» в зависимости от φ ацетонитрила и температуры

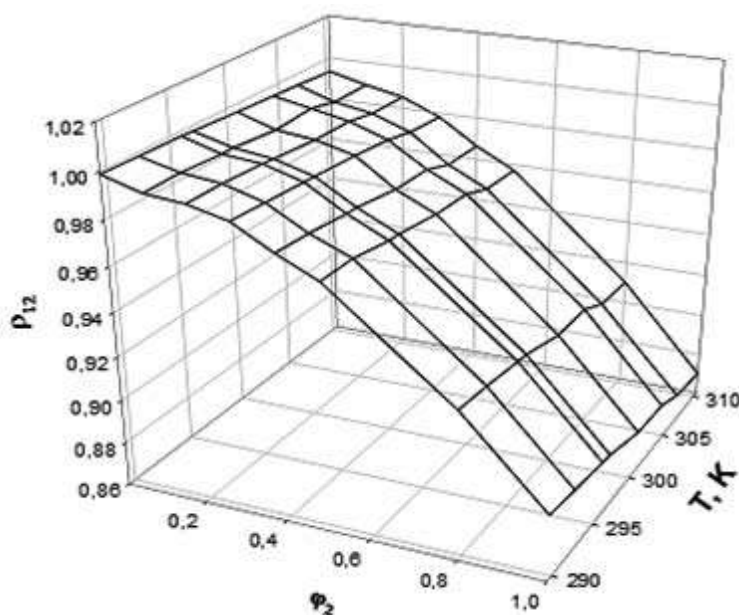


Рис. 2.6. Изменение плотности в системе «вода-ТГФ» в зависимости от объемной доли ТГФ и температуры

Рассмотренные эмпирические зависимости $\rho_{12}=f(\varphi_2)$ в бинарных растворителях и от температуры включены в БД по физико-химическим свойствам ПФ, применяемых в НФХ и ОФХ. Они позволяют учесть неаддитивность плотности и температурные эффекты при оптимизации качественного и количественного состава.

2.4.2. Поглощение бинарных растворителей в УФ-спектре

Оптические свойства бинарных ПФ как составляющие целевые функции при оптимизации условий НФХ и ОФХ с УФД рассмотрены в [200,202,203,227]. Прозрачность ПФ в области, близкой к аналитической длине волны для многих фармацевтических аналитов, БАВ является ключевым требованием при использовании УФД. При повышенном фоновом поглощении (оптической плотности элюента при аналитической длине волны), предел обнаружения аналита может быть заметно искажен шумом нулевой линии, сокращается рабочий диапазон линейности детектора [200].

На рис. 2.7-2.14 приведены 3D-диаграммы зависимости оптической плотности A от состава бинарных ПФ в диапазоне 200-300 нм, полученные при 298 К. Изотермы A бинарных ПФ нелинейны, особенно в области ниже 250 нм. В связи с этим предложено для варианта НФХ описывать их ур. (2.2), а для варианта ОФХ, когда поглоще-

нием воды можно пренебречь, ур. (2.3) Эмпирические коэфф. этих уравнений для изученных систем приведены в табл. 2.28 и 2.29. В интервале 270-300 нм величину A_{12} для типичных бинарных смесей можно считать аддитивной и задавать их в БД в виде функции:

$$A_{12}=A_2\varphi_2+A_1(1-\varphi_2). \quad (2.28)$$

Чем ближе λ к пределу прозрачности (λ^*) одного из компонентов ПФ ($A_i=1.0$ при $\varphi_i=1$), тем более заметно проявляется неаддитивность A_{12} . В связи с этим, при детектировании аналитов, имеющих максимум поглощения в коротковолновой области УФ-света, учет неаддитивного характера изотерм оптической плотности позволяет улучшить чувствительность и надежность хроматографической методики анализа.

Установлено [200], что величины λ^* могут изменяться в виде кривых насыщения, которые адекватно описываются рациональным уравнением (2.7). Важным практическим выводом из найденного эффекта является необходимость учета возможного резкого ухудшения прозрачности элюента при повышении объемной доли в интервале $\varphi_2=0-0.1$ таких модификаторов, как диоксан, ТГФ, этилацетат, хлороформ, недостаточно очищенный ацетонитрил (это требование становится наиболее актуальным именно при использовании растворителей не слишком высокой степени очистки).

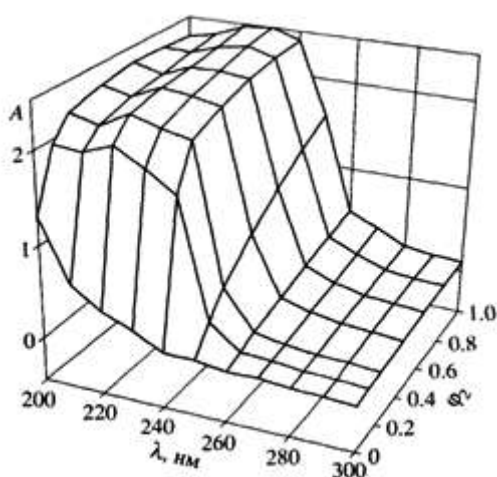


Рис. 2.7. Зависимость A_{12} от φ_2 и длины волны для ПФ гексан – этилацетат

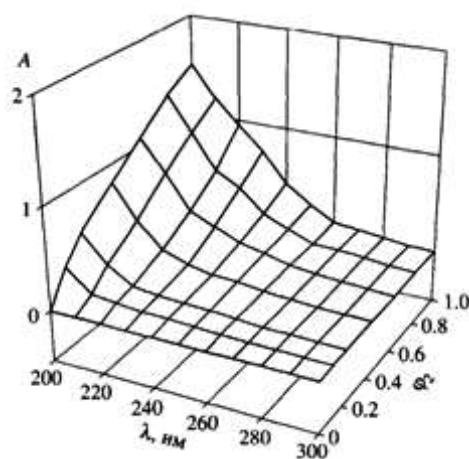


Рис. 2.8. Зависимость A_{12} от φ_2 и длины волны для ПФ вода – метанол

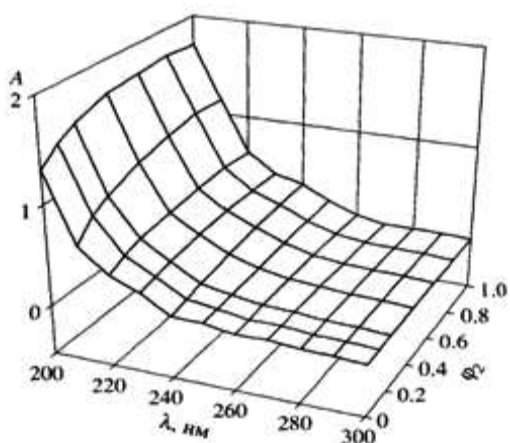


Рис. 2.9. Зависимость A_{12} от φ_2 и длины волны для ПФ гексан – ИПС

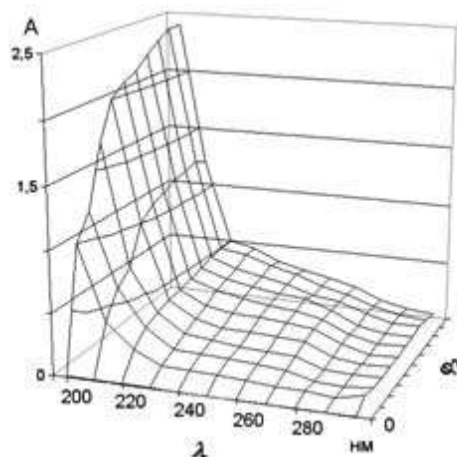


Рис. 2.10. Зависимость A_{12} от φ_2 и длины волны для ПФ вода – ацетонитрил

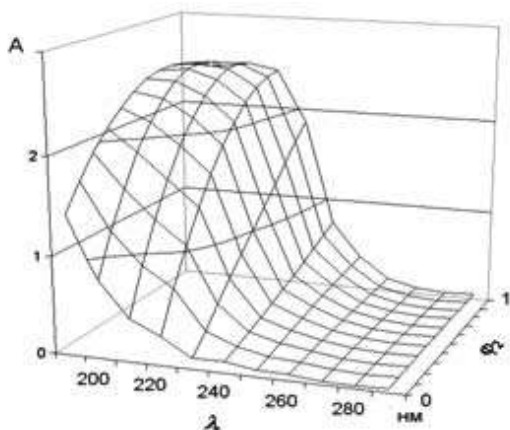


Рис. 2.11. Зависимость A_{12} от φ_2 и длины волны для ПФ гексан – диоксан

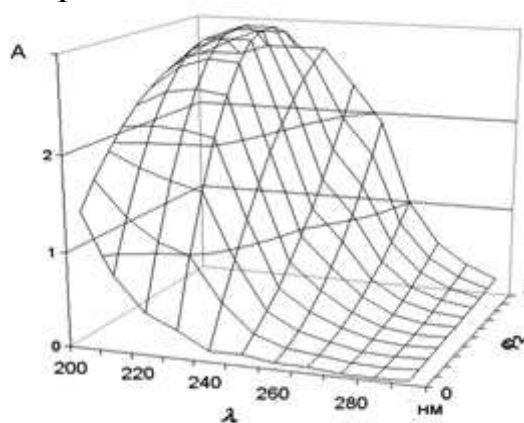


Рис. 2.12. Зависимость A_{12} от φ_2 и длины волны для ПФ гексан – хлороформ

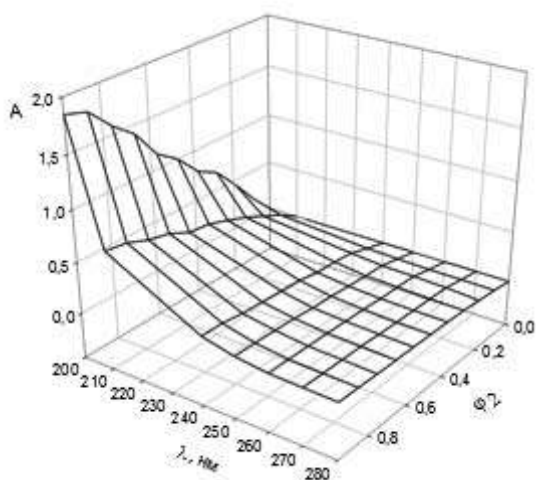


Рис. 2.13. Зависимость A_{12} от φ_2 и длины волны для ПФ вода – этанол

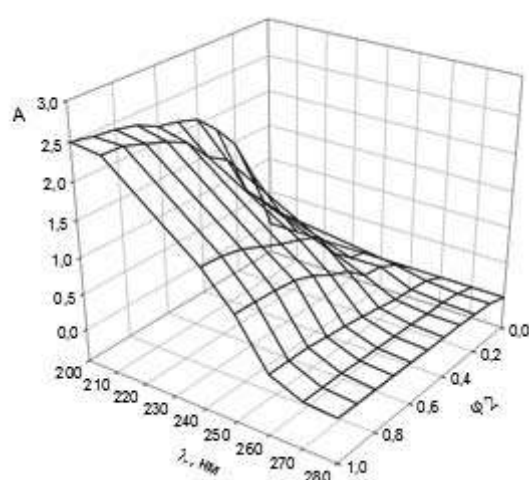


Рис. 2.14. Зависимость A_{12} от φ_2 и длины волны для ПФ вода – ИПС

Таблица 2.28

Коэффициенты β уравнения (2.2) для изотерм оптической плотности бинарных систем для НФХ при 298 К

Система	λ , нм	A_1	A_2	β
Гексан – диоксан	250	0.133	0.733	4.68
	260	0.060	0.360	7.30
	270	0.070	0.144	2.22
	280	0.040	0.040	2.11
Гексан – хлороформ	250	0.133	2.093	12.63
	260	0.060	1.390	17.50
	270	0.070	0.070	5.22
	280	0.040	0.040	1.83
Гексан – этилацетат	250	0.133	1.583	21.55
	260	0.060	0.498	9.49
	270	0.070	0.350	3.47
	280	0.040	0.180	5.95
Гексан – ИПС	250	0.133	0.203	1.38
	260	0.060	0.090	2.49
	270	0.070	0.034	0.89
	280	0.040	0.034	1.77
Гексан – этанол	250	0.133	0.373	2.61
	260	0.060	0.260	3.93
	270	0.070	0.259	2.51
	280	0.040	0.155	1.52

Фиалковым [226], показано, что изотермы оптической плотности в двойных системах с химически невзаимодействующими компонентами (гексан – ацетон, декан – ацетон, бензол – ацетон) максимально отклоняются от аддитивности в 5-6 раз больше, чем изотермы объемных свойств, и в 9-11 раз больше, чем изотермы показателя преломления. Абсолютные отклонения для каждой длины волны увеличиваются с увеличением содержания поглощающего компонента, а для каждой смеси – с приближением λ к λ максимума поглощения. Таким образом, даже в смесях с высокочистыми растворителями будут наблюдаться отклонения от аддитивности ΔA , вызванные не только минорными примесями, но и физико-химическими процессами, возбуждающими отклонения от аддитивности объемных свойств. Экстремумы отклонений A_{12} от аддитивности лежат вблизи составов $\varphi_2=0.40-0.60$, их положение

$\varphi_2=0.40-0.60$, их положение примерно совпадает с положением экстремумов в изотермах объемных свойств данных бинарных систем [200].

Таблица 2.29

Коэффициенты β уравнения (2.3) для изотерм оптической плотности бинарных систем для ОФХ при 298 К

Система	λ , нм	A_2	β
Вода – метанол	250	0.220	-0.06
	260	0.101	-0.08
	270	0.080	-0.03
	280	0.052	-0.03
Вода – ТГФ	250	0.297	0.16
	260	0.070	0.01
	270	0.070	-0.01
	280	0.059	-0.02
Вода – ацетонитрил	250	0.521	-1.01
	260	0.225	-0.51
	270	0.090	-0.23
	280	0.084	-0.19
Вода – этанол	250	0.157	-0.18
	260	0.118	-0.17
	270	0.108	-0.14
	280	0.099	-0.11

Таким образом, анализ диаграмм $A_{12}=f(\varphi_2)$ указывает на возможность существования не только "кажущихся" отклонений от закона Бугера – Ламберта – Бера, вызванных примесями или аппаратными артефактами (неидеальной монохроматичностью потока лучистой энергии, флуктуациями температуры, погрешностью измерения величин $A>2$), но и "истинных" отклонений, связанных с протеканием процессов ассоциации и диссоциации и степенью сольватации поглощающих частиц.

2.4.3. Показатель преломления бинарных растворителей

Рефрактометрические свойства бинарных ПФ для ЖХ обсуждены в работах [58,147,178,179,208,214,228]. Учет влияния состава ПФ и температуры позволяет контролировать чувствительность РМД, ко-

торый применяют для определения достаточно широкого спектра фармацевтических аналитов и БАВ [58,214]. Для сокращения времени элюирования системы ВЭЖХ снабжают термостатами колонок. Это позволяет осуществлять ВЭЖХ при повышенных температурах, а показатель преломления жидкостей весьма чувствителен к температуре (увеличение на 1°С приводит к изменению n на $2\text{--}4\cdot 10^{-4}$ единицы), поэтому представляется полезной информация об изменениях n_D ПФ при варьировании их состава и температуры колонки.

Анализ изотерм n_{12} - φ_2 водных и неводных двойных систем указывает на то, что в большинстве бинарных смесей наблюдается неидеальность. Относительные отклонения экспериментальных значений n_{12} от рассчитанных по аддитивной зависимости в отдельных случаях достигают более 4%. Рассмотрим влияние φ_2 и температуры на n_D бинарных ПФ для НФХ и ОФХ. Важность определения эмпирических зависимостей n_D от состава ПФ обусловлена тем, что чувствительность РМД определяется разностью Δn ПФ и аналита. В случае использования близких к эквиобъемным бинарных ПФ, нижний предел обнаружения РМД (минимальное изменение показателя преломления, способное вызвать изменение выходного сигнала и достаточное для его надежного распознавания на фоне шумов нулевой линии) может быть заметно искажен, если не будут учтены отклонения n от аддитивности [58]. На рис. 2.15 даны примеры полученных 3D-графиков для наиболее часто применяемым в ЖХ бинарных смесей растворителей, которые наглядно показывают, как изменяется n_D в зависимости от состава и температуры.

Таблица 2.30

Значения коэффициентов α и β уравнения (2.5) для определения n_{12} бинарных систем гексан – модификатор при разных температурах

Модификатор	Температура, К	Показатель преломления		Коэфф. ур. (2.5)	
		n_1	n_2	$\alpha \times 10^2$	$\beta \times 10$
Этанол	293	1.3749	1.3611	-2.23	10.09
	295	1.3728	1.3604	-2.12	10.07
	299	1.3691	1.3589	-1.89	10.04
	305	1.3651	1.3565	-1.68	10.02
	312	1.3626	1.3534	-1.55	10.03
	314	1.3624	1.3524	-1.62	10.05

Продолжение табл. 2.30

ИПС	293	1.3749	1.3776	-1.19	10.12
	296	1.3718	1.3764	-1.03	10.09
	301	1.3675	1.3740	-0.95	10.07
	307	1.3643	1.3711	-1.25	10.11
	312	1.3627	1.3680	-1.85	10.20
	317	1.3615	1.3646	-2.32	10.29
Диоксан	293	1.3749	1.4224	1.89	10.14
	294	1.3738	1.4219	2.11	10.13
	298	1.3699	1.4200	2.82	10.09
	303	1.3662	1.4174	3.25	10.09
	308	1.3637	1.4147	3.24	10.12
	313	1.3625	1.4118	2.74	10.20
Диэтиловый эфир	293	1.3749	1.3526	-2.90	10.04
	300	1.3687	1.3462	-1.84	10.00
	305	1.3653	1.3427	-1.47	10.00
	310	1.3631	1.3404	-1.57	10.00
ТГФ	293	1.3749	1.4050	0.90	10.12
	296	1.3723	1.4044	1.33	10.09
	299	1.3691	1.4035	1.84	10.05
	306	1.3646	1.4011	2.33	10.01
	314	1.3624	1.3978	2.17	10.00
Этилацетат	293	1.3749	1.3724	-1.84	10.04
	295	1.3728	1.3702	-1.47	10.02
	300	1.3683	1.3656	-0.77	10.00
	305	1.3651	1.3622	-0.51	10.00
	310	1.3631	1.3602	-0.62	10.00
	314	1.3624	1.3595	-1.02	10.00
Хлороформ	293	1.3749	1.4459	4.24	10.07
	295	1.3731	1.4434	4.06	10.09
	299	1.3691	1.4381	3.69	10.11
	305	1.3651	1.4333	3.24	10.15
	312	1.3627	1.4316	2.91	10.17
	314	1.3624	1.4318	2.83	10.17

Таблица 2.31

Значения эмпирических коэфф. α и β ур. (2.5) для определения n_{12} по изотермам показателя преломления бинарных систем вода – модификатор при разных температурах, °С

Модификатор	Температура	Показатель преломления		Коэфф. уравнения (2.5)	
		n_1	n_2	$\alpha \times 10^2$	$\beta \times 10$
Метанол	20	1.3330	1.3286	1.55	10.31
	25	1.3326	1.3269	1.34	10.33
	30	1.3321	1.3251	1.13	10.34
	35	1.3315	1.3232	0.94	10.35
	40	1.3308	1.3212	0.77	10.37
	45	1.3300	1.3191	0.68	10.38
	50	1.3291	1.3169	0.46	10.40
Ацетонитрил	20	1.3330	1.3441	4.25	9.83
	25	1.3326	1.3422	4.08	9.83
	30	1.3321	1.3396	3.83	9.85
	35	1.3315	1.3375	3.50	9.88
	40	1.3308	1.3350	3.10	9.93
	45	1.3300	1.3320	2.62	9.98
	50	1.3291	1.3298	2.06	10.05
ТГФ	20	1.3330	1.4050	3.01	10.82
	25	1.3326	1.4035	2.88	10.82
	30	1.3321	1.4030	2.66	10.82
	35	1.3315	1.4000	2.35	10.83
	40	1.3308	1.3975	1.94	10.84
	45	1.3300	1.3948	1.71	10.54
	50	1.3291	1.3925	0.86	10.88

Установлено, что для бинарных смесей изотермы $n_{12}=f(\varphi_2)$ адекватно описываются полиномиальным уравнением 2-й (2.4) или 3-й степени (2.5) при соблюдении граничных условий: если $\varphi_2=0$ или 1 значения n равны показателям исходных смешиваемых растворителей. Регрессионный анализ экспериментальных данных показал, что зависимости (2.5) описывают данные точнее, чем биномиальные регрессии. В табл. 2.30 и 2.31 приведены эмпирические коэфф. α и β уравнения (2.5) для 7 нормально-фазовых и 3 обращенно-фазовых систем. Коэфф. α для обращенно-фазовых ПФ имеют положительные

значения и варьируют в диапазоне 0.0086-0.0425. С увеличением температуры на 30 градусов они уменьшаются в 2-3 раза. Для нормально-фазовых систем гексан – модификатор наблюдаются различные тренды: как увеличение, так и уменьшение положительного или отрицательного значения коэфф. α , т.е. зависимости могут иметь как выпуклый, так и вогнутый профиль. Характер наблюдаемых зависимостей определяется природой гомо- и гетеромежмолекулярных взаимодействий в данных бинарных системах.

Если гетеромежмолекулярные взаимодействия между молекулами разбавителя и модификатора (образование Н-связей между молекулами воды и метанола) сильно конкурируют с гомомолекулярными (Н-связи вода – вода, метанол – метанол) изотермы «свойство – состав» имеют характер выпуклых кривых с эффектом синергизма. Если молекулы разбавителя (например, гексана) слабо взаимодействуют с более полярными молекулами (например, ИПС), затрудняют взаимодействие между группами –ОН молекул спирта, этот эффект приводит к противоположному, но более слабому эффекту.

Установлено, что в диапазоне 11-41 С° (284-314 К) зависимости $n_{12}=f(t)$ для смесей гексан – модификатор хорошо описываются линейными уравнениями (коэфф. парной корреляции $R=0.977-0.998$):

$$n_i=a-bt_i, \quad (2.29)$$

где n_i – показатель преломления смеси при температуре t_i . Для чистых растворителей характерны собственные значения коэфф. a и b зависимости (2.29), а для их смесей – промежуточные величины. Для чистой воды известна линейная зависимость:

$$n_i= n_{20}-\gamma(t_i-20), \quad (2.30)$$

где n_{20} – показатель преломления жидкости при 20 °С, на которую рассчитана шкала рефрактометра; коэффициент $\gamma=0.8 \cdot 10^{-4}$ град⁻¹. Вместе с тем, анализ температурных зависимостей n бинарных систем вода–модификатор в диапазоне 25-50 С°, полученных в [228] показывает, что они нелинейны в этом интервале температур и применять уравнения типа (2.30) можно либо в более узких интервалах температур, либо в качестве первого приближения. В связи с этим нами было предложено применение более точного параболического уравнения, учитывающего

отклонения от линейности (см. табл. 2.32 и 2.33):

$$n_i = n_{20} - \gamma(t_i - 20) + \omega(t_i - 20)^2. \quad (2.31)$$

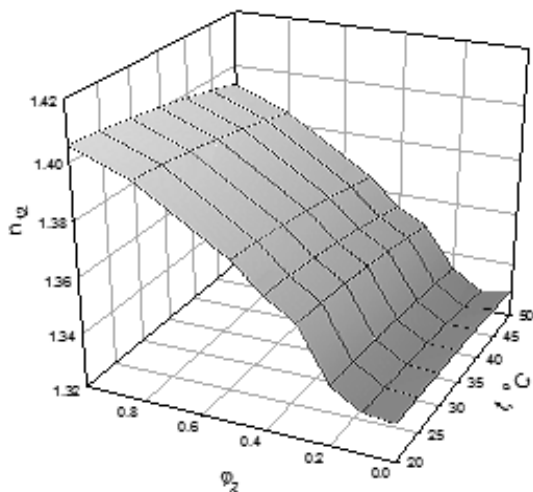
С увеличением в системе гексан – модификатор объемной доли полярного модификатора (например, спирта) коэффициент γ уменьшается до значений, характерных для чистого модификатора, если полярность модификатора мала (эфир, хлороформ), наблюдается нелинейное изменение величины γ с экстремумом, характерным для каждого модификатора.

Минимальное значение коэффициента γ характерно для воды, если пренебречь величиной ω , его величина близка температурному коэффициенту для чистой воды, найденному по линейной зависимости (2.30). Коэффициент ω для нормально-фазовых систем имеет, как правило, положительное значение и на порядок больше, чем для обращенно-фазовых систем, для которых он отрицателен. Таким образом, рефрактометрические свойства бинарных систем изменяются от состава ПФ неаддитивно, иногда с синергетическими эффектами. Температурные эффекты носят также нелинейный характер.

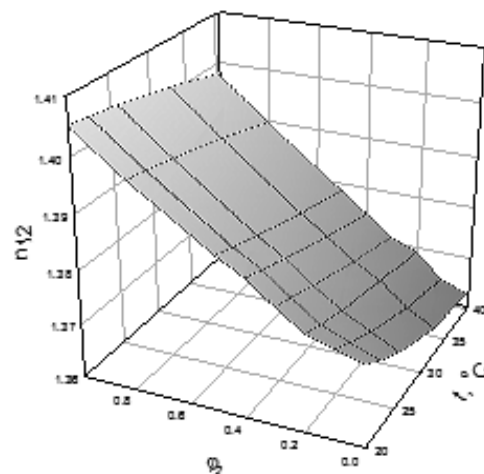
Между нашими экспериментальными данными и данными из других источников наблюдаются некоторые расхождения, которые не носят принципиального характера.

Они обусловлены не только погрешностями измерения показателя преломления рефрактометром, точностью подготовки состава смешанного растворителя (учитывался ли объемный эффект при смешивании, влиял ли на измерения эффект изменения состава смеси за счет испарения более летучего компонента), флуктуациями температуры при термостатировании, но и разным качеством использованных растворителей.

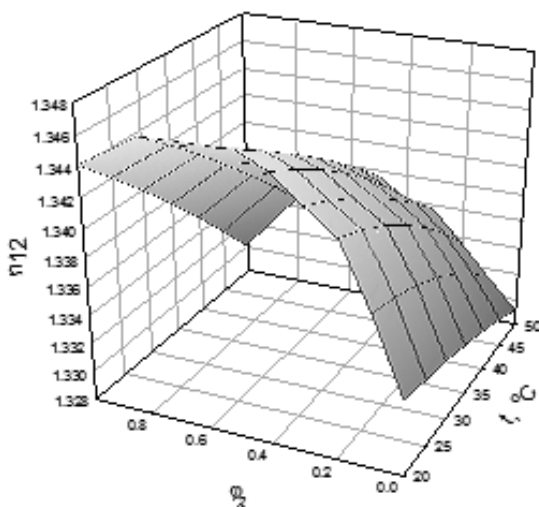
Рассмотренные в разделе эмпирические зависимости показателя преломления от объемной доли модификаторов в бинарных растворителях и от температуры включены в БД по физико-химическим свойствам ПФ, применяемых в ВЭЖХ. Количественные характеристики этих зависимостей позволяют прогнозировать и учитывать неаддитивность рефракционных свойств и влияние температуры на показатель преломления.



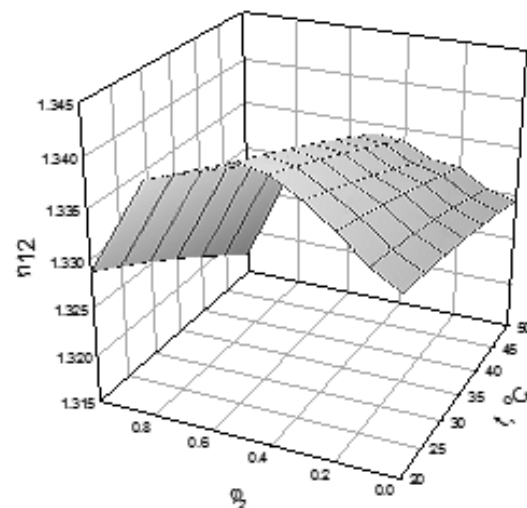
1) вода – ТГФ



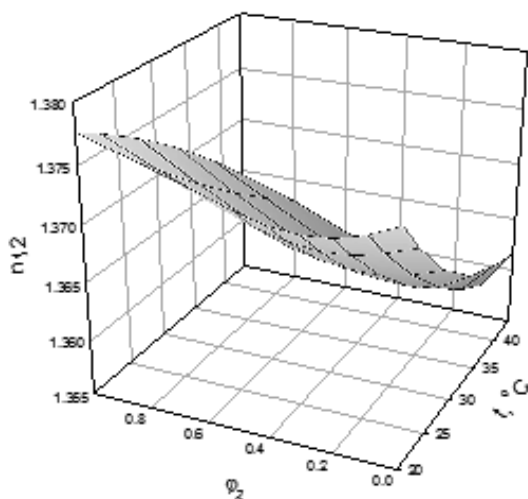
2) гексан – ТГФ



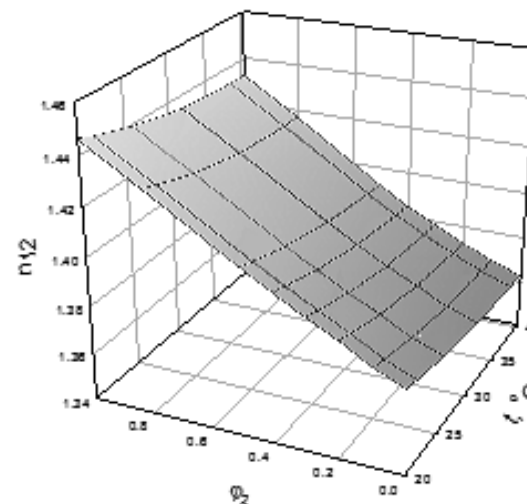
3) вода – ацетонитрил



4) вода – метанол



5) гексан – ИПС



6) гексан – хлороформ

Рис. 2.15. Зависимости n_{12} от состава бинарной смеси и температуры

Таблица 2.32

Значения эмпирических коэффициентов γ и ω уравнения (2.34)
для бинарных систем гексан – модификатор

Модификатор, Δt (C°)	φ_2	$\gamma \times 10^4$	$\omega \times 10^4$
Этанол, 20-41	0	11.2	0.25
	0.1	10.4	0.23
	0.2	10	0.22
	0.4	9.1	0.18
	0.5	8.6	0.15
	0.8	6.9	0.11
	1	3.5	-0.03
ИПС, 20-44	0	11.2	0.25
	0.1	10	0.17
	0.2	9.6	0.15
	0.4	9.2	0.13
	0.5	8.5	0.1
	0.8	6.8	0.05
	1	3.9	-0.07
Хлороформ, 20-41	0	11.2	0.25
	0.1	12.2	0.28
	0.2	13.5	0.29
	0.3	14.1	0.31
	0.5	14.1	0.30
	0.8	15.1	0.39
	1	15.5	0.42
Этилацетат, 20-41	0	11.2	0.25
	0.1	8.4	0.15
	0.2	6.9	0.08
	0.4	6.2	0.04
	0.5	5.6	0.04
	0.8	8.4	0.13
	1	11.6	0.26
Диоксан, 20-40	0	11.2	0.21
	0.1	7.4	0.08
	0.2	6.6	0.08
	0.4	4.8	0.02
	0.5	4.8	0.02
	0.8	3.5	-0.02
	1	4.7	-0.03
ТГФ, 20-41	0	11.2	0.25
	0.1	8.5	0.15
	0.2	6.3	0.08
	0.4	5.9	0.04
	0.5	5.4	0.04
	0.8	5.9	0.04
	1	2.2	-0.07

Таблица 2.33

Значения эмпирических коэффициентов γ и ω уравнения (2.34)
для бинарных систем вода – модификатор

Модификатор, температурный диапазон (С°)	φ_2	$\gamma \times 10^4$	$\omega \times 10^4$
метанол, 20-50	0	0.7	-0.02
	0.1	1	-0.02
	0.2	1.6	-0.01
	0.3	2.2	-0.01
	0.4	2.3	-0.01
	0.5	2.4	-0.01
	0.8	2.9	-0.01
	1	3.3	-0.02
ацетонитрил, 20-50	0	0.7	-0.02
	0.1	0.8	-0.05
	0.2	1.5	-0.05
	0.3	1.9	-0.03
	0.4	2.0	-0.04
	0.5	2.5	-0.02
	0.8	3.4	-0.02
	1	4.1	-0.02
ТГФ, 20-50	0	0.7	-0.02
	0.1	0.8	-0.05
	0.2	1.1	-0.04
	0.3	1.5	-0.07
	0.4	1.7	-0.08
	0.5	2.0	-0.07
	0.8	2.1	-0.07
	1	2.2	-0.07

2.4.4. Диэлектрическая проницаемость бинарных растворителей

Диэлектрическая проницаемость ε_r бинарных растворителей проанализирована в [211,212], где показано, что ε_{12} – неаддитивная величина, а отклонения от аддитивности могут быть значительными. Изотермы адекватно аппроксимируются биномиальным уравнением (2.6). В табл. 2.34 даны значения коэфф. β для ряда смесей.

Таблица 2.34

Значения коэффициентов β уравнения (2.6) для изотерм ε_r бинарных систем при 298 К, $\varphi_2=0-1$ [211,212]

Система	ε_1	ε_2	β
Ацетон – метанол	13.90	32.66	0.5
Тетрахлорметан – хлороформ	2.23	4.72	1.0
Гексан – хлороформ	1.88	4.72	1.0
Диоксан – хлороформ	2.21	4.72	1.0
Гексан – этилацетат	1.88	6.02	1.1
ИПС – вода	19.13	78.54	1.3
Ацетонитрил – вода	35.94	78.54	1.4
Метанол – вода	32.66	78.54	1.8
Этанол — вода	24.55	78.54	2.5
Гексан – ИПС	1.88	19.13	3.0
Ацетон – вода	13.90	78.54	3.3
Этилацетат – метанол	6.02	32.66	4.1
Хлороформ – ацетон	4.72	13.90	5.0
Хлороформ – метанол	4.72	32.60	5.7
Диэтиловый эфир – метанол	4.27	32.60	6.0
ТГФ – вода	7.39	78.54	6.8
Гексан – этанол	1.88	24.55	7.5
Бензол – метанол	2.23	32.60	11.0
Гексан – нитробензол	1.88	35.50	11.0
Гексан – бензонитрил	1.88	25.20	11.0
Уксусная кислота – вода	6.30	78.54	19.0
Диоксан – вода	2.21	78.54	24.0

Величина β имеет тенденцию возрастать с увеличением различия между ε_r смешиваемых растворителей. Если оба растворителя малополярны и не взаимодействуют друг с другом, то $\beta=1$. Системы из двух полярных компонентов ($\varepsilon_r>15$), способных к конкурирующим гомо- и гетеромежмолекулярным взаимодействиям, характеризуются также небольшими значениями $\beta=0.5-3.3$. Если смесь состоит из 2 не взаимодействующих компонентов, один из которых полярен, величина β находится в интервале 5-11. Смеси взаимодействующих слабо- и сильнополярных растворителей могут иметь высокие значения β , например, для смеси диоксан – вода $\beta=24$. Величина ε_r чувствительна к

температурным изменениям, как и показатель преломления. В нашей работе температурная зависимость ε_r не изучалась. Зависимость (2.6) может быть использована при оптимизации состава ПФ для ВЭЖХ с ЭХД.

2.4.5. Вязкость бинарных растворителей

Динамический коэффициент вязкости является одной из ключевых физико-химических величин, характеризующих свойство жидкостей оказывать сопротивление перемещению одного ее слоя относительно другого. Противодействие, возникающее в хроматографической системе, и в первую очередь, в колонке, зависит от вязкости растворителя, извилистости пути потока по хроматографическому тракту (по колонке, капиллярным трубкам, ячейке детектора) и от скорости потока. Причиной увеличения противодействия колонки может быть ее старение. Частицы сорбента ломаются под непрерывным действием высокого P , а также из-за напряжений, обусловленных вязким потоком. Образующиеся мелкие осколки сорбента забивают промежутки между целыми зернами и препятствуют потоку жидкой фазы, приводя к росту рабочего давления. Аналогично происходит разрушение пористых фильтров, стенок капилляров и внутренней поверхности колонки. Для увеличения жизни колонки не целесообразно работать с вязкими растворителями.

Вязкость влияет не только на механическую работу хроматографа (при одинаковой скорости элюирования менее вязкие ПФ требуют меньшего входного давления), но и на эффективность хроматографической системы. Чем ниже вязкость ПФ, тем эффективней массообмен, выше скорость диффузии и меньше размывание хроматографических пиков. Особенно важна невысокая вязкость ПФ для микроколоночной ВЭЖХ на хроматографах с насосом среднего давления (хроматографы серий "Милихром" и "Обь").

Вязкость определяет величину критерия Рейнольдса Re , который важен в препаративной ВЭЖХ. Из-за резкого перепада давления в трубопроводах возможен переход от ламинарного к турбулентному режиму потока, приводящему к росту противодействия. Если $Re < 2000$, доминирует ламинарный поток [58].

Известно, что вязкость смесей растворителей зависит от состава не линейно, что вызывает проблемы при градиентном варианте ЖХ. Вязкость элюентов в ОФХ нередко выше вязкости чистых компонен-

тов (табл. 2.38). Так, вязкость смеси метанол – вода с соотношением компонентов 45:55 в 1.8 раза больше вязкости воды, а вязкость смеси 1-пропанол – вода, взятых в этих же пропорциях в 2.5 раза больше вязкости чистой воды [58,229]. В результате такого роста вязкости при создании градиента 0-100% в системе спирт – вода противодействие возрастает в 2-3 раза. Это может привести к сбою работы хроматографа, если заранее не были соотнесены рабочие параметры (скорость потока, длина колонки, размер частиц сорбента) с нижним пределом противодействия системы. Самое высокое ожидаемое давление системы в течение градиента должно быть значительно ниже этого предела.

Таблица 2.35

Значения эмпирических коэффициентов A и B рациональной функции (2.8) для изотерм вязкости η_{12} (мПа·с) от φ_2 для бинарных смесей растворителей при 298 К [146,205]

Система ($\varphi_2 = 0-1$)	η_1	η_2	A	B
Гексан – ацетон	0.299	0.304	19.53	0.11
Гексан – 1-пропанол (293 К)	0.307	2.234	-1.61	0.73
Гексан – ИПС	0.299	2.058	-1.68	0.75
Гексан – хлороформ	0.299	0.542	1.07	-0.50
Гексан – этанол	0.299	1.078	-1.17	0.47
Хлороформ – метанол	0.542	0.547	-1.04	0.40
Вода – ацетон	0.894	0.304	-2.20	1.93
Вода – ацетонитрил (293 К)	1.005	0.353	-1.05	1.45
Вода – ацетонитрил	0.894	0.340	-1.16	1.60
Вода – метанол	0.894	0.547	-2.13	1.66
Вода – ТГФ (293 К)	1.005	0.490	-2.42	2.22
Вода – этанол	0.894	1.078	-2.42	2.32
Вода – ИПС	0.894	2.058	-1.72	2.02

Для аппроксимации зависимостей $\eta_{12}=f(\varphi_2)$ в [146] опробовали несколько типов функций: полиномиальные – 2-й и 3-й степени, рациональную, синусоидальную и ряд других. Из простых функций, пригодных для технических расчетов, в большинстве типичных ПФ максимально адекватное описание зависимостей дает рациональная функция

$$y = (a+bx)/(1+cx+dx^2). \quad (2.32)$$

В работе [146] 2 коэффициента функции заменили значениями η исходных растворителей и преобразовали ее таким образом, что при $\varphi_2=0$ величина $\eta_{12}=\eta_1$, а при $\varphi_2=1$ величина $\eta_{12} = \eta_2$, получили ур. (2.8). В табл. 2.35 приведены коэфф. A и B уравнения (3.8) для типичных ПФ.

Установлено [58,146,229], что для изотерм $\eta_{12}=f(\varphi_2)$ обращенных ПФ характерен положительный экстремум в области $\varphi_2=0.4-0.6$. Эти экстремумы, обусловленные взаимодействием компонентов смеси, ярко выражены для систем «вода – спирты».

В этом плане ацетонитрил имеет уникальные преимущества перед другими растворителями, максимальная η_{12} его смеси с водой наблюдается в интервале $\varphi_2=0.1-0.2$ и лишь на 20% больше вязкости чистой воды (рис. 2.16).

Таблица 2.36

Экспериментальные значения η (Па·с) для систем вода – модификатор, 293 К

φ_2	$\eta \times 10^3$			
	ацетонитрил	метанол (298 К)	ИПС (298)	ТГФ
0	1.005	0.894	0.894	1.005
0.1	1.050	1.101	1.336	1.297
0.2	1.076	1.303	1.798	1.599
0.3	1.029	1.481	2.561	1.855
0.4	0.965	1.613	2.803	1.982
0.5	0.882	1.577	2.881	1.931
0.6	0.766	1.478	2.697	1.762
0.7	0.648	1.283	2.555	1.433
0.8	0.539	1.019	2.389	1.078
0.9	0.420	0.715	2.218	0.722
1	0.353	0.547	2.058	0.490

Таким образом, при выборе ПФ желательно избегать водно-спиртовых смесей с составами близкими к 1:1. Следует учесть также, что в условиях повышенных рабочих давлений (20-30 МПа) вязкость ПФ может дополнительно возрасти на 5-10%.

Эффективным термодинамическим фактором воздействия на вязкость является повышение температуры. Зависимость $\eta=f(t)$ хорошо описывается эмпирическим уравнением $\eta=C/(1+at+bt^2)$ [230].

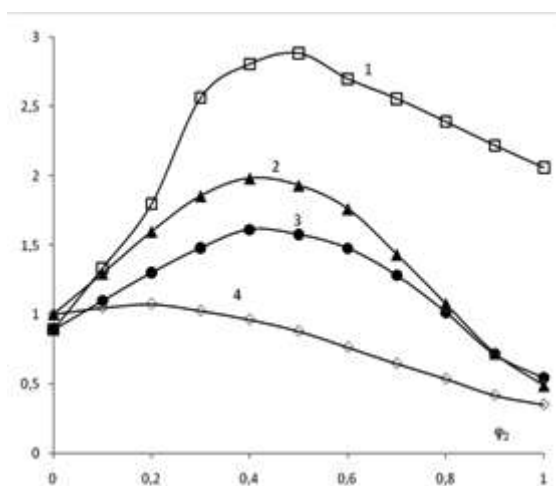


Рис.2.16. Динамическая вязкость ($\eta \times 10^3$, сП) систем вода – модификатор, 298К: 1) ИПС; 2) ТГФ; 3) метанол; 4) ацетонитрил

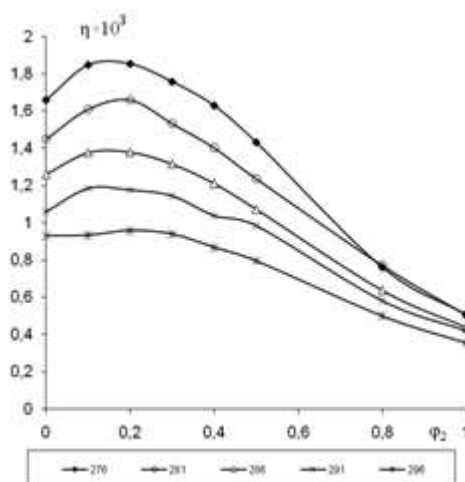


Рис.2.17. Динамическая вяз-ость ($\eta \times 10^3$, сП) системы вода – аце-тонитрил при разных темпера-турах

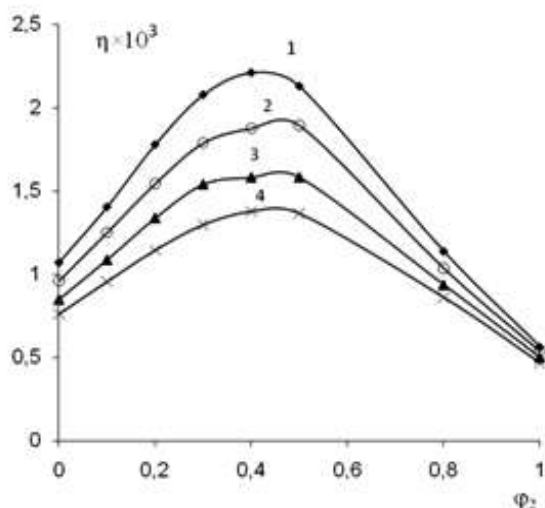


Рис.2.18. Динамическая вязость ($\eta \times 10^3$, сП) системы вода – ТГФ при разных температурах, К: 1) 290; 2) 295; 3) 300; 4) 305

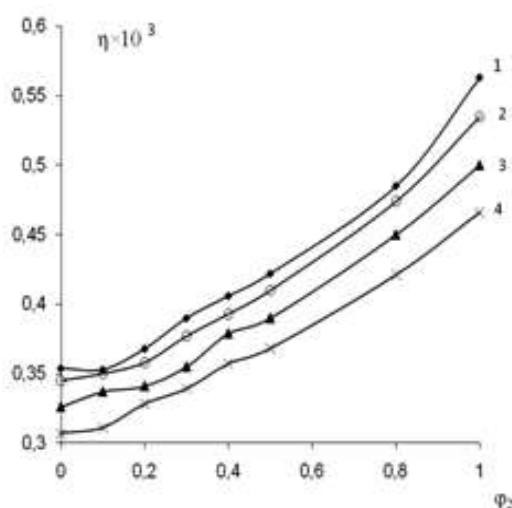


Рис.2.19. Динамическая вяз-ость ($\eta \times 10^3$, сП) системы гексан – ТГФ при разных температурах, К: 1) 290; 2) 295; 3) 300; 4) 305

При нагреве на 10 градусов вязкость индивидуальных и бинарных растворителей уменьшается на 4-20%, т.е. отрицательный эффект на работу хроматографической системы от повышения вязкости при необходимости можно нивелировать термостатированием при сравнительно невысоких температурах (40-70 °С). На рис. 2.17-2.19 в ка-

честве примера представлены зависимости вязкости от температуры в системах вода – ацетонитрил, вода – ТГФ и гексан – ТГФ, иллюстрирующие выводы, сделанные в [230], а в табл. 2.36 приведена выборка экспериментальных данных.

Вязкость смешанных ПФ обязательно следует учитывать при оптимизации состава, особенно для обращенно-фазовой микроколоночной ВЭЖХ с применением маломощных насосов среднего давления.

2.4.6. Поверхностное натяжение бинарных растворителей

Поверхностное натяжение – основная термодинамическая характеристика поверхностного слоя жидкости на границе с газовой фазой или другой жидкостью. Оно является мерой некомпенсированности межмолекулярных сил в поверхностном слое. Для жидкостей поверхностное натяжение характеризует избыток свободной энергии в поверхностном слое по сравнению со свободной энергией в объеме.

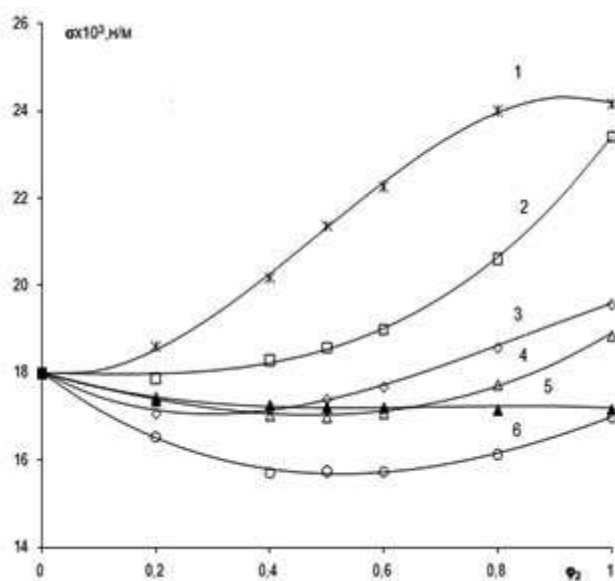


Рис. 2.20. Зависимость σ от объемной доли модификатора в бинарных нормально-фазовых системах «гексан – модификатор»: 1 – хлороформ, 2 – ацетон, 3 – этилацетат, 4 – этанол, 5 – диэтиловый эфир, 6 – ИПС

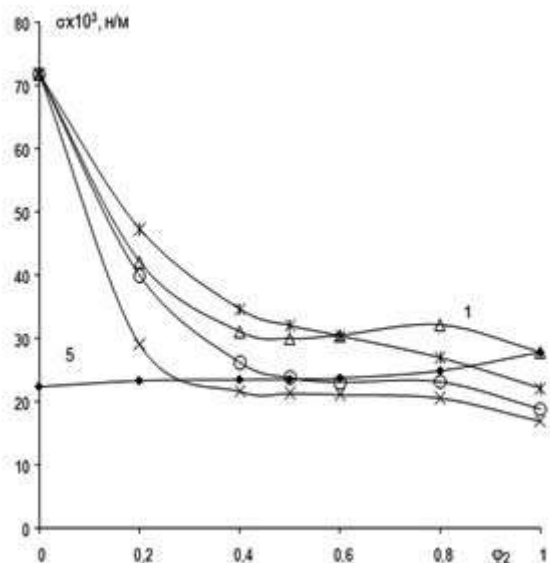


Рис. 2.21. Зависимость σ от объемной доли модификатора в бинарных обращенно-фазовых системах «вода – модификатор»: 1 – ацетонитрил, 2 – метанол, 3 – этанол, 4 – ИПС

Величина σ определяется характером межмолекулярных сил, размером и геометрией молекул, их ориентацией в поверхностном слое, т.е. поверхностной активностью растворителя или находящихся в нем ПАВ. Поверхностное натяжение смесей растворителей, в частности бинарных, как показал анализ [205, 216, 221], зависит от состава не линейно, проявляя отклонения от аддитивности иногда на десятки процентов. В разделе проанализировано влияние объемной доли модификаторов на величину σ в типовых бинарных нормальных и обращенных ПФ.

Зависимости $\sigma_{12}=f(\varphi_2)$ имеют вид вогнутой или выпуклой кривой, некоторые изотермы имеют минимум или максимум, или S-образный характер кривых, т.е. 2 экстремума (рис. 2.20 и 2.21). При нахождении эмпирических зависимостей $\sigma_{12}=f(\varphi_2)$ применили параболические функции (2.14), аналогичные использованным для показателя преломления и плотности.

Компьютерный анализ показал, что изотермы поверхностного натяжения бинарных систем $\sigma_{12}=f(\varphi_2)$ предпочтительней описывать полиномом 3-й степени (2.14), в котором учтены граничные условия, что при $\varphi_2=0$ или 1 значения σ_{12} равны поверхностному натяжению исходных растворителей.

Эмпирические коэффициенты уравнения (2.14) для 20 бинарных ПФ приведены в табл. 2.37. Сопоставление их с данными табл. 2.38 показывает, что для эмпирических коэфф. A ур. (2.14) в системах «вода – модификатор» прослеживается тенденция принимать отрицательные значения при увеличении радиуса гирации (вращения) R_G молекул модификатора и критерия гидрофобности $\log P$, т.е. на величину A влияют гидрофобность и поверхностная активность модификатора.

Для водно-спиртовых бинарных ПФ наблюдаются максимальные отклонения σ от аддитивных величин в области, близкой к $\varphi_2=0.40$ [205, 216]. Их положение обусловлено конкуренцией гомо- и гетеромежмолекулярных взаимодействий двух полярных растворителей. В нормально-фазовых ПФ, где на характер изотерм влияет степень диссоциации гомомежмолекулярных ассоциатов полярного модификатора, не взаимодействующего с разбавителем, максимум отклонений от аддитивности также наблюдаются в составах, близких к эквихорическим ($\varphi_2 \approx 0.40-0.60$) [205, 216].

В системах, содержащих галогеналканы и бензол, могут иметь место S-образные изотермы отклонений $\delta=f(\varphi_2)$, т.е. наблюдаются два слабо выраженных экстремума – максимум и минимум.

Таблица 2.37

Поверхностное натяжение индивидуальных растворителей ($\sigma \cdot 10^3$, н/м) и значения эмпирических коэффициентов A и B уравнения (2.14) для определения σ_{12} по изотермам поверхностного натяжения бинарных систем при 298 К

Бинарная система	σ_1	σ_2	A	B
Гексан – ацетон	17.99	23.4	-0.018	0.749
Гексан – диэтиловый эфир	17.99	17.17	-0.213	1.166
Гексан – ИПС	17.99	16.98	-0.529	1.156
Гексан – хлороформ	17.99	24.15	-0.098	1.735
Гексан – этанол	17.99	18.85	-0.195	0.868
Гексан – этилацетат	17.99	19.56	-0.381	1.281
CCl_4 – диоксан (293 К)	26.84	33.97	0.407	0.953
CCl_4 – этилацетат	26.8	23.8	-0.043	0.821
CCl_4 – бензол	26.8	28.3	0.022	1.118
CCl_4 – толуол (293 К)	26.7	28.54	0.104	1.012
Метанол – ацетон (293 К)	22.1	23.2	0.293	0.842
Метанол – ацетонитрил	22.39	27.86	0.364	0.360
Вода – ацетонитрил	71.76	27.86	-2.906	7.138
Вода – ИПС	71.76	16.98	-3.886	15.561
Вода – метанол	71.76	22.12	-2.245	5.625
Вода – этанол	71.76	18.85	-3.021	9.265

Таблица 2.38

Критерии Ганча-Лео ($\log P$) и радиусы гирации R_G
для некоторых модификаторов

Модификатор	$\log P$	R_G , нм	Модификатор	$\log P$	R_G , нм
1,4-Диоксан	-0.31	18.7	Ацетон	0.20	17.4
Метанол	-0.27	12.1	Этилацетат	0.29	21.3
Этанол	0.07	15.7	Диэтиловый эфир	0.76	22.4
Ацетонитрил	0.17	-	3-Пентанол	1.36	20.6
2-Пропанол	0.38	17.6	Хлороформ	1.67	14.7

Минорные различия состава и структуры жидкости в объеме и на поверхности раздела жидкой и газовой фаз приводят к тому, что кривые, описывающие изотермы $\sigma=f(\varphi_2)$, как правило, имеют более сложный вид, чем изотермы $\rho=f(\varphi_2)$ и $n=f(\varphi_2)$ и лучше описываются полиномами не второй, а третьей степени.

2.4.7. Коэффициенты проницаемости бинарных растворителей

Данные по поверхностному натяжению σ и вязкости η в планарной ЖХ используют для изучения зависимостей постоянной потока χ от коэффициента проницаемости, представляющего собой частное σ/η .

$$\chi=2k_0d_p(\sigma/\eta), \quad (2.33)$$

где k_0 – параметр проницаемости, зависящий от структуры внешних пор, d_p – диаметр частиц сорбента. Коэффициент проницаемости $\psi=\sigma/\eta$ имеет размерность $м/с$ и характеризует постоянную потока жидкости через капилляр. Он позволяет прогнозировать расстояния, проходимые фронтом конкретного растворителя за определенное время в планарной ЖХ (ТСХ) в конкретном пористом слое. Если значение χ определено экспериментально, а σ и η растворителя известны, в этом случае может быть рассчитано произведение k_0d_p . Результаты компьютерного анализа показали (табл. 2.39), что коэфф. ψ_{12} для бинарных систем, аналогично $\sigma_{12}=f(\varphi_2)$, хорошо аппроксимируется модифицированным полиномом 3-й степени (2.9).

Таблица 2.39

Коэффициенты уравнения (2.9) для изотерм коэффициента проницаемости ψ_{12} (м/с) бинарных ПФ при 298 К

Бинарная система	ψ_1	ψ_2	Коэфф. ур. (3.9)	
			A	B
Гексан – ацетон	60.17	76.97	-0.95	1.04
Гексан – ИПС	60.17	8.25	-1.45	-0.88
Гексан – хлороформ	60.17	44.72	-1.18	1.83
Гексан – этанол	60.17	17.49	-1.44	1.55
Вода – ацетонитрил	80.27	81.94	-3.09	2.58
Вода – ИПС	80.27	8.25	-4.89	39.45
Вода – метанол (293 К)	80.63	40.51	-3.19	3.23
Вода – этанол (293 К)	80.63	17.49	-4.41	15.37

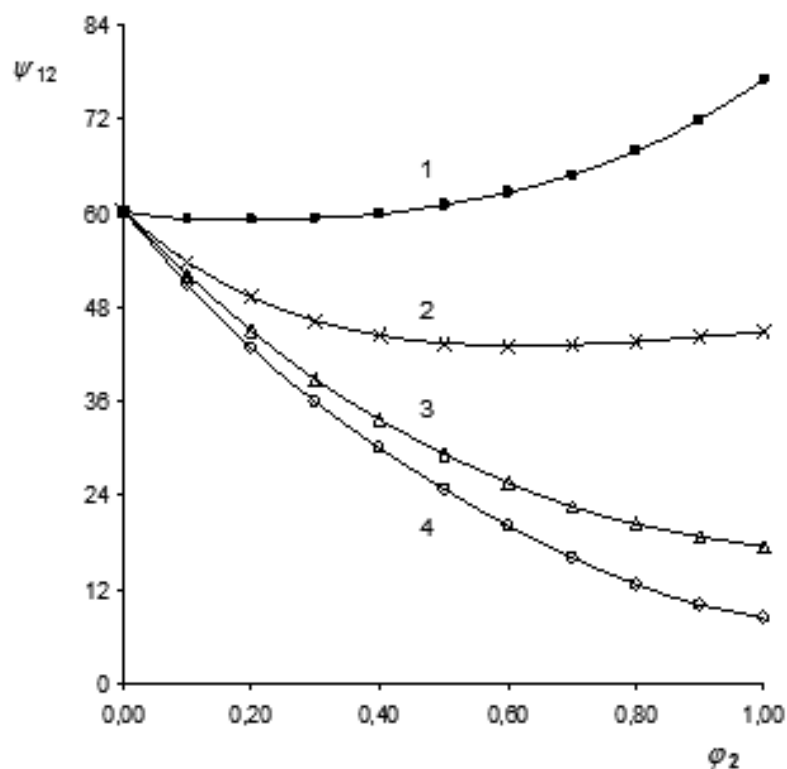


Рис. 2.22. Изотермы проницаемости Ψ_{12} (м/с) нормально-фазовых бинарных систем гексан – модификатор от объемной доли модификатора φ_2 : 1 – ацетон; 2 – хлороформ; 3 – этанол; 4 – ИПС

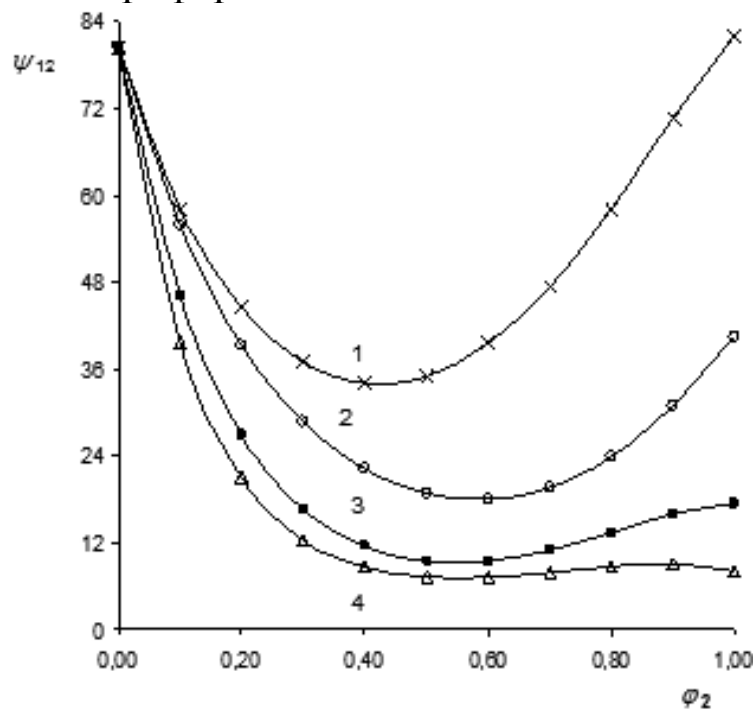


Рис. 2.23. Изотермы проницаемости Ψ_{12} (м/с) обращенно-фазовых бинарных систем вода – модификатор от объемной доли модификатора φ_2 : 1 – ацетонитрил; 2 – метанол; 3 – этанол; 4 – ИПС

Для изотерм ψ_{12} (рис. 2.22 и 2.23) непригодны аддитивные формулы расчета $\psi_{12} = \psi_2 \varphi_2 + \psi_1(1 - \varphi_2)$. В ПФ для ОФХ величины ψ_{12} , как правило, существенно падают в интервале $\varphi_2 = 0-0.40$. Если для смеси вода – ацетонитрил при $\varphi_2 > 0.40$ проницаемость снова возрастает, проходя через минимум, то для водно-спиртовых смесей с высоким содержанием спирта проницаемость остается в 3-9 раз ниже, чем для чистой воды.

Нормально-фазовые ПФ на основе гексана с незначительным содержанием полярного модификатора ($\varphi_2 = 0.01-0.1$), наиболее часто применяемые в ТСХ, имеют высокую проницаемость, что в конечном итоге сокращает время хроматографического разделения сорбатов. В то время как водно-спиртовые ПФ с $\varphi_2 = 0.40-80$, пригодные для обращенных вариантов ТСХ, имеют слишком низкую проницаемость, для этого варианта ЖХ предпочтительнее выглядят водно-ацетонитрильные ПФ. Выведенные уравнения с оптимизированными эмпирическими коэффициентами позволяют прогнозировать величину проницаемости рассмотренных смесей при произвольном составе компонентов.

2.4.8. Температура кипения бинарных растворителей

Температура кипения – важный параметр при выборе оптимальных растворителей для ЖХ и ЖЖЭ. Она должна быть достаточно высокой для предотвращения закипания в головках насоса. Паровые пузыри препятствуют работе клапанов насоса. Попадание пузырей в ячейку детектора блокирует детектирование. Еще один недостаток легкокипящих жидкостей заключается в том, что при их использовании в многокомпонентных ПФ состав последних нестабилен из-за испарения низкокипящего компонента, что приводит к невоспроизводимости величин удерживания. В случае высокой токсичности или воспламеняемости летучего компонента возникают дополнительные проблемы, обусловленные требованиями пожарной безопасности лабораторных работ [231-234]. С другой стороны, если используется не аналитический, а препаративный режим ВЭЖХ или ЖЖЭ, для облегчения выделения образцов из полученных фракций путем испарения смешанного растворителя, напротив, желательна низкая $t_{\text{кип}}$. В препаративной ЖХ имеет значение и такое свойство смешанных растворителей, связанное с $t_{\text{кип}}$, как способность образовывать азеотропы.

Таблица 2.40

Составы и $t_{кин}$ азеотропных бинарных смесей, служащих ПФ

№	Система	t_1	t_2	t_A	φ_2
1	Циклогексан – 1,4-диоксан	80.8	101.3	79.5	0.698
2	Циклогексан – 1,2- дихлорэтан	80.8	57.3	75	0.384
3	Циклогексан – 1-пропанол	80.8	97.3	75	0.185
4	Циклогексан – этилацетат	80.8	77.1	71.6	0.404
5	Гексан – 1-пропанол	68.7	97.3	66	0.033
6	Гексан – ИПС	68.7	82.4	63	0.200
7	Гексан – 1-бутанол	68.7	117.7	68	0.025
8	Гексан – <i>трет</i> -бутанол	68.7	82.4	64	0.192
9	Гексан – этанол	68.7	78.3	58	0.182
10	Гексан – ТГФ	68.7	65.7	63	0.465
11	Гексан – 1,4-диоксан	68.7	101.3	Неазеотропна	
12	Гексан – хлороформ	68.7	61.2	60	0.532
13	Гексан – 1,2-дихлорэтан	68.7	57.3	Неазеотропна	
14	Гептан – 1,4- диоксан	98.4	101.3	91.9	0.457
15	Дихлорметан – метанол	40.0	64.7	38	0.112
16	Бензол – метанол	80.1	64.7	58	0.416
17	Диэтиловый эфир – метанол	34.6	64.7	Неазеотропна	
18	Хлороформ – метанол	61.2	64.7	53	0.220
19	Этилацетат – метанол	77.1	64.7	62	0.523
20	ТГФ – метанол	65.7	64.7	59.1	0.714
21	Метанол – ацетонитрил	81.6	64.7	63	0.814
22	Вода – ацетон	100	56.4	56	0.903
23	Вода – бутанон	100	79.8	73	0.910
24	Вода – 1-пропанол	100	97.3	88	0.815
25	Вода – ИПС	100	82.4	80	0.903
26	Вода – уксусная кислота	100	118	Неазеотропна	
27	Вода – этанол	100	78.3	78.2	0.968
28	Вода – 1,4-диоксан	100	101.3	88	0.816
29	Вода – ацетонитрил	100	81.6	77	0.871
30	Вода – <i>трет</i> -бутанол	100	82.4	80	0.904
31	Вода – ТГФ	100	65.7	63.5	0.834
32	Вода – метанол	100	64.5	Неазеотропна	
33	Вода – ДМФА	100	153.0	Неазеотропна	

Выделение нелетучих препаратов оптимально проводить азеотропной однократной перегонкой. Азеотропные смеси выгодны для применения в качестве ПФ и в аналитической ЖХ, поскольку регенерируются простой перегонкой, после чего могут употребляться повторно.

Рассмотрим и обобщим с точки зрения практической ЖХ изменения $t_{\text{кип}}$ в зависимости от объемной доли модификаторов в бинарных ПФ и обсудим возможности применения азеотропных смесей в этом качестве. В табл. 2.40 приведены азеотропные смеси, $t_{\text{кип}}$ разбавителя (t_1), модификатора (t_2) и азеотропных смесей (t_A) [213]. Для прогноза $t_{\text{кип}}$ бинарной ПФ произвольного состава при оптимизации условий ЖХ в [213] предложено использовать рациональную функцию (3.10). Ур. (2.10) составлено таким образом, что при $\varphi_2=0$, $t_{12}=t_1$, при $\varphi_2=1$ $t_{12}=t_2$, коэфф. A и B оптимизированы так, что экстремум функции $t_{12}=f(\varphi_2)$ при φ_2 , соответствующей составу азеотропной смеси (φ_A), близок к экспериментальному значению t_A . В табл. 2.43 приведены значения A и B для 21 бинарной системы, по которым можно оценить произвольную величину t_{12} для конкретной ПФ.

При нахождении коэфф. уравнения (2.10) для неазеотропных систем вода – метанол, вода – уксусная кислота и азеотропной системы этанол – вода, у которой t_A мало отличается от t_2 , а φ_A близко смещена к $\varphi_2=1$, использовали экспериментальные изобары [213]. Следует отметить, что литературные данные по составу, $t_{\text{кип}}$ азеотропных смесей, по самому факту азеотропии для тех или иных пар растворителей обнаруживают большие расхождения, что затрудняет оценку насколько точно экспериментальные изобары описываются функцией (2.10).

Тем не менее, сопоставление расчетных значений t_{12} с экспериментальными, показывает, что функции типа (2.10) аппроксимируют эмпирические изобары лучше, чем полиномиальные уравнения, особенно в случаях, когда экстремум сильно удален от эквиобъемного состава.

Во всем диапазоне $\varphi_2=0-1$ уравнения (2.10) хорошо описывает эксперимент для систем вода – этанол (метанол, уксусная кислота), этилацетат – метанол. Для систем гексан – хлороформ, бензол – метанол, вода – ацетонитрил это уравнение адекватно аппроксимирует восходящую ветвь изобары (диапазоны φ_2 равные 0.60-1, 0.30-1 и 0.82-1 соответственно). В системах циклогексан – этилацетат, гек-

сан – 1-пропанол, хлороформ – метанол, наоборот, оно точнее описывает нисходящую ветвь изобары (диапазоны φ_2 равные 0-0.40, 0-0.26 и 0-0.35). Для ПФ общей закономерностью является то, что чем больше различаются компоненты по химической природе и чем ближе их $t_{кип}$, тем более вероятно образование азеотропных систем.

Таблица 2.41

Коэффициенты A и B уравнения (2.10) для бинарных систем

Система	t_1	t_2	A	B
Циклогексан – 1,4-диоксан	80.7	101.3	-0.9495	-0.0363
Циклогексан – этилацетат	80.7	77.1	3.625	-0.809
Гексан – 1-пропанол	68.7	97.5	26.45	-9.96
Гексан – ИПС	68.7	82.4	5.785	-2.218
Гексан – этанол	68.7	78.3	14.98	-5.51
Гексан – ТГФ	68.7	66.0	2.08	-0.408
Гексан – хлороформ	68.7	61.2	5.12	-0.515
Гептан – 1,4-диоксан	98.4	101.3	0.352	-0.343
Бензол – метанол	80.1	64.5	7.592	-2.185
Хлороформ – метанол	61.2	64.5	10.745	-3.139
Этилацетат – метанол	77.1	64.5	4.621	-0.899
ТГФ – метанол	66.0	64.5	-0.603	-0.219
Ацетонитрил – метанол	81.6	64.5	47.89	-3.08
Вода – этанол	100.0	78.3	4.73	0.25
Вода – ацетон	100.0	56.2	0.208	-0.883
Вода – ИПС	100.0	82.4	-0.619	-0.302
Вода – 1,4-диоксан	100.0	101.3	-0.766	-0.197
Вода – ацетонитрил	100.0	81.6	-0.521	-0.386
Вода – ТГФ	100.0	66.0	0.196	-0.775
Вода – метанол	100.0	64.5	13.1	6.203
Вода – уксусная кислота	100.0	117.9	-0.891	0.0001

Отклонения от закона Рауля, приводящие к азеотропии, обусловлены соотношением полярностей растворителей. В работе [213] установлено, что концентрация модификатора в азеотропной ПФ для НФХ тем выше, чем выше ее суммарная полярность. При достижении определенного предела в величине суммарной полярности азеотропия отсутствует. При использовании в качестве неполярного разбавителя

гексана (гептана, изооктана или циклогексана) не удастся получить азеотропные смеси с полярностью $P^0_{\text{сум}} \geq 0.23$ (этот критерий полярности рассмотрен в разделе 2.6.10).

Концентрация модификатора в азеотропной ПФ для ОФХ тем выше, чем меньше суммарная полярность. Модификаторы с полярностью, как у чистого метанола и выше, не способны образовывать с водой азеотропных смесей (2-аминоэтанол, диолы) [213]. Не создают с водой азеотропы уксусная кислота и ДМФА, ДМСО. По-видимому, это связано с характером изменения Н-связей при смешении с водой данных растворителей.

Если рассматривать влияние полярности модификатора на состав азеотропа в системах с общим разбавителем, например, гексан – модификатор (НФХ) или вода – модификатор (ОФХ), в [213] отмечено, что с увеличением полярности модификатора его доля в азеотропной нормально-фазовой смеси уменьшается, стремясь к $\varphi_2=0$, и увеличивается в ОФХ, стремясь к $\varphi_2=1$. Из данных [213] следует вывод, что, варьируя тип модификатора и разбавителя, можно подобрать азеотропную ПФ с оптимальной суммарной полярностью для хроматографического разделения конкретной смеси аналитов. Азеотропные ПФ для НФХ могут содержать от 3 до 70% модификатора, а водные азеотропные ПФ для ОФХ – не более 30% органического модификатора.

Таким образом, при оптимизации состава ПФ при разработке методик анализа полезно учитывать $t_{\text{кип}}$ и способность образовывать азеотропные смеси в области составов, имеющих полярность, обеспечивающую оптимальную элюирующую силу в конкретной хроматографической системе. Изобары « $t_{\text{кип}}-\varphi_2$ » могут служить частными целевыми функциями в экспертной системе, оценивающей технико-эксплуатационные характеристики хроматографической методики химического анализа.

2.4.9. Температура вспышки бинарных растворителей

В работах [184, 209, 218, 220, 231-234] обсуждены пожароопасные свойства, в частности, $t_{\text{всп}}$ чистых и смешанных органических растворителей и их смесей с водой. С увеличением содержания воды в водно-органических смесях их пожароопасность, естественно, уменьшается, однако увеличение $t_{\text{всп}}$ с увеличением доли воды может иметь существенные отклонения от аддитивности, что следует учи-

тивать в аналитической практике. Ежедневная потребность лабораторий, в которых используются методы ЖЖЭ и ЖХ для разделения и анализа, может составлять несколько литров, актуальность обеспечения пожарной безопасности в сфере прикладной аналитики весьма высока.

Рассмотрим влияние состава бинарных смесей, состоящих из воды и органических растворителей, используемых в ОФХ, а также смесей гексана и растворителей, используемых в НФХ, на $t_{\text{всп}}$ вспышки в открытом тигле, которая является одним из факторов, характеризующих уровень пожарной опасности растворителей (табл. 2.44). Зависимости $t_{\text{всп}}$ водно-органических смесей от объемной доли воды (φ_1), приведены на рис. 2.24. Полученные графические зависимости адекватно описываются полиномом 3-й степени (2.15) (табл. 2.45). С увеличением содержания воды до $\varphi_1=0.2$ имеет место заметный рост температуры вспышки, затем вплоть до 0.4 наблюдается плавное ее возрастание, а то и выход на плато, с последующим более резким возрастанием при $\varphi_1>0.4$.

Для смесей гексан – модификатор нелинейное изменение $t_{\text{всп}}$ (рис. 2.25) также адекватно описано полиномом 3-й степени (2.15) (табл. 2.46), коэфф. d в котором равен $t_{\text{всп}}$ модификатора, кроме смеси гексан – хлороформ. В этом случае речь может идти о $t_{\text{всп}}$ смеси, в которой содержится минимально возможное для вспышки количество горючего компонента – гексана. Гексан обладает высокой горючестью и летучестью. С увеличением его доли в смеси мы наблюдаем зависимости, обратные зависимостям для водно-органических систем. При этом в диапазоне содержания гексана $\varphi_1=0,3-1$ зависимость $t_{\text{всп}}=f(\varphi_1)$ слабо зависит от типа модификатора, что означает, что она лимитируется преимущественно наличием гексана. По всей видимости, это связано с тем, что парциальное давление пара неполярного гексана над раствором, для молекул которого не характерны специфические межмолекулярные взаимодействия, при отрицательных температурах выше, чем для других растворителей.

Увеличение доли менее горючего компонента в смеси гексан – модификатор приводит к существенному росту $t_{\text{всп}}$ при $\varphi_1<0.4$. Только для системы гексан – ТГФ зависимость $t_{\text{всп}}=f(\varphi_1)$ проходит через максимум ($t_{\text{всп}}=-15^\circ\text{C}$) в области близкой $\varphi_1=0.4$, поэтому смеси гексан – ТГФ несколько менее пожароопасны, чем исходные индивидуальные компоненты.

Таблица 2.42

Факторы, характеризующие уровень пожарной опасности
растворителей [58]

Растворитель	* $t_{всп}$, °C	$t_{свп}$, °C	$P_{пар}$, мм рт. ст., 20 °C	$t_{кип}$, °C
Ацетонитрил	6.0 (8.0)	525	89	81.6
Вода	-	-	17.5	100.0
Гексан	-21.6 (-23.0)	261	121	68.7
Диоксан	5.0** (11.0)	300	27	101.3
ИПС	11.7 (14.0)	400	32	82.4
ТГФ	-20 (-20)	250	132	66.0
Хлороформ	-	-	160	61.1
Этанол	13.0	363	44	78.4

* Температура вспышки в открытом тигле, в скобках приведены собственные экспериментальные данные.

** Температура вспышки в закрытом тигле.

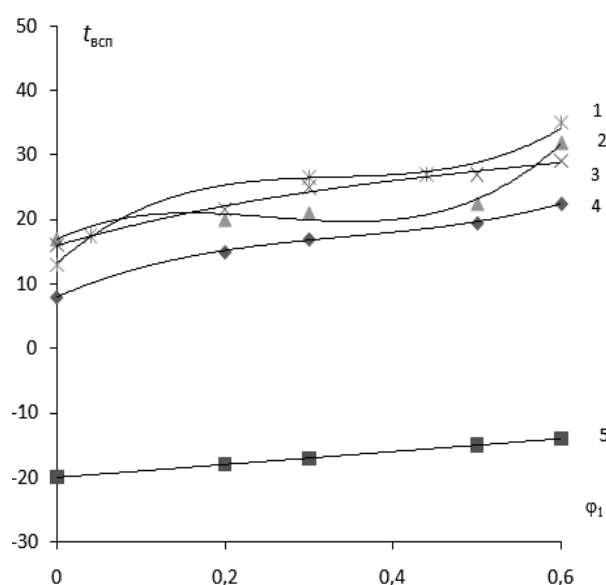


Рис. 2.24. Зависимость $t_{всп}$ смесей вода – модификатор (ϕ_1) от объемной доли воды: 1 – этанол; 2 – диоксан; 3 – ИПС; 4 – ацетонитрил; 5 – ТГФ

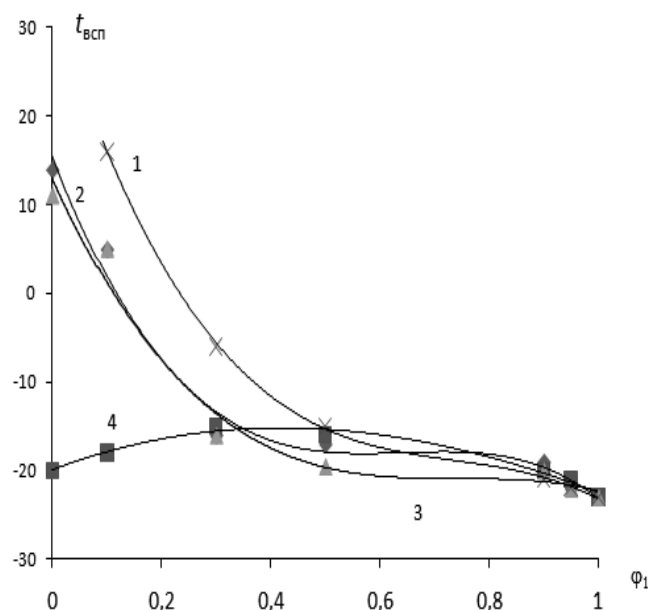


Рис. 2.25. Зависимость $t_{всп}$ смесей гексан – модификатор от объемной доли гексана (ϕ_1): 1 – хлороформ; 2 – ИПС; 3 – диоксан; 4 – ТГФ

Таблица 2.43

Эмпирические коэффициенты полиномиального уравнения
(2.15) для смесей вода – модификатор

Модификатор	a	b	c	d
Ацетонитрил	125	-130	57	8
Диоксан	469	-409	112	11
Изопропанол	59	-86	55	14
Тетрагидрофуран	0	0	10	-20
Этанол	335	-333	114	13

Таблица 2.44

Эмпирические коэффициенты полиномиального уравнения
(2.15) для смесей гексан – модификатор

Модификатор	a	b	c	d
Диоксан	-81.7	182.7	-136.3	11.0
ИПС	-131	253	-161	14
ТГФ	5.6	-31.8	23.7	-20.0
Хлороформ	-113.6	250.8	-193.4	32.8

Итак, для ПФ вода – модификатор и гексан – модификатор, применяемых в различных вариантах ЖХ, могут наблюдаться S-образные зависимости $t_{всп}$ от состава смеси. При объемной доле горючего (или более горючего и летучего) компонента $<0.4 t_{всп}$ в открытом тигле лимитируется преимущественно содержанием этого компонента. Полученные эмпирические зависимости $t_{всп}$ от состава бинарных смесей позволяют прогнозировать величину этого показателя при произвольном изменении состава смеси.

2.4.10. Элюирующая сила бинарных растворителей

Элюирующая способность зависит от полярности растворителей. В условиях НФ ВЭЖХ она возрастает с увеличением полярности ПФ, а в условиях ОФ ВЭЖХ, наоборот, с увеличением полярности ПФ элюирующая способность падает. Первым критерием полярности растворителей, который был использован в ЖХ ее основоположником Цветом М.С., является диэлектрическая проницаемость ϵ_r . Другим критерием полярности, который относительно успешно приме-

няют в ЖХ для оценки элюирующей силы растворителей, является параметр растворимости Гильдебранда δ_T [242], который характеризует количество работы, затрачиваемой на отделение молекул растворителя друг от друга. В 70-е годы прошлого века Снайдер Л. ввел в употребление параметр полярности P' , который определяют экспериментально методом ГЖХ по подобранным реперным веществам:

$$P' = \lg K''_e + \lg K''_d + \lg K''_n,$$

где $\lg K''_i$ – эмпирически модифицированные коэффициенты распределения стандартных веществ (этанола, диоксана и нитрометана) между паровой фазой и испытуемым растворителем. Индексы e , d и n обозначают этанол, диоксан и нитрометан [241]. Всё чаще стал применяться в ЖХ сольватохромный параметр Димрота – Райхардта $E_T(30)$. Он вычисляется на основании спектроскопических измерений взаимодействия растворителя со стандартным *N*-феноксипиридинийбетаиновым красителем (a). Энергия электронного перехода полосы переноса заряда характеризует степень полярности растворителя. Поскольку в публикации Димрота и Райхардта, посвященной полярности растворителей, стандартный бетаиновый растворитель имел порядковый номер 30, то его молярная энергия перехода была обозначена символом $E_T(30)$ [243].

Чем выше величина $E_T(30)$, тем полярней растворитель. Краситель a выступает химическим сенсором, реагирующим на суммарный и не дифференцированный эффект парциальных полярностей [243].

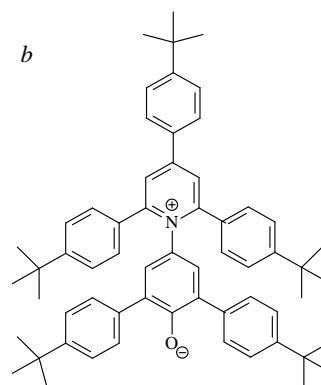
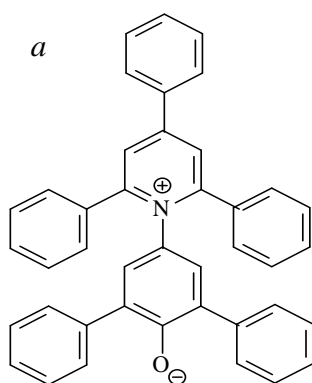
Параметр $E_T(30)$ определен для 300 чистых и большого числа бинарных смесей растворителей. Бетаиновый краситель (a) нерастворим в неполярных средах, например, в гексане. Для решения проблемы определения $E_T(30)$ в неполярных средах в качестве вспомогательного красителя предложен более липофильный бетаиновый краситель (структура b), содержащий в фенильных радикалах *трет*-бутильные заместители.

Из рис. 2.26. видно, что изотермы элюирующей силы смесей гексан – модификатор на силикагеле \mathcal{E}'_{12} от φ_2 представляют собой кривые насыщения [58]. При этом соблюдается тенденция – чем больше элюирующая сила модификатора, тем резче и выше скачок элюирующей способности при его добавлении к разбавителю, т.е. «насыщение» элюирующей силой происходит при добавлении меньших объемов модификатора в разбавитель.

Таблица 2.45

Параметры полярности и элюирующей силы растворителей при 25°C
[58]

Растворители	ε_r	μ, D	$\delta_T,$ МПа ^{1/2}	$E_T(30),$ кДж/ моль	P'	ε° (SiO ₂)	ε° (Al ₂ O ₃)
Ацетон	20.54	2.70	21.50	176.6	5.1	0.50	0.58
Ацетонитрил	35.94	3.44	26.90	190.8	5.8	0.60	0.55
Бензол	2.23	0.0	19.86	143.5	2.7	0.25	0.32
Бутанон	18.51	2.78	20.37	172.8	4.7	0.40	0.51
Бутанол-1	17.10	1.66	23.30	210.1	3.9	-	0.70
<i>трет</i> -Бутанол	12.47	1.66	21.70	183.6	4.1	0.47	0.61
Бутилацетат	5.10	1.84	17.39	161.1	-	-	-
Вода	78.54	1.83	52.20	264.0	10.2	1.50	-
Гексан	1.88	0.08	15.84	129.7	0.1	0.01	0.01
Гептан	1.93	0.0	16.18	130.1	0.2	0.01	0.01
Декан	2.00	0.0	15.95	130.1	-0.3	0.03	0.04
ДМСО	48.50	3.96	26.18	188.7	6.4	0.58	0.75
ДМФА	36.71	3.8	24.14	183.3	6.4	-	-
1,4-диоксан	2.21	0.45	21.78	150.6	4.8	0.60	0.61
1,2-дихлорэтан	10.38	1.86	21.76	172.8	3.8	0.32	0.44
Диэтиловый эфир	4.27	1.15	16.20	144.4	2.8	0.43	0.38
Изооктан	1.94	0.0	14.99	130.1	0.1	0.01	0.01
Метанол	32.66	1.70	32.42	231.8	5.1	0.70	0.95
Метилацетат	6.68	1.61	18.82	167.4	-	-	0.60
Метилизобутил- кетон	13.1	2.79	17.18	164.8	4.2	-	0.43
ИПС	19.13	1.66	25.30	202.5	3.9	0.55	0.82
ТГФ	7.39	1.75	20.21	156.5	4.0	0.44	0.51
Толуол	2.37	0.36	19.49	141.8	2.4	0.23	0.30
CH ₃ COOH	6.30	1.7	20.70	216.4	6.0	-	>1
Метиленхлорид	8.93	1.14	21.85	170.3	3.1	0.30	0.40
Хлороформ	4.72	1.15	20.19	163.5	4.1	0.26	0.36
Циклогексан	2.02	0.0	16.77	129.4	0.2	0.02	0.04
Циклопентан	1.97	0.0	16.57	-	0.1	-	0.05
CCl ₄	2.23	0.0	17.59	135.5	1.6	0.11	0.18
Этанол	24.55	1.68	27.92	217.1	4.3	0.60	0.88
Этилацетат	6.02	1.88	19.58	159.5	4.4	0.48	0.60
Этиленгликоль	37.7	2.28	34.77	235.6	6.9	0.85	1.11



Известна эмпирическая модель, в основу которой положена рациональная функция (2.39), адекватно описывающая кривые $\varepsilon'_{12}=f(\varphi_2)$ [58]. Уравнение (2.34) составлено так, чтобы соблюдались граничные условия: при $\varphi_2=0$, $\varepsilon'_{12}=\varepsilon'_1$; при $\varphi_2=1$, $\varepsilon'_{12}=\varepsilon'_2$. A – эмпирический коэфф., зависящий от природы модификатора (табл. 2.48).

$$\varepsilon'_{12} = \{ \varepsilon'_1 + [\varepsilon'_2(1+0.6795A) - \varepsilon'_1]\varphi_2 \} / (1+A\varphi_2-0.3205A\varphi_2^2). \quad (2.34)$$

К факторам, определяющим величину коэфф. A , относится площадь молекулы модификатора и совокупность полярных свойств, отражающих его способность к разным межмолекулярным взаимодействиям с разбавителем, сорбатом и сорбентом. В условиях распределительной НФХ кроме параметра ε'_{12} элюирующую силу оценивают по параметру P' , величина которого изменяется от -2.0 (фторзамещенные углеводороды) до 10.2 (вода). Для чистых растворителей P' является приближенной мерой оценки элюирующей способности растворителя в НФХ ($\varepsilon' \approx 0.1P'$). Изменение P' на 2 единицы приводит к десятикратному изменению фактора удерживания k . Величина P' для смеси растворителей принимается как среднее арифметическое:

$$P'_{\text{сум}} = \Sigma \varphi_i P'_i. \quad (2.35)$$

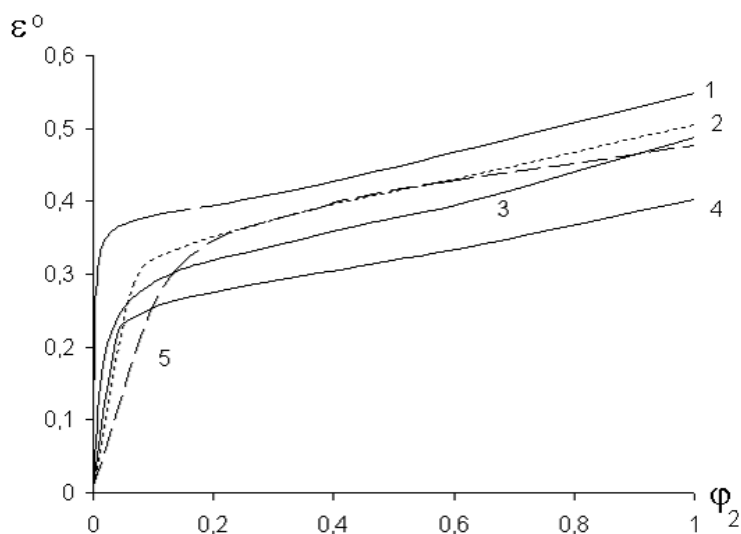


Рис. 2.26. Элюирующая сила бинарных ПФ гексан – модификатор на силикагеле: 1 – ИПС; 2 – диоксан; 3 – этилацетат; 4 – диэтиловый эфир; 5 – ТГФ [58]

Более точными критериями, чем P' являются обобщенные критерии P^o и P_N , рассмотренные в [58, 201, 235-239], они теснее коррелируют с величинами ε^o , найденными на разных сорбентах, чем все приведенные в табл. 2.47 критерии полярности, и дают удовлетворительный прогноз элюирующей силы ПФ, рассчитанной по аддитивному уравнению при концентрациях модификатора $>5\%$. Анализ данных работ [58, 201, 235-239] показывает, что изоэлюотропные ряды, построенные на основе обобщенных критериев полярности P^o и P_N , дают в условиях распределительной НФХ систематические расхождения, если сопоставляются ПФ с модификаторами из разных групп селективности. Такие экспериментальные расхождения параметров удерживания в ПФ с условно одинаковой элюирующей силой, содержащих модификаторы из разных групп селективности полезны, так как позволяют тонко регулировать селективность хроматографической системы.

Элюирующая сила в обращенно-фазовой хроматографии. В ОФХ при увеличении полярности модификатора его элюирующая сила падает. Фактор удерживания в условиях ОФХ в общем случае нелинейно зависит от состава ПФ, эту зависимость можно выразить уравнением:

$$\ln k = A\varphi_2^2 - B\varphi_2 + C, \quad (2.36)$$

где A, B – эмпирические коэфф.; C – $\ln k$ в чистой воде.

Вместе с тем, значительные отклонения от этой зависимости могут наблюдаться при $\varphi_2 < 0.1$, а коэфф. C не обязательно соответствует фактору удерживания в чистой воде. Снайдер предложил элюирующую силу растворителя в ОФХ определять из экспериментальных зависимостей логарифмов факторов удерживания от объемной доли модификатора в ПФ [241]:

$$\log k = \log k_1 - S\varphi_2, \quad (2.37)$$

где k_1 – фактор удерживания при использовании воды в качестве ПФ. Коэфф. S является усредненной величиной, найденной из анализа большого массива эмпирических данных, он принят в качестве одной из мер элюирующей силы в ОФХ. Недостатком уравнения (2.37) является то, что оно удовлетворительно соблюдается только в узком интервале $\Delta\varphi_2 = 0.3$ [240].

Таблица 2.46

Элюирующая сила ε^0_2 модификаторов на SiO_2 и эмпирические коэффициенты A уравнения (2.39) для ПФ гексан – модификатор, $\varepsilon^0_1=0.01$

Модификатор	ε^0_2	A
Диэтиловый эфир	0.41	87.44
Этилацетат	0.50	64.93
ТГФ	0.51	16.68
Диоксан	0.52	44.68
ИПС	0.55	636.3

Критерий P^0 был получен при обобщении 4 критериев – P' , δ_T , ε_T и $E_T(30)$, путем их преобразования в безразмерные величины от 0 до 1 по ур.:

$$P^0_i = \Sigma[(P_i - P_{\min}) / (P_{\max} - P_{\min})] / 4, \quad (2.38)$$

где P_i – исходный параметр, P_{\max} и P_{\min} – максимальное и минимальное значения P_i [4]. Между P^0 и элюирующей силой ε^0 на силикагеле и оксиде алюминия во всем диапазоне полярности наблюдаются линейные корреляции $\varepsilon^0(\text{SiO}_2) = \alpha P^0$ и $\varepsilon^0(\text{Al}_2\text{O}_3) = \beta P^0$, где $\alpha = 1.45$ ($n=27$, $R=0.92$), $\beta = 2.03$ ($n=27$, $R=0.94$) [58]. В рамках шкалы P^0 достигается эффект сглаживания аномально низких или, наоборот, высоких значений элюирующей силы отдельных растворителей, обусловленных специфической чувствительностью того или иного частного критерия к одной из парциальных полярностей. В развитие представлений об обобщенном критерии полярности Рудаковым был предложен *редуктивный критерий полярности* P_N , который получен по такому же алгоритму, что и рациональный критерий P^0 . Разница заключается лишь в том, что он выведен путем обобщения параметров P' , δ_T , ε_T и $E_T(30)$ большего числа растворителей. В него включены дополнительно растворители, которые применяются не только в ЖХ, но и ЖЖЭ. В связи с тем, что в новой выборке не оказалось ни одного растворителя, для которого все 4 параметра были минимальны или максимальны, процедуру нормализации повторили. Для практического удобства и отличия от P^0 максимальное значение критерия полярности для воды приняли за 100, а минимальное значение P_N для декана приравняли нулю (табл. 2.49). Между критериями P_N и P^0 есть четкая линейная корреляция ($n=42$, $R=0.999$): $P_N = 101.22P^0 - 0.28$. Этот критерий хорошо коррелирует с эмпирическими параметрами элюирующей силы

растворителя как на «голом» силикагеле, так и на силикагеле, модифицированном группами C_{18} [58,201,235-239]. Критики обобщенного критерия обращают внимание на то, что величины $\varepsilon^o(SiO_2)$ и $\varepsilon^o(C_{18})$ [19], с которыми мы сравниваем обобщенный критерий, найдены для сорбентов еще 1-го поколения. Одинаковые по природе сорбенты разных партий и разных производителей, действительно, могут заметно отличаться по хроматографическим свойствам, современные сорбенты на основе силикагеля имеют более плотную поверхностную модификацию, более тщательно эндкеппированы, сама матрица силикагеля меньше загрязнена примесями и т.д. Всё это так. Показывая, что обобщенный критерий принципиально может быть использован для оценки элюирующей силы на примере его корреляций с известными параметрами элюирующей силы, подчеркнем его преимущество, а именно то, что величины обобщенного критерия определяются вне зависимости от природы сорбента, то есть они характеризуют только усредненные полярные свойства растворителя. Это преимущество является одновременно и недостатком, избавиться от которого можно, например, оптимизацией обобщенного критерия применительно к той или иной экспериментальной шкале элюирующей силы растворителей на конкретном типе сорбентов за счет введения весовых коэффициентов перед обобщаемыми частными критериями полярности [4]:

$$P_s = \sum_{i=1}^m a_i (x_i^s / x_i^w), \quad (2.39)$$

где P_s – значение обобщенного критерия полярности для s -го варианта, a_i – коэффициент веса i -го параметра, x_i^s – значение i -го параметра для s -го варианта, x_i^w – нормирующее значение для i -го параметра (значение для воды), m – количество параметров.

Как показано в [58,201,235-239], для оценки элюирующей силы смешанных ПФ можно с хорошим приближением использовать аддитивные значения P_N . Для объемов удерживания V_R в условиях ОФХ хорошо соблюдаются линейные зависимости:

$$\log V_R = a_k + b_k P_N, \quad (2.40)$$

где a_k и b_k – эмпирические коэфф., а P_N суммарная полярность ПФ, выраженная редуктивным критерием полярности:

$$P_N = 100(1 - \varphi_2) + P_2 \varphi_2, \quad (2.41)$$

$P_1 = 100$ – редуктивный критерий полярности воды, а P_2 – редуктивный критерий полярности модификатора.

Таблица 2.47

Обобщенные критерии P_N и R_L некоторых растворителей

Обобщенные критерии для растворителей	P_N	R_L
декан	0	100
изооктан	0.32	99.68
пентан	0.45	99.55
циклогексан	0.71	99.29
гексан	0.85	99.15
гептан	1.44	98.56
триэтиламин	6.24	93.76
тетрахлорметан	7.29	92.71
диизопропиловый эфир	9.02	90.98
диэтиловый эфир	11.73	88.27
толуол	12.07	87.93
бензол	13.44	86.56
бромэтан	16.72	83.28
ТГФ	21.00	79.00
1,4-диоксан	21.71	78.29
этилацетат	21.84	78.16
хлороформ	22.00	78.00
метиленхлорид	23.04	76.96
1-октанол	28.85	71.15
бутанон	29.03	70.97
пиридин	29.04	70.96
1-пентанол	31.25	68.75
ацетон	32.18	67.82
нитробензол	33.00	67.00
1-бутанол	36.29	63.71
2-пропанол	36.72	63.28
уксусная кислота	38.45	61.55
1-пропанол	39.09	60.91
диметилфосфамид	42.88	57.12
этанол	43.97	56.03
ацетонитрил	44.66	55.34
нитрометан	46.72	53.28
ДМСО	48.41	51.59
метанол	54.34	45.66
формамид	83.83	16.17
вода	100	0

Коэфф. a_k и b_k для смесей ацетонитрил – вода и метанол – вода, близки, что и следовало ожидать, если обобщенный критерий действительно выполняет свою функцию. Из данных [244] следует, что коэфф. a_k ур. (2.40) близок или равен величине мертвого объема.

Коэффициент S и редуктивный критерий P_N коррелируют между собой ($r=0.93$) в ряду растворителей ацетон, ацетонитрил, ДМФА, диоксан, метанол, 1-пропанол, ИПС, ТГФ, этанол и вода: $S=5.39-0.05P_N$. В случае элюирующей силы в ОФ ВЭЖХ для воды $S=0$. В связи с этим была сделана обратная нормировка редуктивного критерия и получен на его основе новый элюотропный ряд для ОФХ (табл.2.47)[235, 239]:

$$R_L=100-P_N \quad (2.42)$$

Полученный критерий получил авторское название «редуктивный липофильный» и обозначен символом R_L . Максимальное значение этого критерия принадлежит декану ($R_L=100$) а для воды липофильность $R_L=0$ (табл.2.47). Корреляция между коэфф. S и критерием R_L в приведенном выше ряду растворителей имеет вид: $S=0.056R_L$. Таким образом, элюирующая сила бинарной ПФ вода – модификатор будет определяться простым линейным выражением, удобным в хроматографической практике:

$$R_L=R_{L2}\varphi_2, \quad (2.43)$$

где R_{L2} – элюирующая сила модификатора, а φ_2 – его объемная доля.

Редуктивный липофильный критерий R_L предпочтительней для характеристики элюирующей силы в ОФ ВЭЖХ, чем критерий P_N , так как мы имеем дело с прямой зависимостью, а в расчетах исчезает параметр воды.

Конечно, критерий R_L не учитывает влияния рН среды, если вместо воды применяют буферные растворы. Величина рН влияет на параметры удерживания ионогенных веществ (слабых кислот и оснований) и практически не влияет на удерживание неионогенных анализов [240].

Уменьшение рН в области рН<7 ведет к увеличению удерживания органических кислот, так как они переходят в молекулярную форму и, наоборот, увеличение рН в области рН>7 ведет к возрастанию времени удерживания слабых оснований, переходящих в молекулярную форму. Поэтому для контроля элюирующей силы смешан-

ной ПФ из водно-органического буферного раствора требуются эмпирические поправки, учитывающие рК сорбатов.

Сложнее ситуация с элюирующей силой в условиях НФХ. В этом случае она изменяется по зависимостям, как показано выше, далеких от линейных. Если в качестве шкалы, отражающей изменение полярности бинарного элюента взять аддитивные значения P_N , объемы удерживания фенолов можно адекватно описать уравнением инверсии 2-го порядка [4,244]

$$V_R = V_M + a/P + b/P^2, \quad (2.44)$$

где V_M – мертвый объем, a и b – эмпирические коэффициенты, P – суммарная полярность, выраженная обобщенным критерием полярности и рассчитанная по аддитивной схеме $P = \sum \phi_i P_i$.

Если в ОФХ с увеличением ϕ_2 вклад распределительного механизма сорбции в величину V_R возрастает, а вклад гидрофобной составляющей, напротив, падает, результирующее значение объема V_R представить в виде суммы:

$$V_R = (1-x)V_{NP} + xV_{RP}, \quad (2.45)$$

где V_{NP} – составляющая объема удерживания, обусловленная нормально-фазовым распределительным механизмом сорбции, V_{RP} – составляющая объема удерживания, обусловленная гидрофобным механизмом сорбции, x – коэффициент, зависящий от свойств хроматографической системы сорбат – элюент – сорбент [244].

В работе [244] выведено итоговое выражение:

$$V_R = (1-x)(V_M + a/P + b/P^2) + x10^{(\log V_M + dP)}. \quad (2.46)$$

При $x=0$ уравнение (2.46) вырождается в уравнение (2.44), т.е. объем удерживания лимитируется нормально-фазовым механизмом сорбции, при $x=1$ уравнение (2.46) преобразуется в уравнение (2.40), т.е. величина объема удерживания будет определяться обращенно-фазовым механизмом сорбции.

Как показано в [244], уравнение (2.46) адекватно описывает экспериментальные данные, полученные в условиях и НФХ, и ОФХ, в том числе и U-образные зависимости.

Эмпирические коэффициенты a и b уравнения (2.46), найденные методом компьютерной оптимизации, позволяют выявлять силанольную активность сорбента, устанавливать долю объема удерживания дифильного сорбата, обусловленную нормально-фазовым распределительным или гидрофобным механизмом сорбции. Таким образом, для сопоставления систем бинарных растворителей в условиях НФХ

и ОФХ в качестве единой шкалы могут быть использованы обобщенные критерии полярности (гидрофильности) и липофильности растворителей.

2.5. Тестирование бинарных растворителей с помощью обобщенных целевых функций

В разделах 2.4.1-2.4.10 рассмотрены частные целевые функции для важнейших физико-химических и технико-эксплуатационных свойств бинарных растворителей «свойство – объемная доля модификатора», что позволяет проводить рейтинг смесей с помощью *обобщенных целевых функций*. Ранее авторами [70, 75, 76] для их расчета использовали уравнение (1.5). В данной работе предложено другой вариант ОЦФ:

$$F_{об} = \sum_{k=1}^S \alpha_k F_n \rightarrow \max, \quad (2.47)$$

где F_n – k -ая нормализованная целевая функция, S – число составляющих целевых функций, α_k – коэффициент веса k -ой целевой функции.

В отличие от (1.5) перед минимизируемыми функциями не ставится знак «минус», для них производится обратная нормировка, в результате которой максимальное значение минимизируемой функции становится равным 0, а минимальное равно 1.

В предложенном алгоритме расчета ОЦФ появляется существенное преимущество – минорные изменения таких важных для оптимизации свойств, как порог прозрачности в УФ-свете, показатель преломления и др., изменяются в нормализованной функции от 0 до 1, а не в пределах сотых и тысячных долей. Например, показатель преломления воды равен 1.3330, а ацетонитрила – 1.3441. С другой стороны, в таких целевых функциях как изменение ПДК, стоимости и др., эти изменения фиксируются не в разы, а опять же в диапазоне 0-1. Например, стоимость 1 л ацетонитрила «для ВЭЖХ» равна 1500 руб, а дистиллированной воды – 10 руб, ПДК метанола – 5, а ИПС – 980 мг/м³.

В предлагаемом варианте расчета обобщенной целевой функции важность частной целевой функции, характеризующей динамику изменения того или иного свойства при варьировании состава бинарной смеси сравнительно легко выделять с помощью коэффициента веса.

2.5.1. Примеры расчета обобщенных целевых функций для бинарных жидких систем для жидкостной экстракции и хроматографии

На рис. 2.27-2.29 приведены наборы F_n для трех самых распространенных в ВЭЖХ систем: вода – ацетонитрил, вода – метанол и гексан – ИПС.

Часть F_n линейно изменяется от 0 до 1 или от 1 до 0. Если неизвестен характер изменения функции, она описывается аддитивным уравнением. Для некоторых свойств отдельных растворителей (вода, негорючие галогеналканы), чтобы возможны были измерения целевой функции, были приняты условные значения. Так, для ПДК воды условно принято значение 1000 мг/м^3 , для температуры вспышки воды и галогеналканов, соответственно, $+200^\circ\text{C}$, а самовоспламенения $+2000^\circ\text{C}$.

Таблица 2.48

Величины α_k в ОЦФ для вариантов: 1 – УФД; 2 – РМД; 3 – ЭХД; 4 – ЖЖЭ

№	λ^*	n_D	ε_r	σ	$t_{зам}$	Растворимость аналита	ρ	η	R_L
1	0.30	0.01	0	0.01	0.05	0.05	0.02	0.05	0.01
2	0.01	0.30	0	0.01	0.05	0.05	0.02	0.05	0.01
3	0.01	0.01	0.30	0.01	0.04	0.05	0.02	0.05	0.01
4	0	0	0	0.05	0.10	0.05	0.02	0.04	0.30

Таблица 2.49

Величины α_k в ОЦФ для вариантов: 1 – УФД; 2 – РМД; 3 – ЭХД; 4 – ЖЖЭ

№	$\$$	$t_{кип}$	$t_{свп}$	$t_{всп}$	$P_{пар}$	ПДК	Наркотик	Ψ
1	0.13	0.05	0.01	0.05	0.05	0.15	0.05	0.01
2	0.13	0.05	0.01	0.05	0.05	0.15	0.05	0.01
3	0.13	0.05	0.01	0.05	0.05	0.15	0.05	0.01
4	0.1	0.10	0.01	0.05	0.02	0.10	0.05	0.01

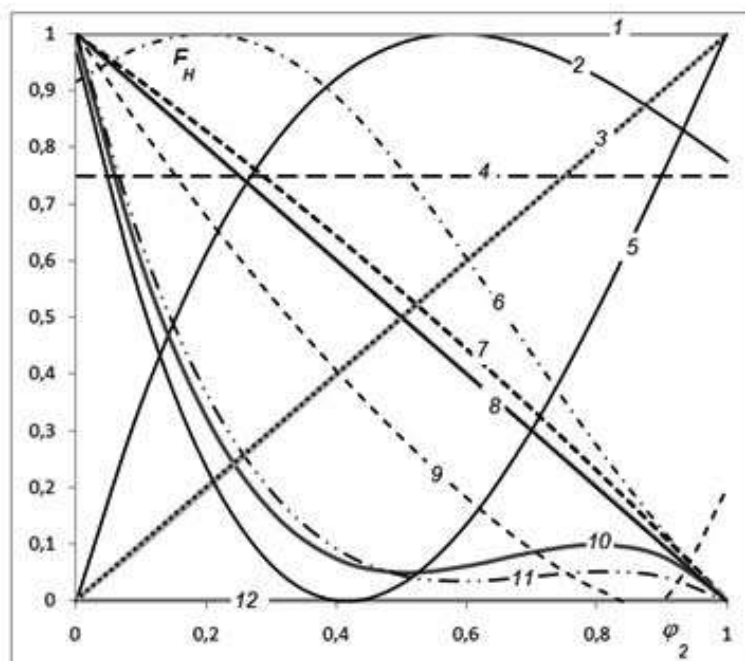


Рис. 2.27. Нормализованные целевые функции для смеси вода – ацетонитрил: 1 – смешиваемость с водой; 2 – n_D ; 3 – растворимость аналита, давление пара над растворителем; стоимость, липофильность; запах, наркотические свойства; 4 – химическая стабильность; 5 – проницаемость; 6 – η ; 7 – ϵ_r ; 8 – ρ , ПДК, t самовосп.; 9 – t кип.; 10 – σ ; 11 – t исп.; 12 – смешиваемость с гексаном

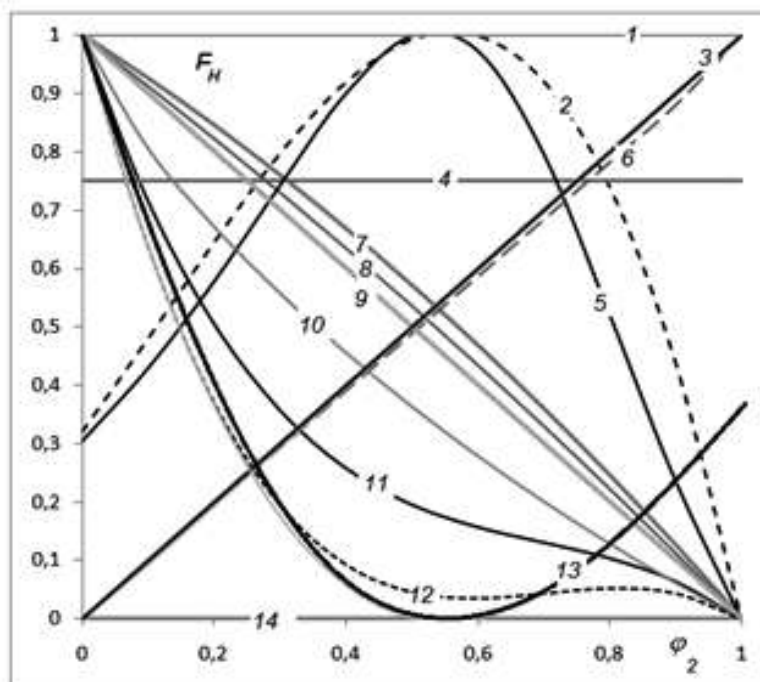


Рис. 2.28. Нормализованные целевые функции для бинарной смеси вода – метанол: 1 – смешиваемость с водой; 2 – n_D ; 3 – растворимость аналита, стоимость, давление пара над растворителем; запах, наркотические свойства; 4 – химическая стабильность; 5 – η ; 6 – липофильность; 7 – ϵ_r ; 8 – ρ ; 9 – ПДК; t самовоспл.; 10 – t кип.; 11 – σ ; 12 – t исп.; 13 – проницаемость; 14 – смешиваемость с гексаном

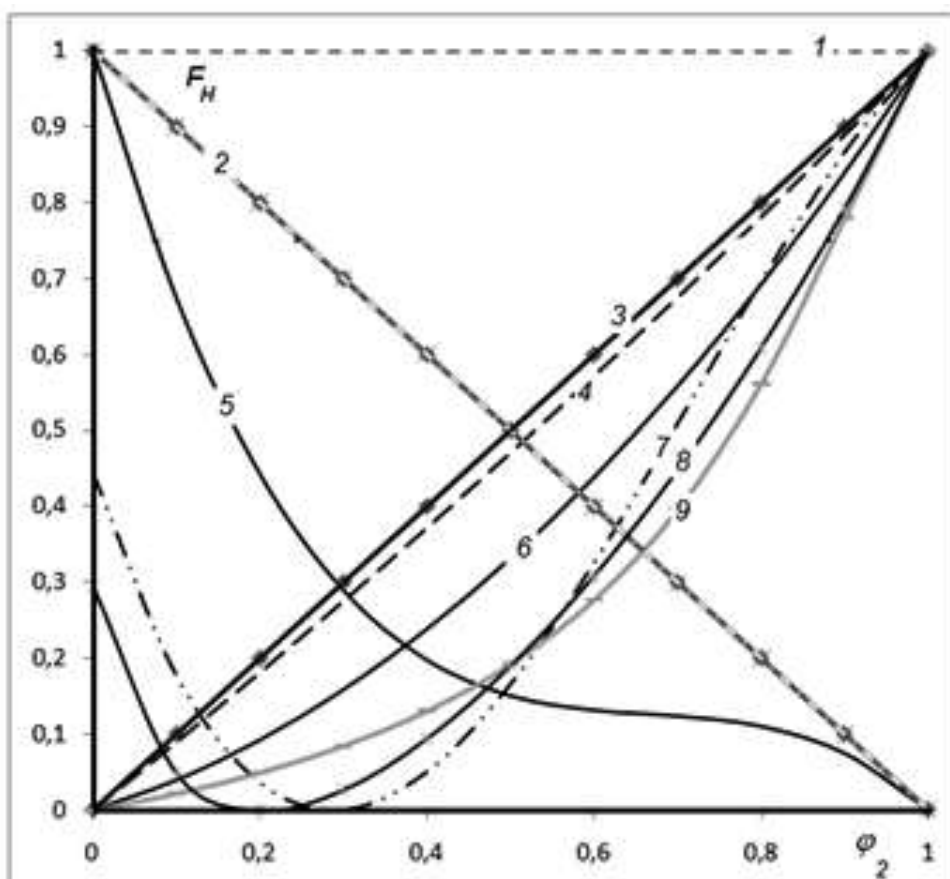


Рис. 2.29. Нормализованные частные целевые функции для бинарной смеси гексан – ИПС: 1 – смешиваемость с гексаном; 2 – давление пара над растворителем, стоимость, липофильность, ПДК, химическая стабильность; наркотические свойства, запах, показатель преломления; 3 – растворимость аналита, температура самовоспламенения, смешиваемость с водой; 4 – плотность; 5 – поверхностное натяжение; 6 – диэлектрическая проницаемость; 7 – показатель преломления; 8 – температура кипения; 9 – вязкость

Тестирование бинарных растворителей с использованием ОЦФ, построенных с помощью системы *СОЛЬВЕНТ-Р* показало, что включение максимального числа F_H в ОФЦ нивелирует важные свойства растворителей, слишком занижая их вес. Поэтому, анализируемые свойства растворителей были разбиты на 3 группы: совместимость с методом детектирования и аналитом; совместимость с колонкой и насосной системой; практичность и безопасность.

Первая и третья группа свойств носят универсальный характер, 2-я группа рассчитана в первую очередь на применение в ЖХ и ЖЖЭ (см. рис. 2.1).

При поиске оптимальных решений с помощью ОЦФ целесообразно максимально близко учитывать реальную аналитическую задачу, для которой проводится рейтинг бинарных систем.

На рис. 2.30-2.32 приведены примеры расчетов ОЦФ для 3 систем бинарных растворителей на предмет их применения в ЖЖЭ и ВЭЖХ в условиях ОФХ с использованием УФД, РМД и ЭХД, а также в условиях НФХ с использованием УФД и РМД. Частные функции и их коэффициенты веса, взятые для расчета ОЦФ, приведены в табл. 2.48 и 2.49.

ОЦФ зачастую не имеют максимума, поэтому окончательный вывод о рейтинге той или иной системы применительно к конкретной аналитической задаче определяется граничными условиями, накладываемыми техническим заданием.

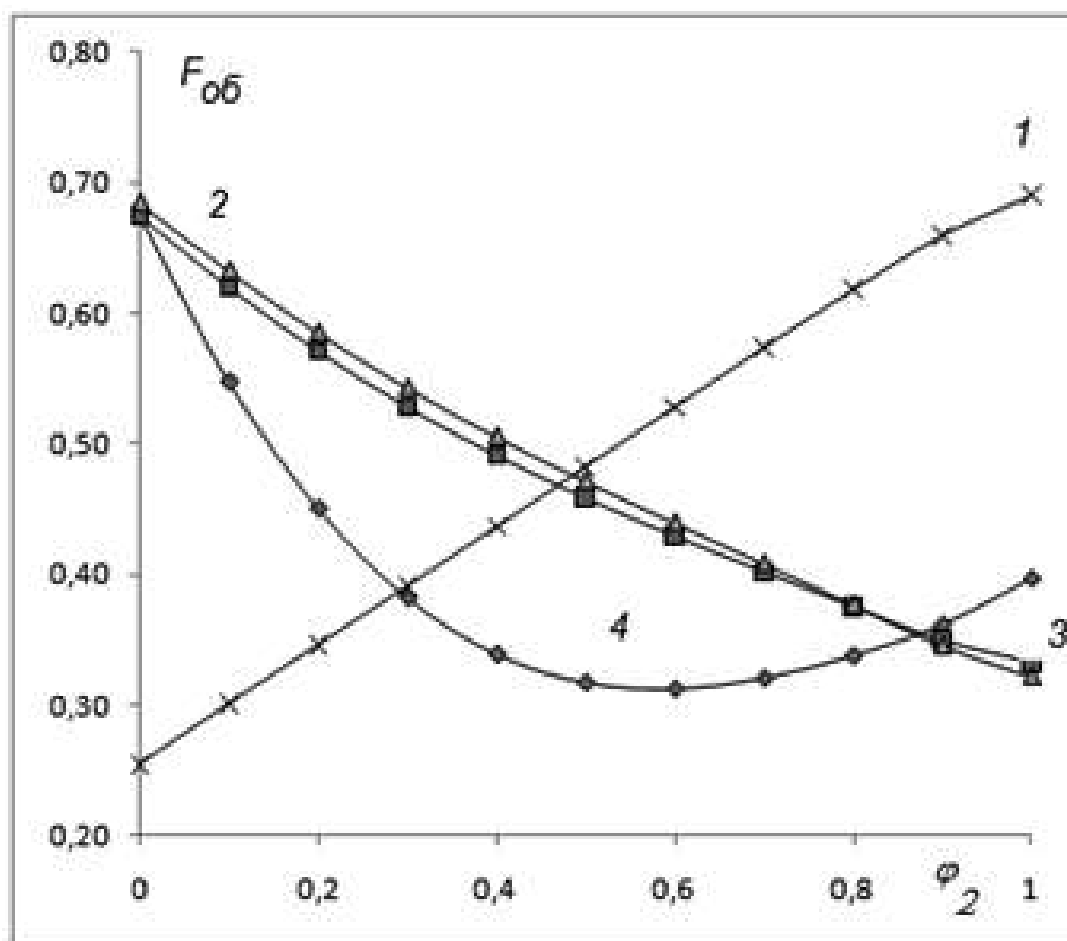


Рис. 2.30. Обобщенные целевые функции для смеси вода – ацетонитрил: 1 – ЖЖЭ гидрофильными растворителями; 2 – ОФХ, ЭХД; 3 – ОФХ, УФД; 4 – ОФХ, РМД

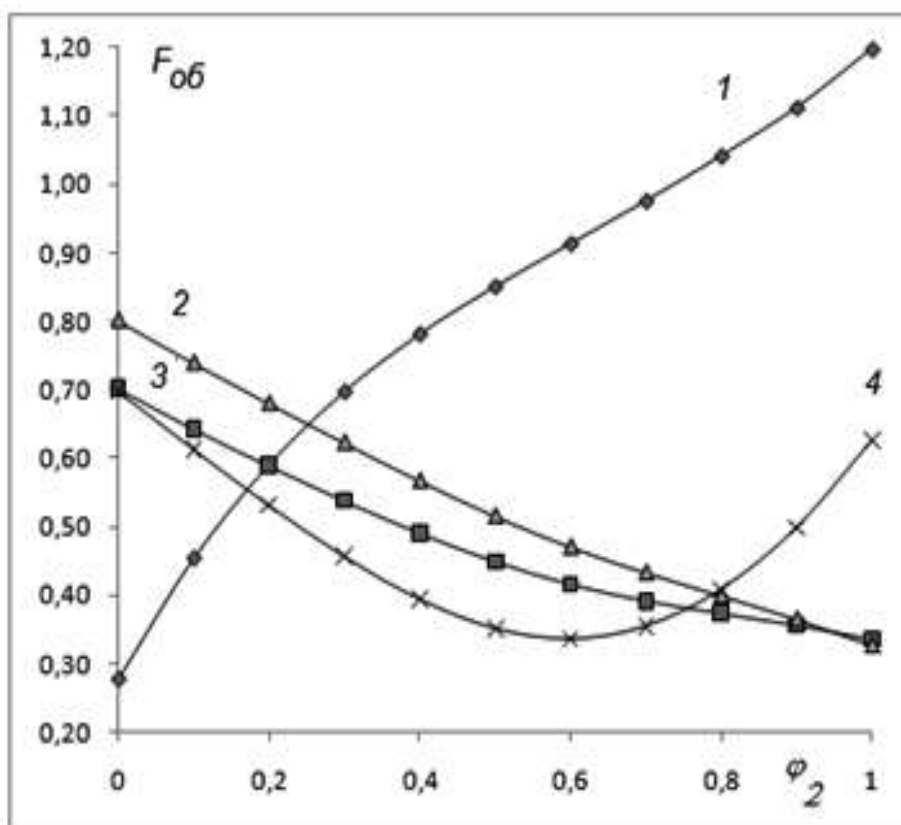


Рис. 2.31. Обобщенные целевые функции для смеси вода – метанол: 1 – ЖЖЭ гидрофильными растворителями; 2 – ОФХ, ЭХД; 3 – ОФХ, УФД; 4 – ОФХ, РМД

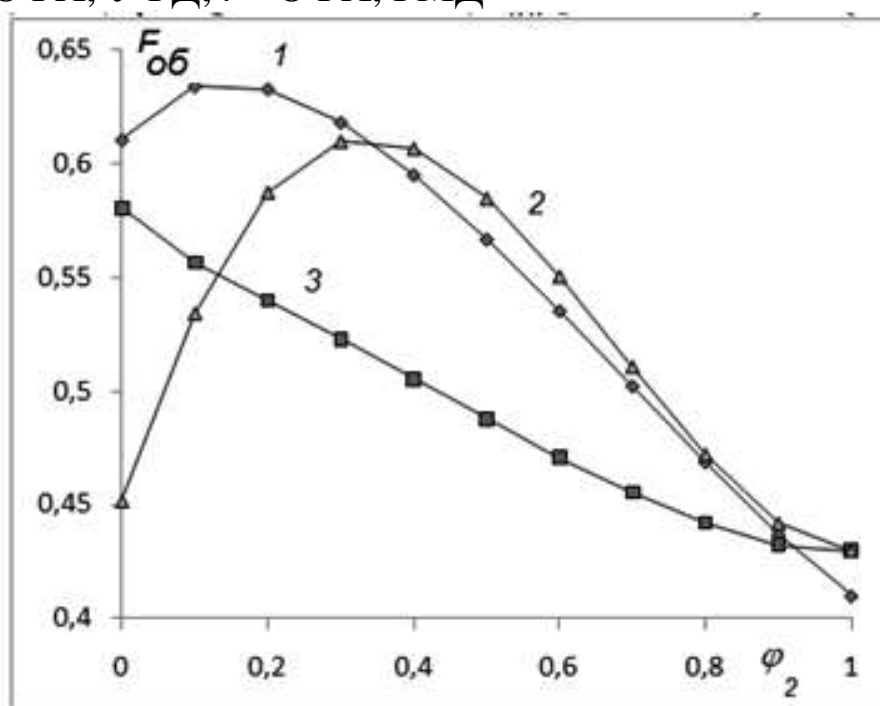


Рис. 2.32. Обобщенные целевые функции для смеси гексан – ИПС: 1 – ЖЖЭ гидрофобными растворителями; 2 – НФХ, РМД; 3 – НФХ, УФД

2.5.2. Примеры инструментальных способов определения БАВ с оптимизированными составами подвижных фаз

В табл. 2.50 приведены условия инструментального определения некоторых БАВ, в первую очередь, методом ВЭЖХ с применением различных детекторов.

Таблица 2.50

Условия анализа некоторых БАВ, оцененные с помощью ОЦФ

Аналит	Условия анализа	ОЦФ	Ссылка
Парацетамол и примеси в суспензии «Парацетамол детский»	ЖЖЭ ацетонитрилом с высаливателя. ОФ ВЭЖХ, колонка Zorbax SB CN (150×4.6 мм), 3.5 мкм, ПФ: CH ₃ CN – 0.02М раствор КН ₂ РО ₄ (1:9), рН 5.7, 25° С, расход 1 мл/мин, СФД, 246 нм	0.62	369
Парацетамол в каплях, жевательных таблетках, гранулах	ОФ ВЭЖХ, колонка ZORBAX XDB-C18 (4.6×250 мм, 5 мкм. ПФ: метанол – 0.05 М раствор ацетата аммония, (15:8), расход 1.0 мл/мин. Объем пробы: 10 мл. 30°С. СФД, 257 нм	0.40	370
Шипучие таблетки с парацетамолом	ОФ ВЭЖХ, колонка ZORBAX SB-Aq (4.6×250 мм), 5 мкм. ПФ: фосфатный буфер (рН 4.5) – метанол (80:20), расход 1.0 мл/мин, 30 °С, СФД, 254 нм	0.59	370
Парацетамол, субстанция	ВЭЖХ, колонка с октилсилилсиликагелем (С8) (250×4.6 мм), 5 мкм; ПФ: 0.05 М раствор Na ₂ PO ₄ – 0.05 М раствор NaHPO ₄ – раствор тетрабутиламмония гидроксида (37.5:37.5:25), расход 1.5 мл/мин; УФД, 245 нм.	0.70	169
Опиаты, барбитураты и лизиноприла в биологических объектов	ОФ ВЭЖХ, колонка Eclipse XDB-C18 (4.6×150 мм, 5 мкм), форколонка XDB-C18 (4.6×12.5 мм, 5мкм), 20°, расход 1 мл/мин. Градиент: элюент А (фосфатный буфер 10 мМ, рН 3), элюент В (ацетонитрил), СФД, 205,210 нм	От 0.35 до 0.52	371

Продолжение табл. 2.50			
Димедрол в биологических жидкостях	ОФ ВЭЖХ, колонка Eclipse XDB-C18 (4.6×150 мм, 5 мкм), форколонка XDB-C18 (4.6×12.5 мм, 5 мкм), 20°, расход 1 мл/мин. Градиент: элюент А (фосфатный буфер 20 мМ, рН 3), элюент В (ацетонитрил). Линейный градиент от А:В=9:1 до 3:7 за 20 мин. Изократика, ПФ А:В=1:1. СФД, 220 нм	От 0.36 до 0.54	372
Димедрол в таблетках	ОФ ВЭЖХ. Колонка ZORBAX XDB-CN (4.6×250 мм), 5 мкм). ПФ: ацетонитрил – вода – триэтиламин (до рН 6.5 ледяной уксусной кислотой) (50:50:0.5). Расход: 1.0 мл/мин. 30°С. СФД, 258 нм	0.45	370
Димедрол в таблетках	ВЭЖХ. Колонка (150×3.9 мм) с октилсिलилсиликагелем (С8), 5 мкм; ПФ: ацетонитрил – фосфатный буфер с рН 3,0 (35:65); Расход 1.2 мл/мин.; СФД, 220 нм	0.51	169
Бенсультап, нереистоксин, его производные и метаболиты в биообъектах	ВЭЖХ, колонка Eclipse XDB-C18 (4.6×150 мм) с форколонкой (4.6×12.5 мм), 25°С, ПФ: ацетонитрил – фосфатный буфер с рН 3,0 (1:1); Расход 1.2 мл/мин.; СФД, 220 нм расход 1 мл/мин, СФД 205 нм, запись спектра 200-500 нм	0.46	374, 375
Дротаверин (но-шпа), его производных и метаболиты в биообразцах	ЖЖЭ смесью хлороформ-бутанол. ТФЭ, элюирование смесью дихлорметан, ИПС, водн. р-р аммиака. ВЭЖХ. Колонка Eclipse SB-C18 (4.6×150 мм) с форколонкой (4.6×12.5 мм), 25°С, ПФ: фосфатный буфер 20 мМ, рН 2.5 – ацетонитрил (55:45), расход 1 мл/мин. СФД, 202 и 304 нм	0.48	373, 376, 387
Дротаверин	ВЭЖХ. Колонка 250×4.0 мм с октадецилсиликагелем (С18), 5 мкм; ПФ: метанол – ацетонитрил – ацетатный буферный раствор (8:48:44); Скорость потока 1,0 мл/мин; СФД, 254 нм; объем пробы 10 мкл	0.47	169
Синэстрол в лекарственной форме	2-ная ЖЖЭ с применением на одной из стадий выщелачивания, Милихром-5, УФД 280 нм, микроколонка 2×80 мм, Диасорб 130С16, 7 мкм, ПФ: вода – ацетонитрил (1:4), расход 120 мкл/мин	0.39	250

Продолжение табл. 2.50			
Капсаициноиды и ионол в перечном пластуре	ЖЖЭ из водно-солевых растворов сульфата аммония ИПС. «Милихром-5» с УФД, 274 нм. Для определения ионола ПФ ацетонитрил-вода (4:1), расход 120 мкл/мин, колонка 2×80 мм, Диасорб 130 С16Т, 7 мкм; для определения капсаициноидов ПФ ацетонитрил – вода (1:1), расход 70 мкл/мин, колонка та же.	0.39 0.46	378, 379
Фенолы	ЖЖЭ из водной или водно-солевой фазы в органическую фазу, реэкстракция из органической в водную фазу. Фотометрический анализ в окрашенных соединений с помощью диазотированного 4-нитроанилина, $\lambda=400-440$ нм. Потенциометрическое титрование фенолов по кислотно-основному механизму раствором КОН в ИПС, оксидно-платиновый и хлорсеребряный электроды	0.68	380
Фенолы	Низкотемпературная ЖЖЭ из водных растворов ацетонитрилом. Микроколоночная ВЭЖХ. Сорбент Диасорб 130Т16С, 7 мкм, размер колонки – 2×80 мм расход ПФ вода – ацетонитрил (1:4), расход 120 мкл/мин; ВЭЖХ, сорбент Nucleosil 100-С18, 5 мкм, размер колонки – 4×250 мм; УФД, 274 нм; ПФ вода – ацетонитрил (1:4)	0.39	188, 189, 381, 382, 388
Фенолы	ЖЖЭ. Микроколоночная ОФ ВЭЖХ, Милихром-4 (Россия) колонка 2×62 мм, Силасорб С ₁₈ , 5 мкм. ПФ: вода – ацетонитрил (0.25:0.75); вода – метанол (0.25:0.75); расход – 100 мкл/мин. УФД, двухволновой режим – 254 и 272 нм. Пробы растворяли в ацетонитриле	0.39	217
Фенолы	Микроколоночная НФ ВЭЖХ, колонка 2×80 мм сорбент Силасорб 600 SGX, Силасорб CN, 7 мкл; ПФ гексан – ИПС (92,5:7,5), расход – 100 мкл/мин; УФД $\lambda=270$ нм	0.57	180, 201

Продолжение табл. 2.50

Двухатомные фенолы	ВЭЖХ, Nucleosil 100-C18, 4×250 мм; вода – ацетонитрил, 1:4, расход 1 мл/мин, УФ 274 нм	0.39	383
Полиены, не-предельные третичные спирты	ВЭЖХ, колонка μ Porasil, 4.6×250 мм, 5 мкм, РМД, гексан – диэтиловый эфир (этилацетат, этилпропионат, бутилацетат, ацетон), 0.965:0.035 – 0.818:0.182, 1 мл/мин	От 0.56 до 0.58	386
халконы	Микроколоночная ВЭЖХ, колонка Силасорб 600, 2×64 мм, 5 мкм, УФД, 254 нм, гексан – диэтиловый эфир (этилацетат, бутилацетат, ацетон), 0.965:0.035 – 0.818:0.182, расход 100 мкл/мин	От 0.56 до 0.54	386
сквален	ТСХ, «Плазмахром», ПФ декан	0.60	384
Мезотон и ад-реналин	УФД, водн. р-р, 272-290 нм в зависимости от рН	0.70	385
триглицериды	ВЭЖХ, колонка (250 × 4,0 мм) Диасфер-110-C18, 6 мкм; ПФ: ацетонитрил – ацетон (90:10); расход 1 мл/мин, РМД.	0.40	245
Витамин А	ОФ ВЭЖХ. ПФ метанол – вода (98:2) или ацетонитрил – вода (95:5), расход 100 мкл/мин для микроколоночного хроматографа «Милихром» и 1,0 мл/мин для стандартных систем. сорбент Силасорб С18, 5-7 мкм; размер микроколонок 62 × 2 мм или 80 × 2 мм. Стандартные колонки Ultrasphere ODS (250 × 4,6 мм); Nucleosil C18 (250 × 4,6 мм) и др. СФД, 324 нм	0.33; 0.35	245
Витамин Е	НФ ВЭЖХ. Колонки с сорбентом «Силасорб», «Сепарон», «Партисил», «Зорбакс» или др. ПФ гексан (или гептан) – ИПС (или метанол) 99:1, СФД, 326 нм	0.57; 0.56	245
Витамин Е	Микроколоночная ОФ ВЭЖХ: микроколоночка (62×2 мм или 80 × 2 мм) Силасорб С18; ПФ вода – метанол (2:98) или вода – ацетонитрил (5:95) расход 100 мкл/мин. УФД, 292 нм	0.35; 0.34	245

Продолжение табл.2.50

Витамин Е	Микроколоночная НФ ВЭЖХ, микроколо- нка (62×2 мм или 80 × 2 мм) Силасорб 600, ПФ гексан (или гептан) – ИПС (или мета- нол) 99:1 или 99.5:0.5 УФД, 292 нм	0.57; 0.58	245
β -каротин	ОФ ВЭЖХ. Силасорб С18, 5-10 мкм, размер колонок 250×4 мм, ПФ метанол – ацето- нитрил – хлороформ (47:47:6), расход 1 мл/мин. СФД, 436 нм	0.44	245
β -каротин	Микроколоночная НФ ВЭЖХ, микроколо- нка (62×2 мм или 80 × 2 мм) Силасорб 600, Сепарон SGX, Нуклеосил и др. ПФ гексан (или гептан) – ИПС 99,9:0.01, расход 100 мкл/мин, СФД 450 или 480 нм или УФД, 290 нм	0.58	245

При расчете ОЦФ при заданных объемных долях воды и модификатора в ПФ не учитывался минеральный состав водной фазы (содержание солей, кислот и оснований). Установлено в результате расчетов величин ОЦФ, что смеси гексан – модификатор, реально применяемые в ВЭЖХ БАВ выше, чем гидрофильные смеси растворителей. В первую очередь это связано с невысокой стоимостью, низкой токсичностью, хорошей растворимостью в них неполярных аналитов, а так же из-за высокой токсичности ацетонитрила и метанола. В тоже время ПФ, оптимальные для анализа полярных органических аналитов, состоящие преимущественно из водных буферных растворов, имеют максимально высокий рейтинг. Вызывает сомнение качество методики определения парацетамола, приведенной в [169]. В ней как ПФ применяются водные растворы солей (из-за чего рейтинг максимальный) и модифицированная октильными группами (C8) НФ на основе силикагеля. Известно, что в водных средах, не содержащих органических растворителей, алкильные щетки «ложатся» на поверхность сорбента и не могут обеспечивать разделение по сольвофобному механизму.

На рис. 2.33, 2.34, 2.36, 2.37 приведены блок-схемы экстракционно-инструментальных методик с оптимизированными составами экстрагентов и элюентов, а на рис. 2.35 и 2.38-2.42 примеры первичных данных (хроматограммы), зарегистрированных некоторыми приведенными в табл. 2.50 способами. Блок-схема, приведенная на рис.

2.33 пригодна для реализации с использованием НФ ВЭЖХ. Другая блок-схема (рис. 2.34) может быть реализована как для варианта НФХ, так и ОФХ, так как ИПС является универсальным растворителем и хорошо смешивается как с гексаном, так и с водой. Третья блок-схема (рис. 2.35) наиболее подходит для ОФ ВЭЖХ с применением водно-ацетонитрильных ПФ, или для спектрофотометрии. Она была реализована для контроля свободных фенолов в полимерных материалах.

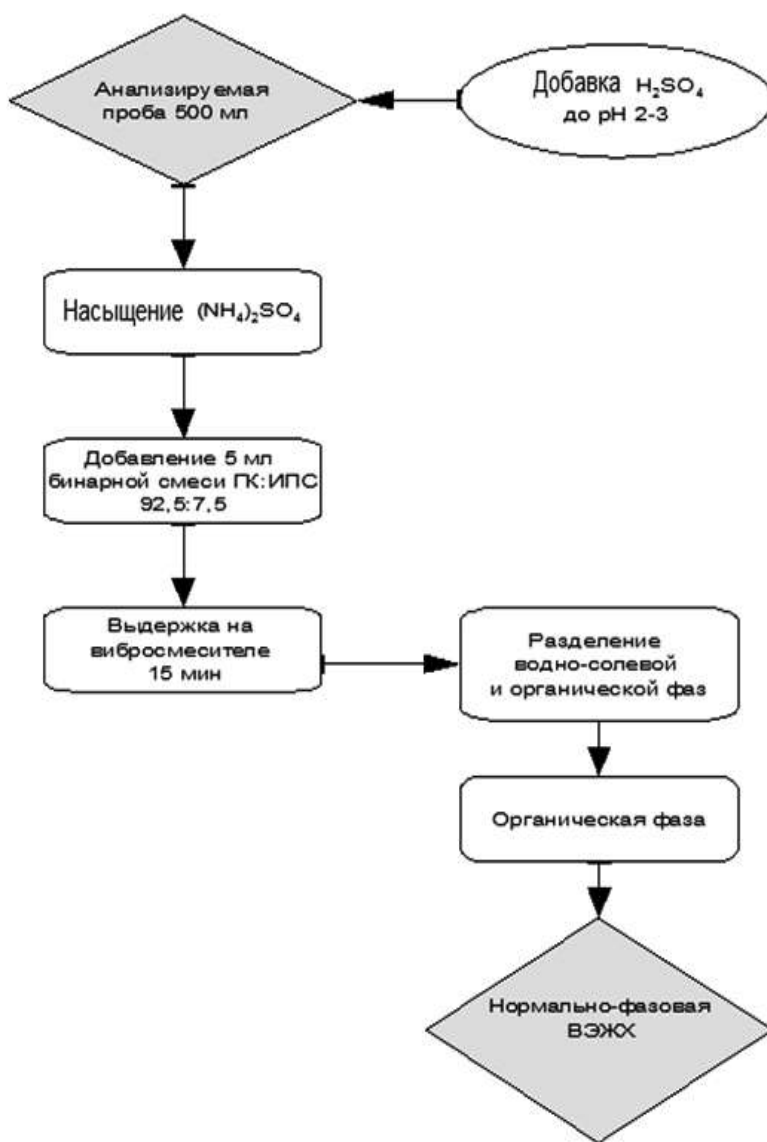


Рис. 2.33. Блок-схема экстракционно-хроматографического определения фенолов с применением гидрофобных и гидрофобно-гидрофильных экстрагентов и нормально-фазовой ВЭЖХ [180,186,201]

И наконец, перспективной является блок-схема экстракционно-хроматографического определения БАВ с использованием низкотем-

петатурной экстракции аналита ацетонитрилом [188,388]. Смесь ацетонитрила и воды (1:1) при -10°C в течение 30 мин образует двухфазную систему «жидкость – жидкость», при этом соотношение образующихся объёмов равновесных фаз составляет 1:6, т.е. наблюдается эффект концентрирования.

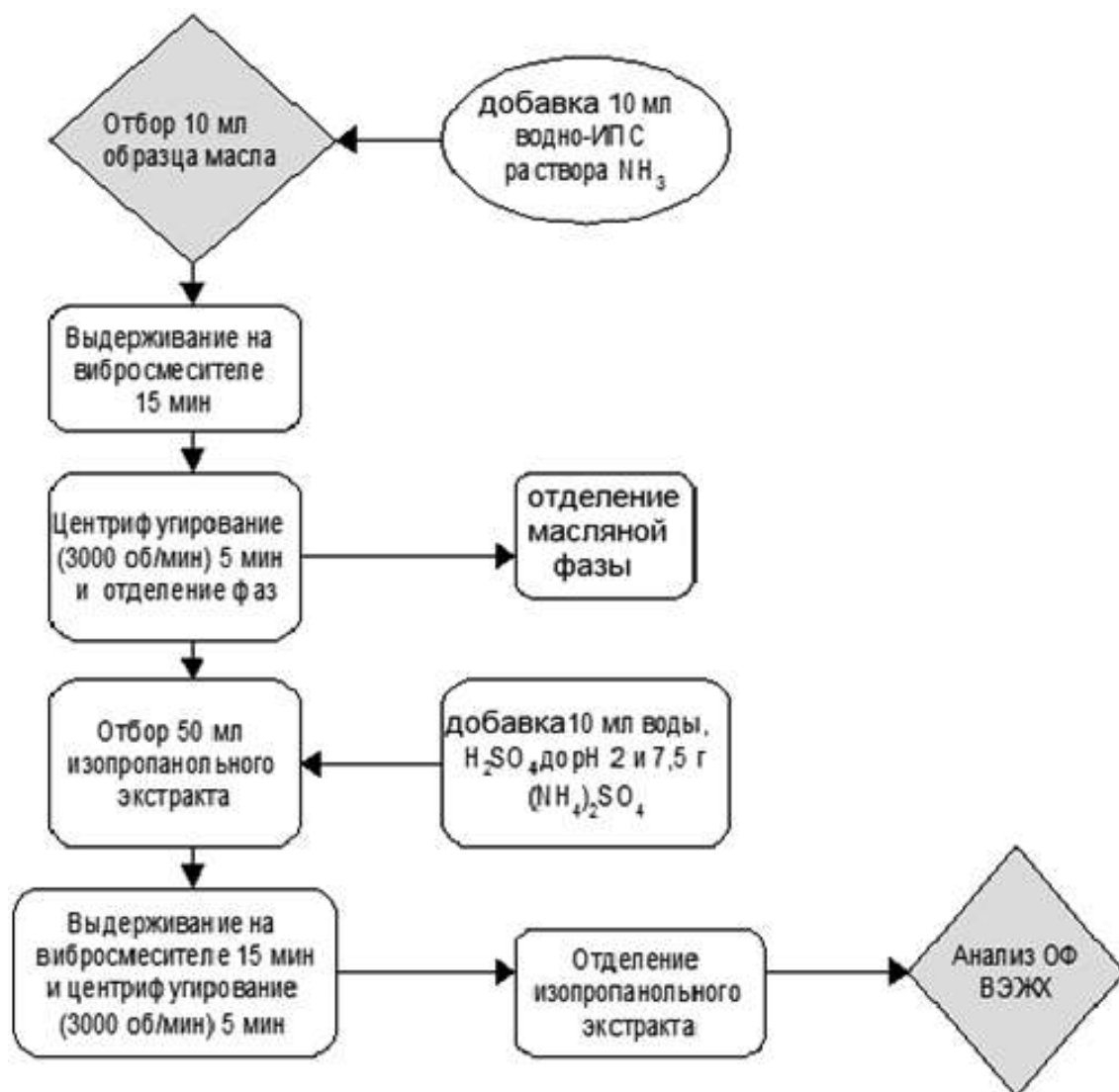


Рис. 2.34. Блок-схема экстракционно-хроматографического определения фенолов в растительных и трансформаторных маслах с применением раствора аммиака в смеси вода – ИПС в качестве экстрагента и ОФ ВЭЖХ [187,189].

Диапазон содержания ацетонитрила в смесях с водой, способных расслаиваться при пониженных температурах, составляет от 36 до 86 об.%, т.е. можно добиться условий, при которых одна из расслаившихся фаз будет иметь азеотропный состав ($\varphi_2=0,87$).

Образование двухфазной гетерогенной системы «жидкость – жидкость» для смесей ацетонитрил – вода при низкой температуре важно с практической точки зрения, так как ацетонитрил является базовым растворителем для ПФ в ОФ ВЭЖХ.

Преимущество применения холодной ЖЖЭ заключается в том, что из стадии ЖЖЭ исключаются высаливатели, аппаратно упрощается и ускоряется пробоподготовка, уменьшается расход реактивов по сравнению с известными способами пробоподготовки, избегается температурное и химическое деструктивное воздействие на компоненты пробы, что позволяет сохранить нативную структуру химически нестабильных аналитов. Все это делает холодную ЖЖЭ водно-ацетонитрильными системами перспективным в анализе биологических жидкостей и термолабильных БАВ.

Нами апробирован этот способ в пробоподготовке растворов, содержащих фенолы и парацетамол.

В отличие от вымораживания, где наблюдается сорбция фенолов на поверхности кристаллов льда, при холодной ЖЖЭ распределение фенолов происходит на границе раздела двух равновесных жидких фаз, и исключается потеря концентрируемого аналита и экстрагента в виде образующихся жидких микровключений в фазе льда.

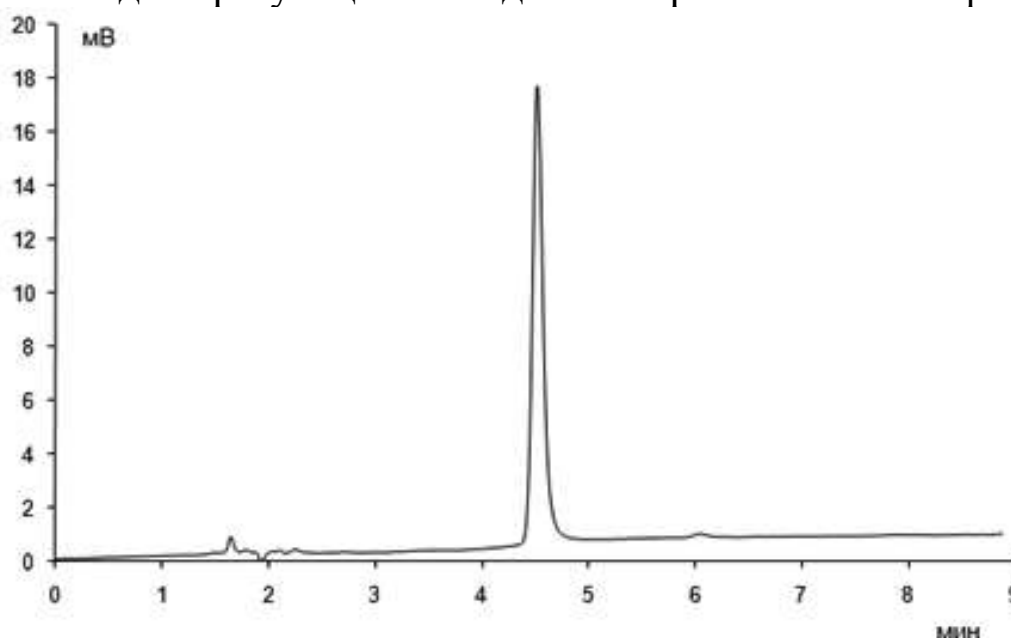


Рис. 2.35. Хроматограмма образца кондиционной субстанции парацетамола[369].

Таким образом, ИАС *Сольвент-Р* апробирована в демонстрационном варианте на разработанных нами методиках и методиках оп-

ределения БАВ, включенных в XII Фармакопею РФ, Фармакопею КНР и другие сборники методик [169,245,370].

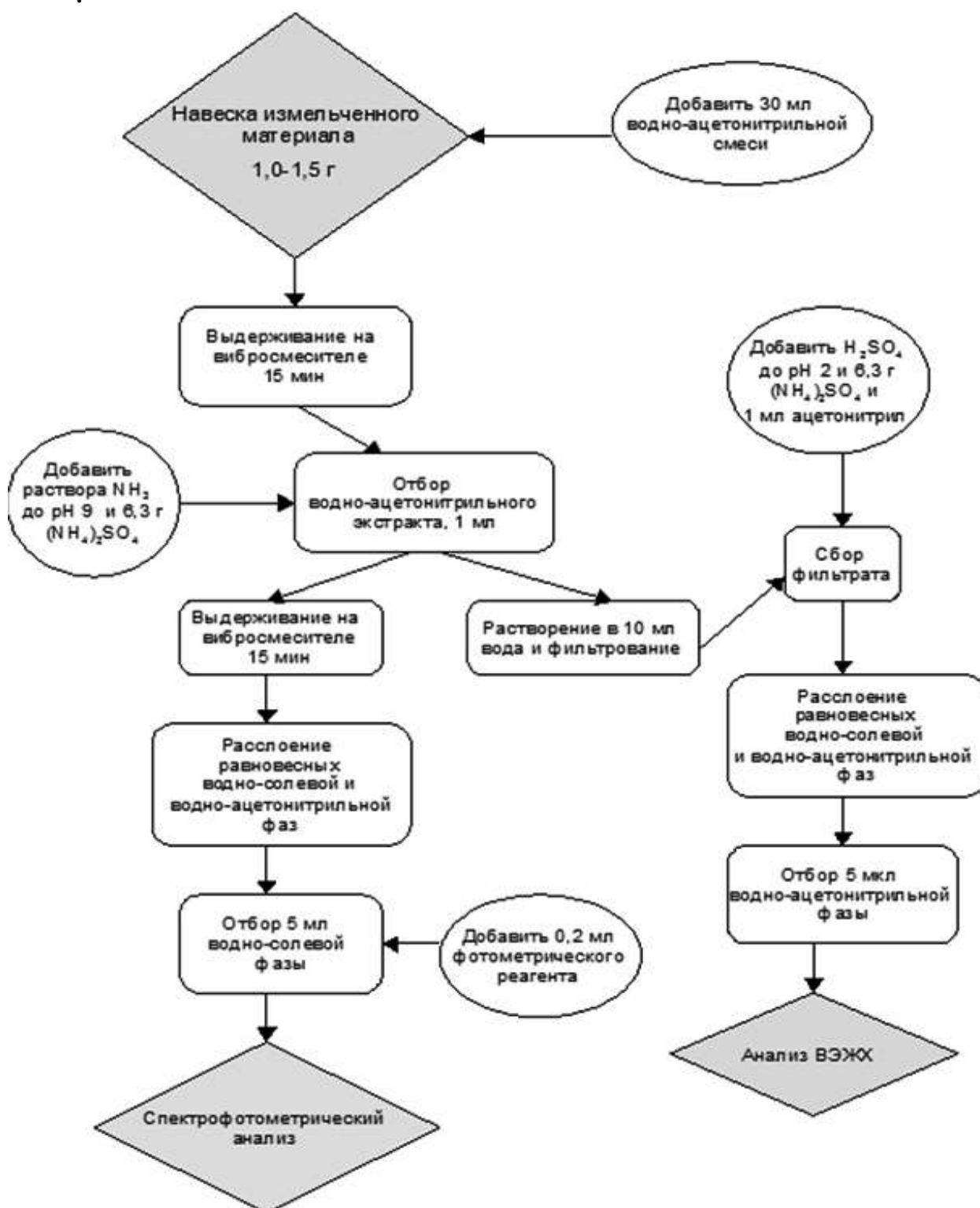


Рис. 2.36. Блок-схема экстракционно-спектрофотометрического и хроматографического определения фенолов в полимерных материалах с применением высаливателя и водно-ацетонитрильной смеси в качестве экстрагента и ОФ ВЭЖХ

При разработке принципов создания экспертной системы для оценки качества аналитических методик, использующих индивидуальные или смешанные растворители в пробоподготовке или непосредственно в анализе, исходили из правила унификации, то есть применили типовое ПО в качестве базового, взяли общедоступный и популярный пакет программ Microsoft Office, а именно, встроенные программы MS Excel и MS Access. Эти программы используют протестированные, прошедшие международную апробацию алгоритмы и решения, практически избавляют разработчиков ЭС от процедур программирования и создания интерфейса. В качестве критериев оптимальности использовали обобщенные критерии и целевые функции, количественно суммирующие разнородную информацию.

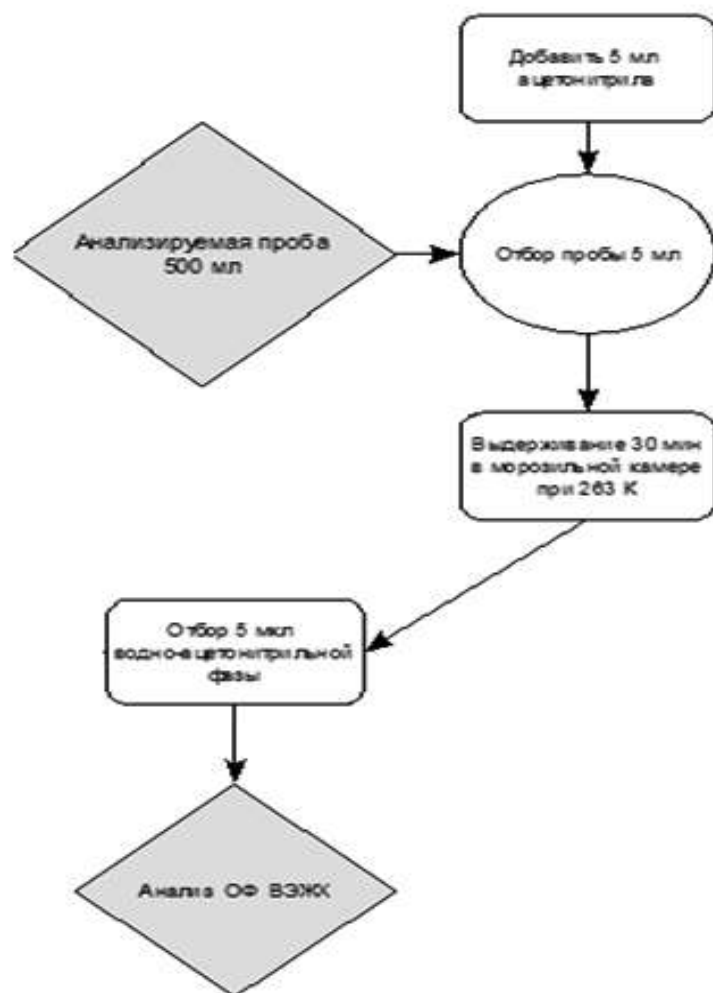


Рис. 2.37. Блок-схема экстракционно-хроматографического определения БАВ с использованием низкотемпературной экстракции аналита ацетонитрилом

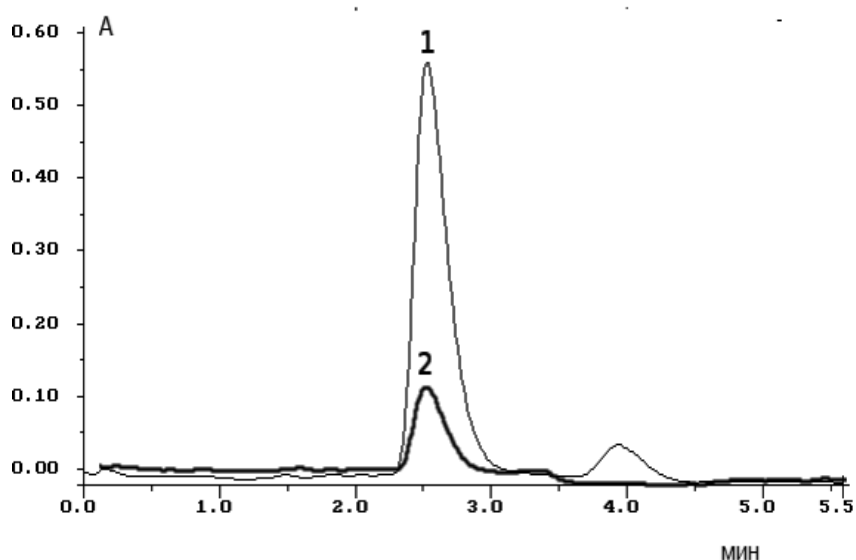


Рис. 2.38. Хроматограмма экстракта синэстрола из 0,1%-го раствора в растительных маслах: 1 – раствор в персиковом масле; 2 – раствор в растительном масле без указания происхождения. Условия анализа в [250]

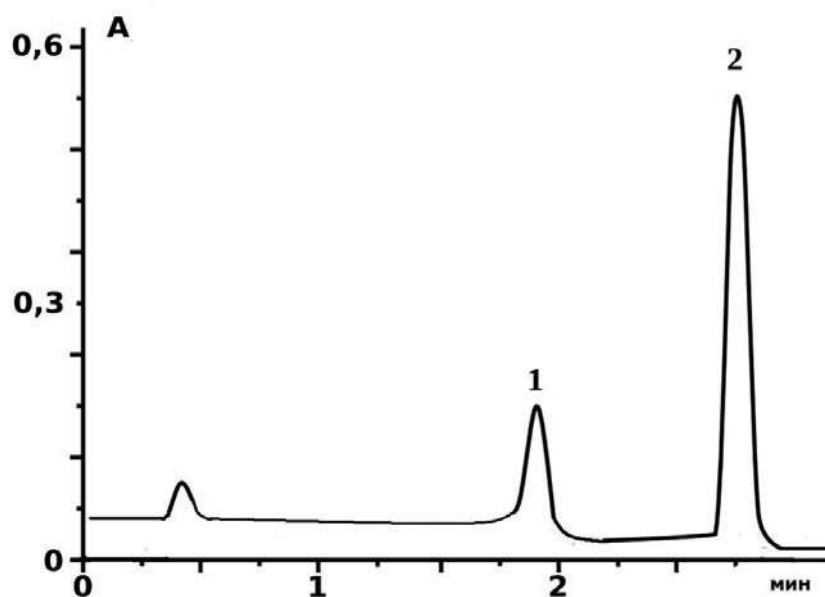


Рис. 2.39. Хроматограмма смеси фенола (2) и *орто*-крезола (1), ПФ гексан-ИПС (92,5:7,5), расход 100 мкл/мин; колонка (2×80 мм): сорбент Силасорб 600, зернение 7 мкм; размер колонки; 270 нм

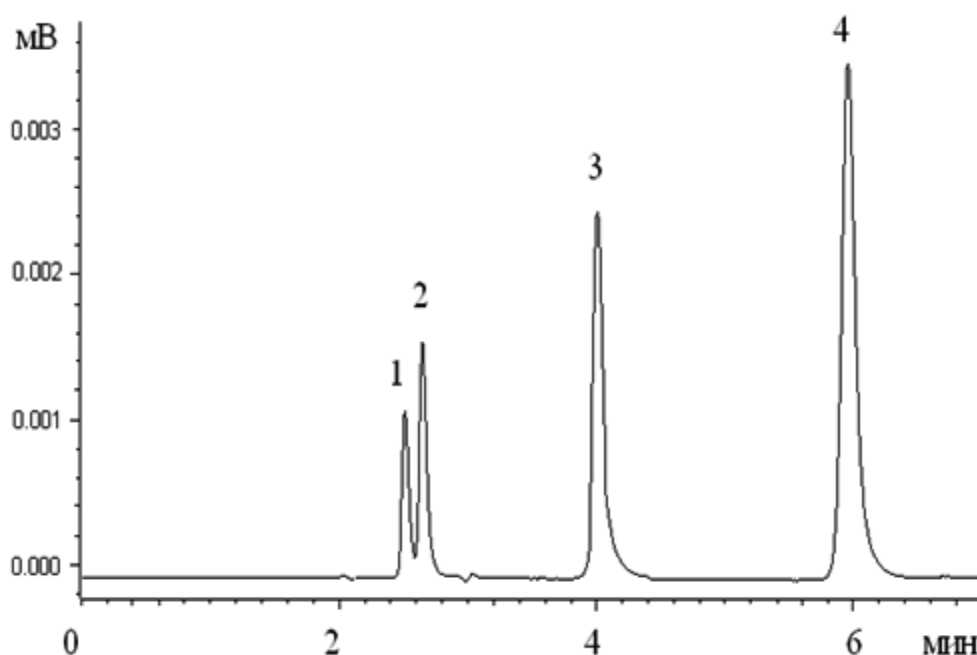


Рис. 2.40. Хроматограмма смеси фенолов, экстрагированных из растительного масла: 1- фенол, 2 – крезолы, 3 – *o*-трет-бутилфенол, 4 – ионол. Nucleosil 100-C18, 4×250 мм; вода – ацетонитрил, 1:4, расход 1 мл/мин, 274 нм

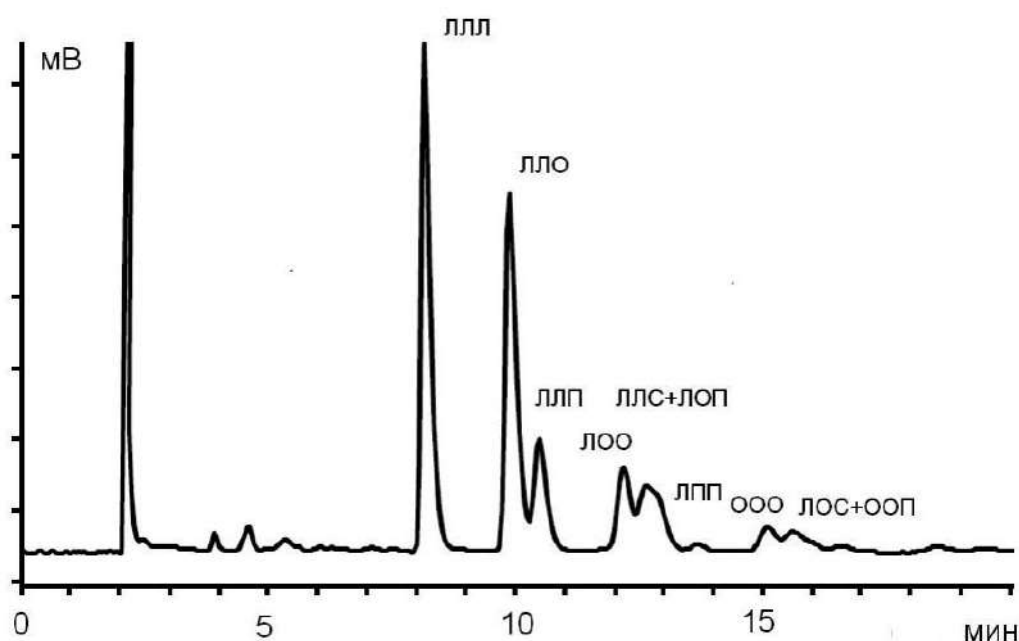


Рис. 2.41. Разделение триглицеридов подсолнечного масла. РМД, колонка Диасфер-110-С18 (250×4,0 мм), 5 мкм, ПФ ацетонитрил – ацетон (90:10), 1 мл/мин: ЛЛЛ, ЛЛО, ЛЛП, ООО, ЛОО, ЛОС, ОПП – триглицериды с остатками кислот (Л – линолевой, О – олеиновой, П – пальмитиновой, С – стеариновой)

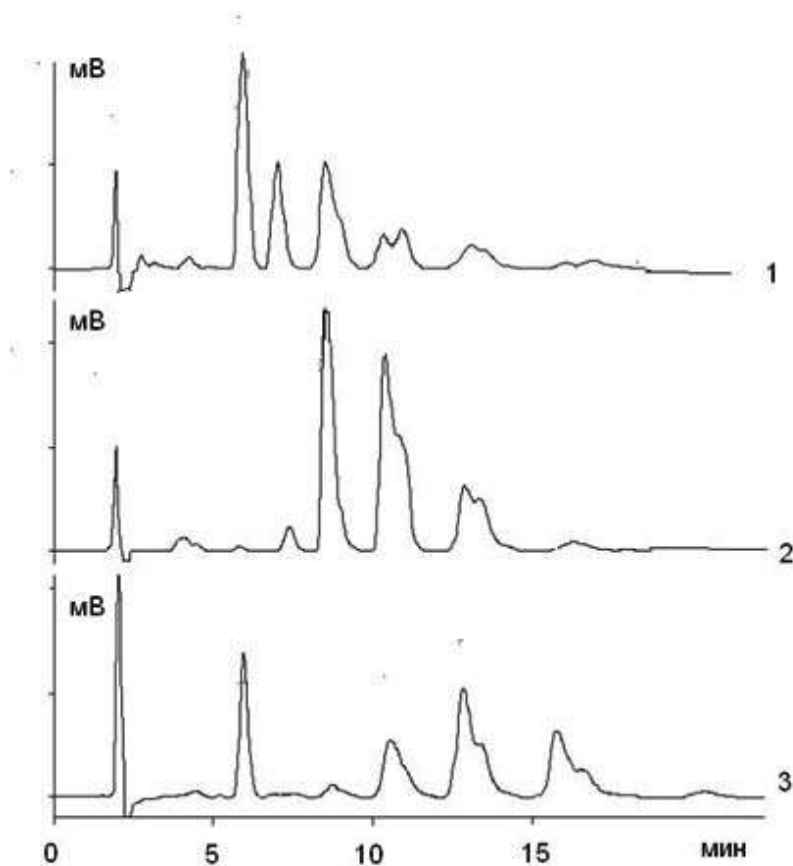


Рис. 2.42. Хроматограммы льняного (1), кукурузного (2) и оливкового (3) масел. Микроколоночной ВЭЖХ. Конц. масел в образцах 10 мг/мл. Диасфер-110-С18 (60×2 мм), CH_3CN – диэтиловый эфир (10:6), 100 мкл/мин, 210 нм

Созданная БД по физическим, химическим и технико-эксплуатационным свойствам 100 индивидуальных растворителей, в которой по 30 параметрам можно количественно оценивать качество индивидуальных или бинарных растворителей, используемых в экстракционных системах, подвижных фазах или аналитических растворах может быть эффективно применена в аналитической практике. При разработке прототипа информационно-аналитической системы *Сольвент-Р* применили результаты как собственных физико-химических и хемометрических исследований, так и справочные данные по величинам элюирующей силы индивидуальных и смешанных растворителей, температуре кипения (вспышки, самовоспламенения), плотности, вязкости, показателю преломления, оптической плотности, коэффициентам поверхностного натяжения и проницаемости, растворимости, токсичности, стоимости и др.

Разработанные производственные правила, регулирующие тренды максимизации или минимизации свойств растворителей в зависимости от их природы и состава, а так же в зависимости от поставленной аналитической задачи могут дополняться и редактироваться. Предложенные выше математические модели, адекватно описывают зависимости физико-химических и технико-эксплуатационных свойств бинарных растворителей от состава. Комплекса частных целевых функций позволяет строить обобщенную целевую функцию суммированием нормализованных частных целевых функций, с учетом коэффициентов веса, трендов минимизации (максимизации) свойств и граничных условий. Современные валидизированные методики, применяемые не в исследовательских целях, а в рутинном анализе БАВ, имеют, как правило, высокое качество экстрагентов, аналитических растворов и подвижных фаз, но есть резервы для их дальнейшего усовершенствования.

Глава 3. Информационно-аналитическая система для идентификации и экспертизы качества жиров и растительных масел

Продукция – фармацевтическая, косметическая и пищевая, содержащая липиды (рис. 3.1), представляет собой особый класс субстанций, которые отличаются высокой гидрофобностью (нерастворимостью в воде) и способностью растворяться в малополярных органических растворителях.



Рис. 3.1. Классификация липидов по химическому составу и структуре

Липидные матрицы – жидкие, мазеобразные или твердые (эмульсии или суспензии) всегда многокомпонентны, состав липидов исключительно сложен и зависит от источника получения, его состояния, методов выделения и многих других факторов, в связи с этим химический анализ липидов и покомпонентная идентификация является чрезвычайно сложной задачей.

Наряду со сложными эфирами жирных кислот к липидам относят стерины, жирорастворимые витамины и другие соединения. В первую очередь это жирные кислоты и их производные. Липиды являются БАВ, они могут входить в состав фармацевтических препаратов как вспомогательные, так и основные действующие вещества. Существует актуальная задача контролировать качество, безопасность и подлинность натуральной и искусственной продукции, содержащей липиды. Дорогие жиры часто фальсифицируют добавками дешевых, при хранении и переработке жиры достаточно легко теряют потребительские свойства: окисляются, прогорают.

Имеется проблема обеспечения аутентичности комбинированных масел и маргаринов. Качество жиров контролируют зачастую по интегральным показателям – различным «числам», набору физических характеристик. Особое место среди методов контроля качества жировой фазы занимают хроматографические методы (табл. 3.1).

Таблица 3.1

Современные хроматографические методы определения
качества жиров

Метод анализа	Определяемые показатели	Гарантия обнаружения добавок	Стоимость анализа
Хромато-масс-спектрометрия	жирнокислотный состав, состав стеринов	менее 5%	очень высокая
Капиллярная ГЖХ ГОСТ Р 51483-99	жирнокислотный состав, состав стеринов	5...20%	средняя
Насадочная ГЖХ ГОСТ Р 51471-99, ГОСТ Р 50206-92	наличие фитостеринов (β -ситостерина), наличие бутилоксианизола и бутилокситолуола	30...50%	средняя

Продолжение табл. 3.1

ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектором	жирнокислотный и триглицеридный состав, жирорастворимые витамины (A,D,E,K), антиоксиданты, красители, фосфолипиды	5...20%	высокая
ВЭЖХ в тандеме с ЯМР	жирнокислотный состав, состав стерина	менее 5 %	очень высокая
Парофазный анализ (хэдспейс-анализ)	летучие компоненты над образцом жира	20...30%	средняя
Пиролитическая ГЖХ	продукты пиролиза жиров	20...30%	средняя
Тонкослойная ЖХ	то же, что и ВЭЖХ, фосфолипиды	20...30%	низкая
Капиллярный электрофорез	водорастворимые витамины, аминокислотный и белковый состав, фосфолипидный состав, свободные карбоновые кислоты, качество воды, неорганические и органические соли	5...20%	средняя

Именно этими методами контролируется большая часть пищевой и фармацевтической продукции в современных лабораториях. Традиционные физико-химические показатели, определяемые простыми, но трудозатратными способами, часто недостаточны для эффективной оценки качества жировой продукции.

3.1. Разработка критериев подлинности многокомпонентной смеси с вариативным составом

Для контроля качества и подлинности жиров предпочтение отдается капиллярной газожидкостной хроматографии (КГЖХ). В мировой практике наблюдается массовый переход лабораторий на КГЖХ, взамен насадочной. Этим способом определяют жирнокислотный состав жиров, стерина и другие летучие компоненты [245]. На рис. 3.2 и 3.3. приведены примеры хроматограмм жирнокислотного состава

молочного коровьего и кокосового жира, полученных методом КГЖХ. Под индексами $C_{X:Y}$ обозначены жирные кислоты, содержащие X атомов С и Y двойных связей. Например, $C_{18:0}$ – стеариновая (октадекановая) кислота.

Под идентификацией, согласно международным стандартам ИСО серии 9000, понимается процедура, позволяющая отличить данный объект от всех остальных. Парадигма современной аналитической химии заключается в том, что для целей практического контроля не требуется исчерпывающего химического анализа данного вещества. Достаточно получить лишь такое разделение на компоненты, которое обеспечило бы точное опознавание данного вещества и позволило обнаружить возможные фальсификации.

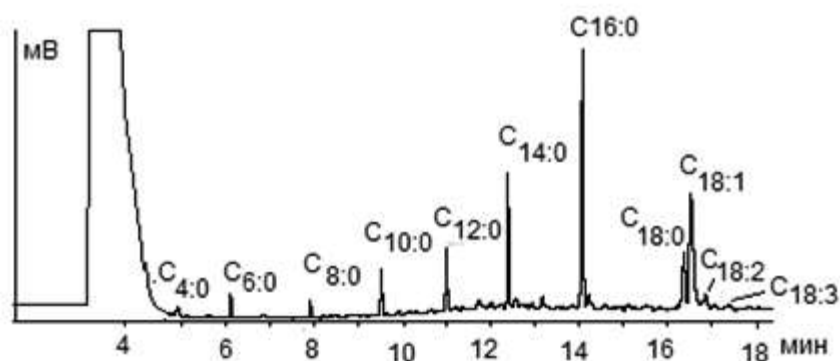


Рис. 3.2. Хроматограмма образца коровьего молочного жира. Условия анализа: детектор – ПИД; колонка Zb-50, 30 м, внутренний диаметр 0.25 мм, толщина слоя неподвижной фазы $df=1$ мкм; программирование температуры колонки – 70 °С (1 мин), нагрев до 250 °С, 20 °С/мин; газ-носитель – N_2 , 50 кПа; объем образца – 1 мкл

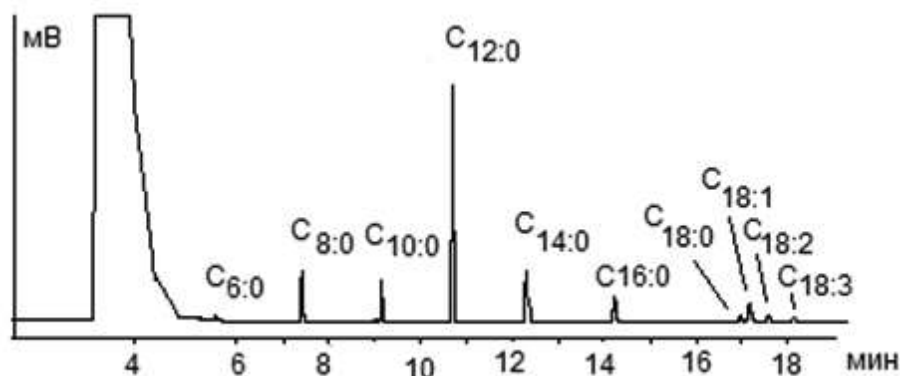


Рис. 3.3. Хроматограмма образца кокосового жира.
Условия см. рис.3.2

В этой главе рассматриваются предложения по усовершенствованию идентификации масложировой продукции и сырья преимущественно по итогам определения методом КГЖХ жирнокислотного состава. Результаты исследований в этом направлении представлены в публикациях [187,245-258]. Наряду с контролем жирнокислотного состава ГЖХ позволяет идентифицировать жиры по результатам парофазного анализа и пиролитической хроматографии [245,257,258]. Для этого метода нами разработаны специфические технические способы, облегчающие проверку подлинности продукции [257,258].

Анализ жирнокислотного состава липидов методом ГЖХ. Пробоподготовка. Липиды из продуктов выделяли экстракционным методом, исключая термическое воздействие на объект [143]. Затем жирные кислоты переводили в летучие метиловые или этиловые сложные эфиры. Получение метиловых эфиров жирных кислот производили метанолизом в щелочной среде. Подготовка к проведению реакции заключалась в следующем. Получают 2н раствор метилата натрия в метаноле, растворяя 10.8 г метилата натрия или 4.6 г металлического натрия в 100 мл абсолютного метанола, и 2н раствор КОН в метаноле, растворяя 11.2 г КОН в 100 мл абсолютного метанола. Затем проводили реакцию этерификации. В стеклянную пробирку вместимостью 5 мл помещали 2-3 капли (около 50 мг) образца жира, добавляли 1 мл гексана, 0.5 мл 2 н метанольного раствора метилата натрия или КОН. Закрывали пробирку пробкой и встряхивали вручную в течение 1 мин, оставляли отстояться для отделения метанольно-глицеринового слоя, верхний гексановый слой использовали для ГЖХ анализа.

Перевод триглицеридов в этиловые эфиры жирных кислот проводили следующим образом. Пробу (2-3 капли) испытуемого жира растворяли в 1.9 мл гексана, вводили в раствор 0.1 мл раствора свежеприготовленного раствора этилата натрия в абсолютном этаноле (2 моль/л). Для отбора образцов твердого жира его разогревали до жидкого состояния и отбирали пипеткой с разогретым носиком. После интенсивного перемешивания в течение 2 мин реакционную смесь отстаивали 5 мин и фильтровали через бумажный фильтр, для анализа отбирали 1 мкл полученной смеси. В качестве эталонного стандарта применяли смесь метиловых эфиров известного состава, а также смеси метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот подсолнечного, льняного и кунжутного масел и молочного жира, состав которых хорошо известен и легко идентифицируется.

Условия ГЖХ. Газохроматографический анализ выполняли на газовых хроматографах «Цвет 800» (Россия) и «Шимадзу-GC14B» (Япония), оснащенных пламенно-ионизационными детекторами. Для хроматографирования применяли кварцевые капиллярные колонки длиной 50 м, внутренний диаметр 0.25 мм (неподвижная фаза FFAP) или 30 м, внутренний диаметр 0.25 мм (50% фенил – 50% диметилполисилоксан, ZB-50). Газ-носитель гелий или азот марки о.с.ч., расход газа-носителя 90 см³/мин, расход водорода 32 см³/мин. Программировали температуру t_1 колонки 70 °С (600 с), $t_2=180$ °С (600 с), скорость нагрева 2 град/мин, $t_3=190$ °С (для ZB-50) или 220 °С (для FFAP), время экспонирования до 3600 с. $t_{исп} = 250$ °С, $t_{пид}=250$ °С.

Количественный анализ жирных кислот проводили методом внутренней нормализации, поправочные коэффициенты, характеризующие чувствительность детектора к конкретному аналиту, не учитывали. Расчет массовой доли i -го компонента в % проводили по формуле: $C=100 \cdot S_i / \Sigma S_i$, где C – массовая доля i -го компонента; S_i – площадь пика i -го компонента; ΣS_i – сумма площадей всех пиков.

Предлагаемые нами подходы к анализу хроматограмм носят универсальный характер, они основаны на выделении наиболее характеристичных пиков, установлении нижнего и верхнего предела содержания контролируемых компонентов (величины пика) или их соотношений в натуральном или качественном продукте. Для свертки хроматографической (или спектральной) информации, ее интерпретации предлагается построение КК.

Введение ГОСТ 30623-98 и ГОСТ Р 52253-2004 позволило проводить испытания масложировой продукции по выявлению подлинности растительных масел, маргаринов и молочного жира, обнаружению фактов фальсификации с использованием метода КГЖХ на законных основаниях. Не умаляя значения и полезности ГОСТ 30623-98, в нем можно отметить наличие некоторых неточностей. Так, в таблице Приложения В этого стандарта "Группа 7. Растительные масла с наибольшей массовой долей линолевой кислоты (26-81%)" в данных по жирнокислотному составу подсолнечного масла, скорее всего, допущена опечатка. Приведенные значения границ интервала массовой доли линолевой кислоты (18.3...74.0%) не согласуются ни с заголовком указанной таблицы, ни с другими данными по жирнокислотному составу подсолнечного масла. Например, в ГОСТ 1129-93 дан интервал для линолевой кислоты 50.0-75.0%. Вторая недоработка ГОСТ 30623-98, на которую обращают внимание практики – жирно-

кислотный состав большей части маргариновой продукции дан не в виде интервалов, а в виде среднеарифметических значений. Очевидно, что если исходное для маргаринов сырье имеет определенный разброс в содержании жирных кислот, частичная гидрогенизация, перэтерификация, комбинирование разных видов жиров и другие технологические процессы не могут кардинально уменьшить или исключить вариативность жирнокислотного состава получаемых маргаринов. Из-за того, что допустимые для КГЖХ расхождения дают более узкий идентификационный диапазон, чем реально наблюдаемые для маргариновой продукции, этот ГОСТ создает определенные проблемы производителям маргаринов, обязанным жестче контролировать жирнокислотный состав и подгонять его под нормативные значения. Предлагаемый в ГОСТ 30623-98 алгоритм обработки результатов испытаний применим только для однородных по происхождению растительных масел и тех видов маргаринов, жирнокислотный состав которых приведен в Приложении В этого стандарта.

Известно, что жирнокислотный состав натуральных жиров колеблется в определенных диапазонах [245]. Эти колебания обусловлены различием в процессах метаболизма, вызванных разными климатическими условиями, сезонными колебаниями климата, сортом растительного или породой животного источника сырья. Натуральные жиры (молочный жир, кедровое масло, облепиховое масло, масло какао) часто фальсифицируются эрзацами из более дешевого сырья, в фальсифицированном продукте находятся зачастую те же компоненты, что и в натуральном, но изменяется их соотношение, либо появляются компоненты, не присущие декларируемому продукту.

В [245] рассмотрены принципы обнаружения многокомпонентной фальсифицирующей добавки переменного состава в многокомпонентном продукте с переменным составом этих же компонентов.

Главное, для целей идентификации не обязательно проводить исчерпывающий анализ и идентификацию всех компонентов (из-за увеличения стоимости и продолжительности экспертизы). При наличии многокомпонентной хроматограммы (10-50 пиков) достаточно точную оценку можно проводить по нескольким характеристичным пикам веществ (5-8), для которых нормированы диапазоны колебания содержания компонентов, обусловленные происхождением жира. Если хотя бы один из контролируемых компонентов выходит за границы допустимого диапазона с учетом погрешности определения, это указывает на неаутентичность декларируемого жира.

Допустим, в качественный молочный жир вносится добавка эрзаца. КГЖХ уверенно обнаруживает разницу 0.1%, с учетом поправки на смешивание это соответствует добавке 0.5 – 20.0% эрзаца в натуральном жире.

Есть 15 вариантов взаимного расположения диапазонов содержания i -го компонента в двух смешиваемых жирах: 1) компонент отсутствует в эрзаце; 2) компонент отсутствует в стандартном продукте; 3) диапазоны в стандартном продукте и эрзаце частично перекрываются, содержание компонента в стандарте больше или равно его содержанию в эрзаце; 4) диапазоны в стандартном продукте и эрзаце частично перекрываются, доля компонента в стандарте меньше или равна его содержанию в эрзаце; 5) диапазоны в стандарте и эрзаце имеют общую границу раздела, доля компонента в стандарте больше или равна доле в эрзаце; 6) диапазоны в стандарте и эрзаце имеют общую границу раздела, доля компонента в стандарте меньше или равна доле в эрзаце; 7) доля компонента в стандарте выше, чем в эрзаце, а диапазоны его содержания изолированы; 8) доля компонента в стандарте ниже, чем в эрзаце, а диапазоны его содержания изолированы; 9) диапазон содержания компонента в стандарте находится внутри более широкого диапазона содержания компонента в эрзаце; 10) диапазон содержания компонента в эрзаце находится внутри диапазона содержания компонента в стандарте, последний шире, чем в эрзаце; 11) диапазон содержания компонента в стандарте находится внутри диапазона содержания компонента в эрзаце, при этом совпадает верхний предел содержания; 12) диапазон содержания компонента в стандарте находится внутри диапазона содержания компонента в эрзаце, совпадает нижний предел содержания; 13) диапазон содержания компонента в эрзаце находится внутри диапазона содержания компонента в стандарте, совпадает верхний предел содержания; 14) диапазон содержания компонента в эрзаце находится внутри диапазона содержания компонента в стандарте, совпадает нижний предел содержания; 15) диапазоны полностью совпадают.

В зависимости от соотношения количества компонентов в исходных жирах эрзац обнаруживается либо сразу при небольших добавках, либо наоборот, когда заменитель преобладает в смеси. Например, диапазон для молочного жира находится ниже диапазона эрзаца. В этом случае при количестве i -той жирной кислоты в молочном жире, близком к своему верхнему пределу, добавку обнаружить легко, а при низком исходном содержании, наоборот, предел обнару-

жения смещается в сторону более высоких концентраций эрзаца. Если характеристичные диапазоны поменять местами, то труднее обнаружить фальсификацию молочного жира богатого и легче – обедненного искомым компонентом. Однако при таком раскладе составов возможны случаи, когда обнаружить фальсификацию нельзя.

Для идентификации перспективны варианты 7 и 8, когда диапазоны содержания компонентов в стандартном жире и добавке полностью изолированы. Добавка гарантированно обнаруживается сразу после того, как концентрация компонента станет выше или ниже границы допустимого диапазона. Предел обнаружения зависит от степени удаленности диапазонов друг от друга, их ширины, доли компонентов в конкретных смешиваемых жирах. Если рассматриваемые диапазоны совмещены, но колебания содержания компонента в добавке шире, чем в стандартном продукте (варианты 9, 11, 12), возможны как благоприятные, так и неблагоприятные шансы обнаружения добавки, но отсутствуют гарантированные пределы обнаружения эрзаца. Расчеты показывают, что при смешении молочного жира с другими жирами, в большинстве случаев можно обнаружить наличие эрзаца при его массовой доле 45-75% и редко при доле ниже 10%. Если диапазон, характерный для эрзаца (варианты 10, 13, 14 и 15), находится внутри «разрешенного» диапазона массовой доли компонента в натуральном жире, обнаружить фальсификацию измерением содержания данного компонента нельзя. Нельзя обнаружить фальсификацию, если в эрзаце нет определяемого компонента.

Таким образом, предел обнаружения фальсифицирующей добавки обусловлен не столько чувствительностью детектирования в методе КГЖХ, сколько непостоянством состава жиров. Пределы обнаружения лабильны (от долей процента до полного отсутствия), сильно зависят от партии жира, сорта и партии фальсифицирующей добавки. Необходим контроль над содержанием нескольких кислот, чтобы повысить вероятность обнаружения добавки. Иначе говоря, только при совокупном использовании данные о составе жирных кислот пригодны для идентификации жира.

Области массовых долей эрзаца, в которых он может быть обнаружен, можно рассчитать априори, зная его состав и нормативы, с помощью правила смешения (правило креста) $m_2/m_1 = (c - c_1)/(c_2 - c)$, где m_1 и m_2 – массы стандарта и эрзаца; c_1 и c_2 – содержание в них соответствующей жирной кислоты. Разницы концентраций кислот всегда

должны быть положительными. Используя правило креста, можно получить состав комбинированного жира, воспроизводящий натуральный диапазон основных жирных кислот, однако искусственно воспроизвести весь спектр жирнокислотного состава и характерный триглицеридный состав практически невозможно, что всегда оставляет шанс выявить натуральность или подлинность жира.

Таблица 3.2

Экспериментальные массовые доли жирных кислот в искусственных смесях молочный жир – пальмовое масло. Знаком «+» отмечены значения, входящие в идентификационную зону для молочного жира, знаком «-» – не входящие с учетом погрешности определения

Жирные кислоты	Массовая доля пальмового масла, %						
	100	50	25	10	5	2	0
C _{10:0}	0 (-)	1.35 (-)	2.00 (-)	2.94 (+)	3.17 (+)	3.31 (+)	3.45 (+)
C _{12:0}	0 (-)	1.14 (-)	2.0 (+)	2.83 (+)	3.37 (+)	3.61 (+)	3.89 (+)
C _{14:0}	1.27 (-)	5.93 (-)	9.30 (+)	10.88 (+)	12.17 (+)	12.61 (+)	12.72 (+)
C _{16:0}	49.59 (-)	41.97 (-)	39.20 (-)	36.10 (-)	33.89 (+)	33.64 (+)	33.55 (+)
C _{18:0}	6.42 (-)	7.24 (-)	8.60 (-)	9.95 (+)	9.50 (+)	10.07 (+)	10.20 (+)
C _{18:1}	34.38 (-)	32.12 (+)	29.00(+)	26.45 (+)	24.36 (+)	23.80 (+)	23.70 (+)
C _{18:2}	8.23 (-)	6.05 (-)	4.20(+)	2.88 (+)	2.70 (+)	2.65 (+)	2.55 (+)
C _{18:3}	0.12 (+)	0.31(+)	0.41(+)	0.45 (+)	0.48 (+)	0.52 (+)	0.51 (+)
C _{16:0} /C _{12:0}	∞ (-)	36.8 (-)	17.8 (-)	12.8 (+)	10.1(+)	9.3(+)	8.7(+)
C _{18:0} /C _{12:0}	∞ (-)	6.4 (-)	3.9(+)	3.5(+)	2.8(+)	2.8(+)	2.6(+)
C _{18:1} /C _{14:0}	27.0 (-)	5.4 (-)	3.1(+)	2.4(+)	2.0(+)	1.8(+)	1.9(+)
C _{18:2} /C _{14:0}	6.4 (-)	1.0 (-)	0.45(+)	0.26(+)	0.22(+)	0.21(+)	0.20(+)
Σ(C _{18:1} , C _{18:2})/ /Σ(C _{12:0} , C _{14:0} , C _{16:0} , C _{18:0})	0.73(-)	0.68 (+)	0.56(+)	0.49(+)	0.45(+)	0.44(+)	0.43(+)
C _{12:0} /C _{10:0}	- (-)	0.84 (-)	1.1(+)	0.96(-)	1.06(+)	1.09(+)	1.13(+)
C _{14:0} /C _{12:0}	0 (-)	5.2(-)	4.2(-)	3.8(+)	3.6(+)	3.5(+)	3.3(+)

В качестве критериев подлинности жира нами предложено содержание в жире 6-9 высших жирных кислот, выраженное в массовых процентах относительно суммарного содержания кислот, в первую очередь, это миристиновая ($C_{14:0}$), пальмитиновая ($C_{16:0}$), стеариновая ($C_{18:0}$), олеиновая ($C_{18:1}$), линолевая ($C_{18:2}$) и линоленовая кислоты ($C_{18:3}$). Контролируя состав 6-9 жирных кислот, можно уверенно выявлять грубые фальсификации, например, молочного жира, содержащие 25-80% эрзаца из немолочных жиров. Для контроля более тонких фальсификаций следует увеличить количество контролируемых кислот. По ГОСТ Р 52253-2004 рекомендуется дополнительно контролировать соотношения пальмитиновой кислоты к лауриновой, стеариновой к лауриновой, олеиновой к миристиновой, линолевой к миристиновой, а также суммы олеиновой и линолевой к сумме лауриновой, миристиновой, пальмитиновой и стеариновой (табл. 3.4).

Таблица 3.3

Жирнокислотный состав животных жиров, комбинированных жиров и маргаринов, масс. %

Жир	$C_{14:0}$	$C_{16:0}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{18:3}$
Масло сливочное с 25% комбинированного жира	9.4 (+)	24.7(+)	9.0 (+)	25.5(+)	23.0(-)	0.5 (+)
Маргарин «Долина Сканди»	0.5 (-)	19.8(+)	5.6 (-)	58.9 (-)	12.7(-)	2.0 (+)
Жир «Экзотика»	1.4 (-)	49.9 (-)	3.8 (-)	35.4 (-)	8.3 (-)	0 (+)
Жир «Denoise»	8.5 (+)	20.5(+)	9.8 (+)	14.0 (-)	1.2 (-)	0 (+)
Маргарин сливочный (Воронеж)	0.6 (-)	9.3 (-)	5.5 (-)	54.3 (-)	24.7(-)	0.4 (+)
Маргарин сливочный (Белоруссия)	0.4 (-)	15.1 (-)	3.5 (-)	62.9 (-)	14.9(-)	0 (+)
Маргарин «Рама»	2.4 (-)	9.5 (-)	16.5(-)	42.2 (-)	15.3(-)	5.2 (-)

На практике чаще всего реализуются варианты 7 и 8. По содержанию указанных выше кислот животные жиры в целом сложнее отличить от молочного, чем растительные. Понижена вероятность идентификации по этим кислотам подделки молочного жира жирами

рыб и морских животных, а также кокосовым, пальмоядровым и пальмовым маслами. Эти жиры и комбинированные растительные жиры часто используются недобросовестными производителями для фальсификации молочного жира и шоколада.

В табл. 3.2 приведены для иллюстрации результаты анализа искусственных смесей молочного жира и удобного для фальсификации пальмового масла. Подделка обнаружена на уровне 10% эрзаца. По ГОСТ Р 52100-2003 такое масло следует отнести к сливочно-растительным спредам. В табл. 3.3 приведены данные маргаринов и комбинированных жиров.

Действительно, установлено в [245], что для натуральных жиров характерны корреляции между соотношениями некоторых кислот, которые нарушаются при внесении других жиров, или при фракционировании жиров.

Таблица. 3.4

Допустимые соотношения жирных кислот в натуральном молочном жире по ГОСТ Р 52253-2004

Соотношения жирных кислот	Границы соотношения массовых долей жирных кислот в молочном жире
Пальмитиновой ($C_{16:0}$) к лауриновой ($C_{12:0}$)	от 5.8 до 14.5
Стеариновой ($C_{18:0}$) к лауриновой ($C_{12:0}$)	от 1.9 до 5.9
Олеиновой ($C_{18:1}$) к миристиновой ($C_{14:0}$)	от 1.6 до 3.6
Линолевой ($C_{18:2}$) к миристиновой ($C_{14:0}$)	от 0.2 до 0.5
$\frac{\Sigma(C_{18:1}, C_{18:2})}{\Sigma(C_{12:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:0})}$	от 0.4 до 0.7

3.2. Визуализация хроматографических данных с помощью контрольных карт

Рассмотрим, как применение контрольных карт (КК) повышает эффективность работы аналитика в идентификации многокомпонентной продукции по результатам хроматографического анализа и по итогам определения интегральных (обобщенных) показателей, графические способы интерпретации результатов анализа на примере нормируемых показателей молочного жира.

3.2.1. Применение диаграмм с областями в создании контрольных карт

Разновидность диаграмм с областями, на которых на оси ординат (Y) откладываются значения определяемого критерия, например, массовая доля компонентов, а ось абсцисс (X) является осью категорий, удобно строить в электронных таблицах Microsoft Excel. На такой диаграмме по оси абсцисс отмечаются идентификационные категории, например, индексы контролируемых жирных кислот в порядке возрастания индекса, или названия интегральных показателей. Точки экстремально допустимых значений критериев соединяются линиями, выделяющими границы максимальных и минимальных значений критериев, образуя идентификационную зону анализируемого жира, коридор или дорожку допустимых значений. Оператор вводит в рабочую книгу Microsoft Excel данные, которые сразу отражаются на бланке диаграммы (КК).

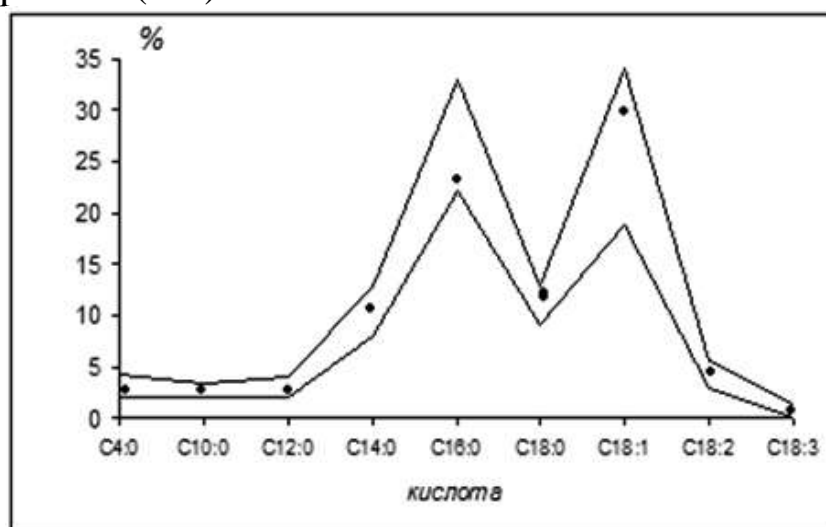


Рис. 3.4. Идентификационная зона натурального молочного жира по нормированным ГОСТ Р 52253-2004 диапазонам содержания 9 жирных кислот $C_{4:0}$ - $C_{18:3}$, в которую внесены данные анализа.

На рис. 3.4. приведена КК с идентификационной зоной молочного жира, внутри которой находятся экспериментальные данные по содержанию 9 жирных кислот. Если хотя бы одна экспериментальная точка не попадает в идентификационную зону с учетом погрешности анализа, следует вывод о фальсификации продукта. При необходимости идентификационную зону на такой КК можно дополнить другими

показателями (содержание других кислот, физические и химические интегральные показатели, выраженные в различных числах) (рис. 3.5 и 3.6.).

Количественная обработка хроматограмм специализированными программами (например, ЦветХром v.1.1.20) и передача данных в табличный процессор Microsoft Excel для их последующей визуализации на диаграмме с областями – процедура, легко поддающаяся автоматизации, возможно использование диаграмм на бумажном носителе.

Разная размерность и размах величин критериев подлинности может затруднять получение наглядных и удобных для интерпретации КК. Эти неудобства устраняются введением поправочных коэффициентов к контролируемым значениям. Значения всех контролируемых показателей можно также нормализовать и перевести в безразмерные величины, например, от 0 до 100. При расчете нормализованных параметров P_N применима формула (3.1):

$$P_N = 100(P_i - P_{\min}) / (P_{\max} - P_{\min}), \quad (3.1)$$

где P_i – величина ненормализованного параметра, P_{\min} – минимальное; P_{\max} – максимальное допустимое значение этого параметра.

В результате нормализации идентификационная зона на КК примет вид прямоугольного коридора допустимых значений, с двух сторон ограниченного планками погрешности определения показателей (рис. 3.7).

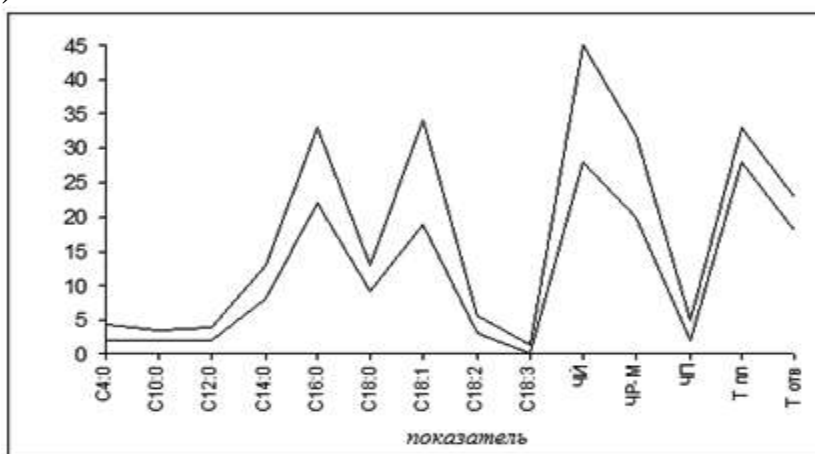


Рис. 3.5. Контрольная карта натурального молочного жира по стандартизованным диапазонам содержания 9 жирных кислот $C_{4:0}$ – $C_{18:3}$, йодного числа, числа Рейхерта-Мейссля, перексидного числа, температур плавления и отверждения. Ось ординат – численные значения контролируемых показателей

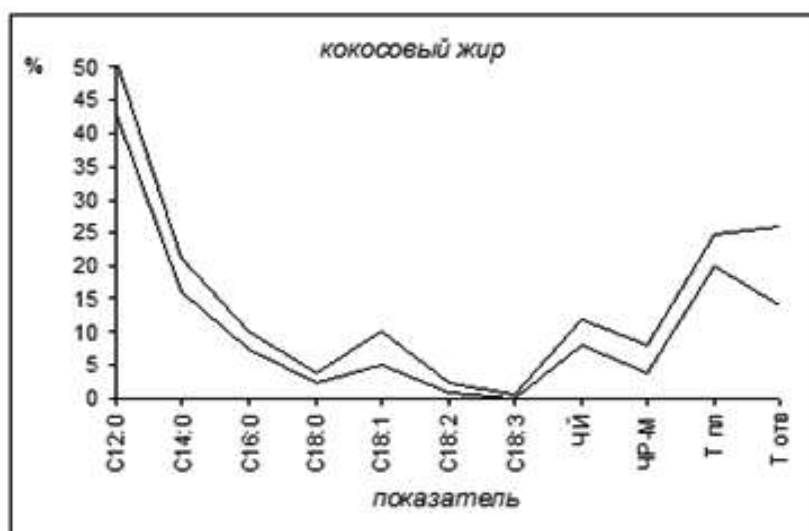


Рис. 3.6. Контрольная карта кокосового жира по диапазонам содержания 7 жирных кислот $C_{12:0}$ - $C_{18:3}$, йодного числа, числа Рейхерта-Мейссля, пероксидного числа, температур плавления и отверждения.

Окончательные результаты анализа вносятся оператором в рабочую книгу MS Excel, где по заранее заданному макросу автоматически визуализируются данные. Если хотя бы один параметр выпадает из идентификационной зоны, продукт можно отбраковать. Если величина параметра попадает «на обочину» допустимого коридора значений, в область погрешности определений, ее можно формально признать приемлемой. Например, на диаграмме (рис. 3.7) значения пальмитиновой кислоты ($C_{16:0}$) находятся на верхней допустимой границе, а содержание линоленовой кислоты – на нижней. Это указывает на возможность добавки в данный образец молочного жира кокосового или пальмоядрового жира и данную партию следует дополнительно проверить.

Такие КК, не смотря на определенные преимущества для количественных оценок, теряют визуальную индивидуальность, в то время как КК по ненормализованным параметрам имеют индивидуальный профиль идентификационной зоны. Они более удобны для качественной экспертизы. Накладывая результаты анализа на стандартные КК, эксперт легко может установить подлинность жира, а в отдельных случаях выявить природу фальсифицируемой добавки. Например, на рис. 3.8 представлена КК оливкового масла с результатами анализа фальсификата (оливковое масло с добавкой 25% подсолнечного). Видно, что 3 показателя близки к границе минимально допустимых значений, а по линолевой кислоте показатель вышел за пределы максимально допустимого. Представленные многокритери-

альные КК значительно повышают оперативность и надежность идентификации. При таком контроле достоверность идентификации лимитируется разумным числом контролируемых критериев и надежностью установленных для них диапазонов варьирования.

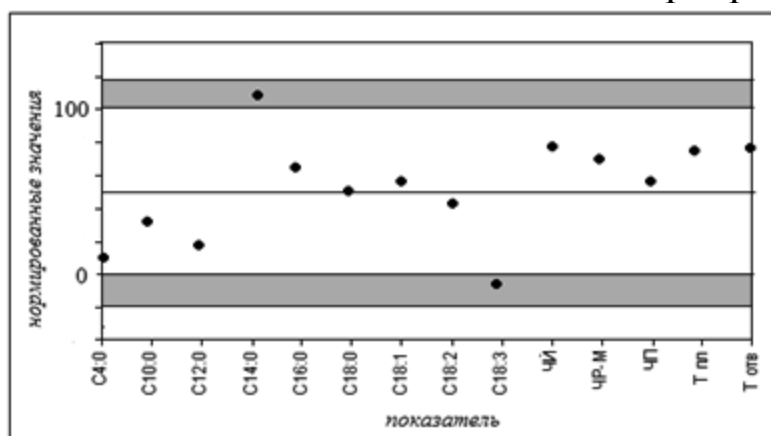


Рис. 3.7. Контрольная карта натурального молочного жира по стандартизованным диапазонам содержания 9 жирных кислот $C_{4:0}$ - $C_{18:3}$, йодного числа, числа Рейхерта-Мейссля, пероксидного числа, температур плавления и отверждения с нанесенными на нее результатами анализа образца молочного жира. Ось ординат – нормализованные от 0 до 100 значения контролируемых показателей.

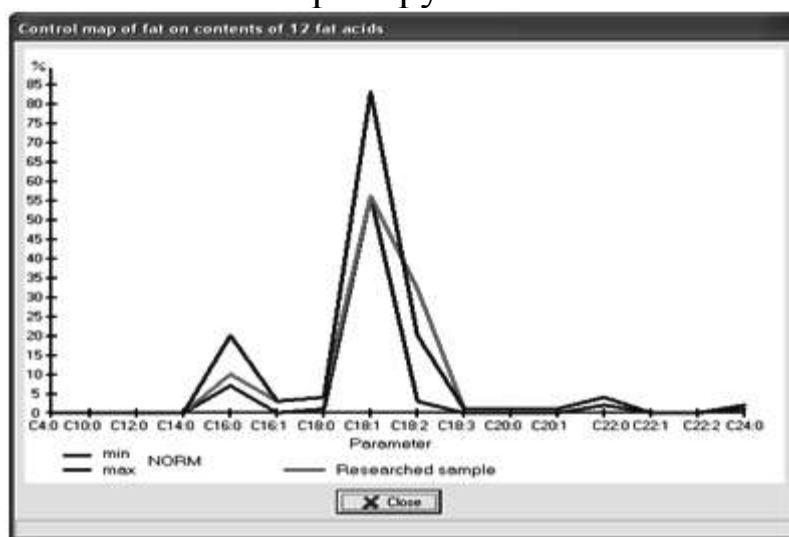


Рис. 3.8. Контрольная карта оливкового масла по диапазонам содержания 9 жирных кислот $C_{4:0}$ - $C_{24:0}$, на которую нанесены данные фальсификата с добавкой к оливковому маслу 25% подсолнечного масла

3.2.2. Лепестковые диаграммы в качестве контрольных карт

Имеется еще один простой способ экспертизы, реализованный в Microsoft Excel, в котором для визуализации данных применяются ле-

пестковые диаграммы (ЛД), на радиальных осях которых регистрируются нормализованные значения массовой доли нескольких жирных кислот.

Рассмотрим алгоритм построения ЛД и их анализа на примере говяжьего жира [248]. Нормируем состав кислот. Максимальному содержанию каждой кислоты присвоим нормированное значение 1, минимальному – 0.

Таблица 3.5

Содержание жирных кислот в партиях говяжьего жира, %

Жирная кислота	Мирис-тиновая $C_{14:0}$	Пальми-тиновая $C_{16:0}$	Пальми-толеиновая $C_{16:1}$	Стеари-новая $C_{18:0}$	Олеи-новая $C_{18:1}$	Лино-левая $C_{18:2}$	Лино-левая $C_{18:3}$
Максимальная норма	8.0	33.0	2.7	30.0	50.0	5.0	0.5
Минимальная норма	2.0	24.0	0	14.0	28.0	0	0
Проверяемая партия	2.,2	30.3	0	3.5	53.5	7.1	0
Нормализованные показатели, P_N							
Максимальная норма	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Минимальная норма	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Подозрительная партия	0.03	0.70	0.0	-0.66	1.16	0.14	0.0

В рабочей книге Microsoft Excel создается таблица (табл. 3.5), в которую вносятся экспериментальные данные по проверяемой партии. Параметры проверяемого жира с помощью заданного макроса автоматически нормализуются и выводятся в виде ЛД (рис. 3.9). Если данные по кислотам находятся в ЛД в коридоре между 1 и 0, проверяемая партия соответствует говяжьему жиру, если выходят из этого диапазона – не соответствует. Взятая в качестве примера партия жира

(табл. 3.5) по 2 показателям из 7 не проходит по нормативам: содержание олеиновой кислоты выше максимального норматива, а стеариновой – ниже, что наглядно видно из диаграммы (рис. 3.9). Проверим, позволяет ли предложенный способ отличить говяжий жир от других жиров.

Таблица 3.6

Содержание основных жирных кислот в типичных партиях куриного, норкового и свиного жира, %

Вид жира	Миристиновая C14:0	Пальмитиновая C16:0	Пальмитолеиновая C16:1	Стеариновая C18:0	Олеиновая C18:1	Линолевая C18:2	Линоленовая C18:3
Куриный	0.3	21.1	5.5	4.3	39.1	29.0	0.7
Норковый	3.4	18.1	11.7	4.3	49.1	9.6	1.9
Свиной	1.4	27.6	2.0	12.3	43.9	11.3	0.2

В табл. 3.6 приведены данные для куриного, норкового и свиного жиров, а на рис. 3.10-3.12 эти данные вписаны в КК говяжьего жира. Куриный жир попадает в контрольный диапазон для говяжьего жира только по 2 показателям – содержанию олеиновой и линолевой кислоты. В нем в 2 раза завышено содержание пальмитолеиновой кислоты, существенно ниже нормы содержание стеариновой кислоты.

Рис. 3.11 демонстрирует отличие норкового жира от говяжьего по 4 показателям, сильные отличия выявлены по содержанию пальмитолеиновой и линоленовой кислот. Как видно из рис. 3.12, свиной жир по 2 показателям (по содержанию миристиновой и стеариновой кислот) также не вписывается в КК говяжьего жира.

Таким образом, отрицательные значения $P_N < 0$ указывают насколько показатель ниже норматива, а значения $P_N > 1$ говорят о том, насколько он больше допустимого. Если показатели вышли из коридора, но с учетом погрешности метода ГЖХ (3-5%) близки к 0 или 1, они соответствуют норме. Следует помнить, что если показатель существенно отличается от норматива, ЛД автоматически масштабируется. Для построения ЛД можно использовать произвольное количество показателей, в том числе и разные обобщенные показатели (йодное, омыления,

анизидиновое, цветное и т.п.). Профиль ЛД контролируемого образца может нести качественную информацию о природе жира, которым фальсифицирован образец. Рассмотрим применение КК в виде ЛД в экспертизе качества молочной продукции по данным ионной хроматографии на содержание аминокислот в молочном белке [259].

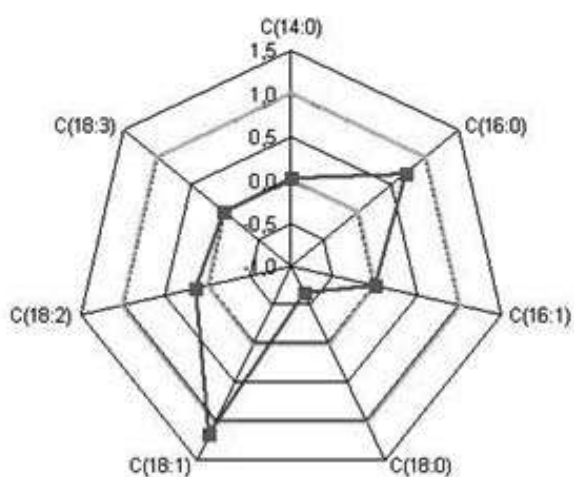


Рис. 3.9. Лепестковая диаграмма для идентификации говяжьего жира с данными по фальсифицированной партии говяжьего жира

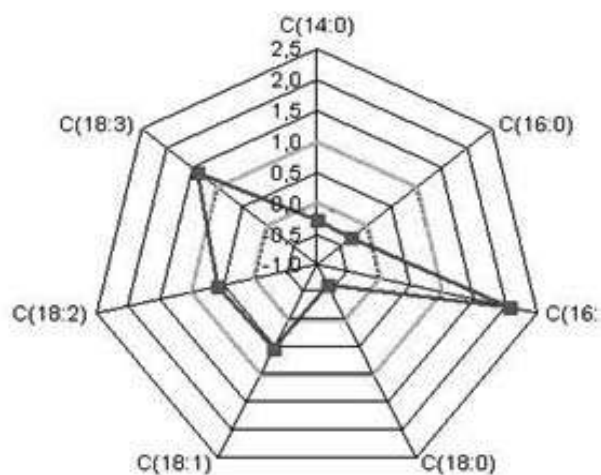


Рис. 3.10. Лепестковая диаграмма для идентификации говяжьего жира с данными по куриному жиру

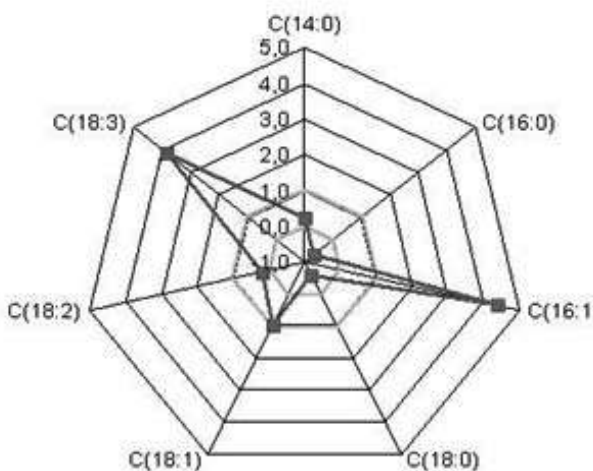


Рис. 3.11. Лепестковая диаграмма для идентификации говяжьего жира с данными по норковому жиру

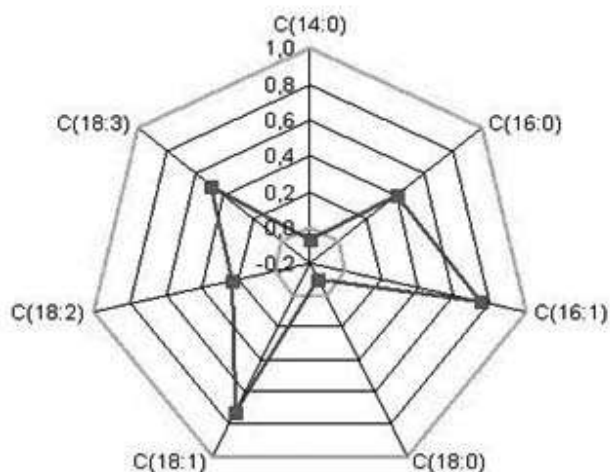


Рис. 3.12. Лепестковая диаграмма для идентификации говяжьего жира с данными по партии свиного жира

Таблица 3.7

Количество АК в белке различных образцов молока, мг%.

Аминокислота	Индекс	Максимальная норма	Минимальная норма	Цельное сырое	Пастеризованное	Восстановленное
Аспарагиновая кислота	асп	30	15	22.9	22.3	18.9
Треонин	тре	16	11	15.2	12.2	6.5
Серин	сер	14	11	15.4	14.7	13.4
Глутаминовая кислота	глу	71	33	58.7	57.8	48.5
Пролин	про	30	25	28.1	27.3	26.7
Глицин	гли	8	1	5.5	5.3	5.1
Аланин	ала	15	7	9.4	8.9	8.1
Валин	вал	20	13	16.2	16.0	15.2
Метионин	мет	9	6	7.2	6.4	6.2
Изолейцин	иле	22	10	12.7	12.2	11.9
Лейцин	лей	41	20	27.2	26.5	24.2
Тирозин	тир	17	11	12.1	12.0	11.0
Фенилаланин	фал	18	10	13.0	12.8	12.2
Гистидин	гис	12	7	8.1	8.0	7.0
Лизин	лиз	25	21	23.2	23.1	22.8
Аргинин	арг	19	9	10.4	10.1	10.0
Цистин	цис	5	1	2.8	1.7	1.3

При известном дефиците сырого цельного молока, особенно в зимний период, недобросовестные производители молочной продукции заменяют его восстановленным, что приводит к ухудшению питательной ценности продукции за счет частичной потери незаменимых аминокислот, витаминов, полиненасыщенных жирных кислот, фосфолипидов. Нами было выполнено определение аминокислот (АК), связанных в молочном белке, образцов сырого цельного, пастеризованного и восстановленного молока методом ионной хроматографии с постколоночной дериватизацией нингидрином на аминокислотном анализаторе «INGOS AAA-400» (Чехия).

Для проведения сравнительного анализа полученных результатов (табл. 3.7) используем алгоритм построения ЛД, описанный выше, и проанализируем итоги анализа образцов сырого цельного, пастеризованного и восстановленного молока. Максимальному содержанию каждой АК присвоим нормированное значение 100, минимальному – 0. В рабочей книге MS Excel в таблицу данных (табл. 3.8), внесем экспериментальные точки по проверяемой партии в нормализованном виде (табл. 3.9), получим ЛД (рис. 3.13). Если данные по отдельным АК находятся в ЛД в коридоре между 100 и 0 (максимальной и минимальной нормой), партия соответствует сырому цельному молоку, если выходят из диапазона – не соответствует. В качестве нормы взяли показатели из [260]. Видно, что по 1 показателю (по содержанию серина) в ЛД сырого цельного молока не вписываются взятые образцы сырого цельного и пастеризованного молока, содержание серина в них выше нормы.

Таблица 3.8

Значения нормализованных показателей P_N по количеству аминокислот в 3 образцах молока, внесенных в КК

Аминокислота	Цельное сырое	Пастеризованное	Восстановленное
Аспарагиновая кислота	52.7	48.7	26.0
Треонин	84.0	24.0	-90.0
Серин	146.7	123.3	80.0
Глутаминовая кислота	67.6	65.3	40.8
Пролин	62.0	46.0	34.0
Глицин	64.3	61.4	58.6
Аланин	30.0	23.8	13.8
Валин	45.7	42.9	31.4
Метионин	40.0	13.3	6.7
Изолейцин	22.5	18.3	15.8
Лейцин	34.3	31.0	20.0
Тирозин	18.3	16.7	0.0
Фенилаланин	37.5	35.0	27.5
Гистидин	22.0	20.0	0.0
Лизин	55.0	52.5	45.0
Аргинин	14.0	11.0	10.0
Цистин	45.0	17.5	7.5

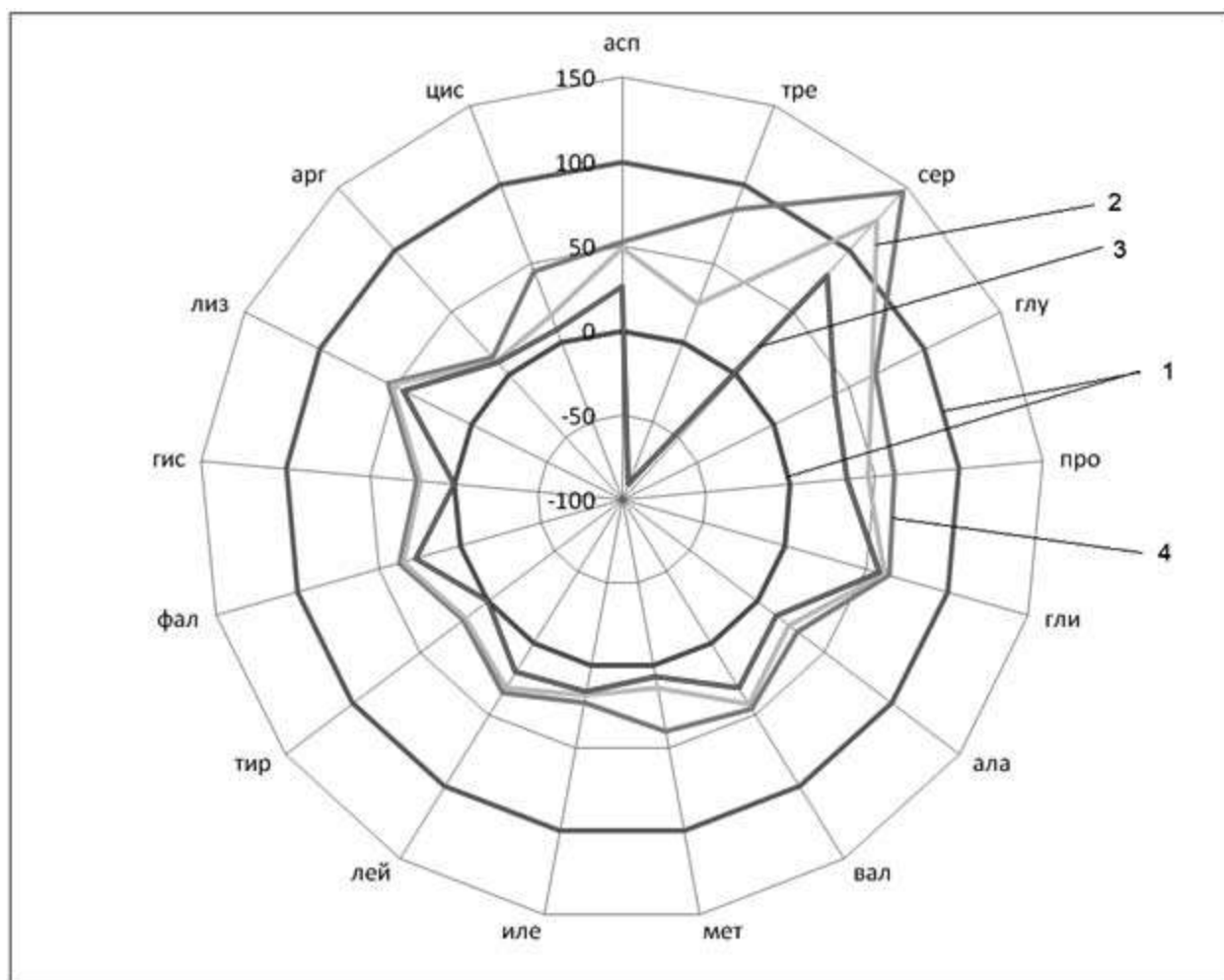


Рис. 3.13. ЛД для проверки подлинности сырого цельного молока с экспериментальными данными по аминокислотному составу партии сырого цельного (4), пастеризованного (2) и восстановленного молока (3), 1 – коридор допустимых значений

В отличие от жирнокислотного состава в молочном жире, аминокислотный состав молочного белка не регламентируется ГОСТ, нормируемые данные, полученные 40 лет назад, требуют сверки на современном оборудовании. С увеличением термической обработки наблюдается четкое уменьшение в молоке содержания всех АК, особенно треонина; падает к нижней границе нормы содержание гистидина и тирозина, так как в процессе термической денатурации белка часть АК переходит в свободное состояние и реагирует с углеводами молока, что и регистрируется хроматографом. В связи с тем, что химический состав сырого цельного молока зависит от целого ряда факторов, таких как время года, климат, порода коров, состав и качество кормов и др., целесообразным является проведение исследований по установлению достоверных диапазонов варьирования АК в белках

натурального молока и включение полученных данных в нормативную документацию. По содержанию АК так же, как и по жирнокислотному составу можно проводить проверку подлинности цельного молока.

Рассматриваемый способ обобщения и визуализации информации для целей идентификации многокомпонентной продукции представляется удобным, наглядным, не требует специального ПО и обучения работе на нем, так как он реализован в оболочке типового пакета офисных программ. Для построения ЛД можно использовать произвольное количество показателей, в том числе и разные обобщенные показатели.

3.2.3. Программа «Система идентификации жиров»

В среде Borland Delphi 7.0 разработана программа для экспертизы качества и идентификации растительных, животных и комбинированных жиров по ГОСТ 30623-98 и Р 52253-2004. Ее блок-схема приведена на рис. 3.14. Результаты анализа вносятся оператором в компьютер, программы по заданному алгоритму автоматически визуализируют данные. Она содержит пополняемую и редактируемую БД, в которую включены нормируемые диапазоны содержания наиболее распространенных 16 насыщенных и ненасыщенных жирных кислот: масляной ($C_{4:0}$), капроновой ($C_{10:0}$), лауриновой ($C_{12:0}$), миристиновой ($C_{14:0}$), пальмитиновой ($C_{16:0}$), стеариновой ($C_{18:0}$), олеиновой ($C_{18:1}$), линолевой ($C_{18:2}$), линоленовой ($C_{18:3}$), эруковой ($C_{22:1}$) и других кислот $C_{16:1}$, $C_{20:01}$, $C_{22:2}$, $C_{22:0}$ и $C_{24:0}$, а также $t_{\text{плав}}$ и $t_{\text{отверд}}$, n_D . Программа строит КК как с ненормализованными, так и с нормализованными показателями.

При запуске программы, в открывшемся окне «Построение контрольной карты» оператор выбирает с помощью стрелок образец масла и заполняет столбец под заголовком «образец» экспериментальными данными, затем активирует кнопку «расчет». В соседнем столбце рядом с показателем высветится результат расчета — «Да» на голубом или синем фоне, или «Нет» на красном фоне. «Да» на синем фоне указывает на то, что показатель находится в коридоре допустимых значений, «Да» на темно-синем фоне указывает на то, что показатель находится на границе допустимого диапазона, с учетом погрешности определения. «Нет» указывает на то, что по данному показателю исследуемый образец жира не соответствует нормативу, что дает осно-

вания сделать заключение, что жир не идентичен заявленному сорту или фальсифицирован.

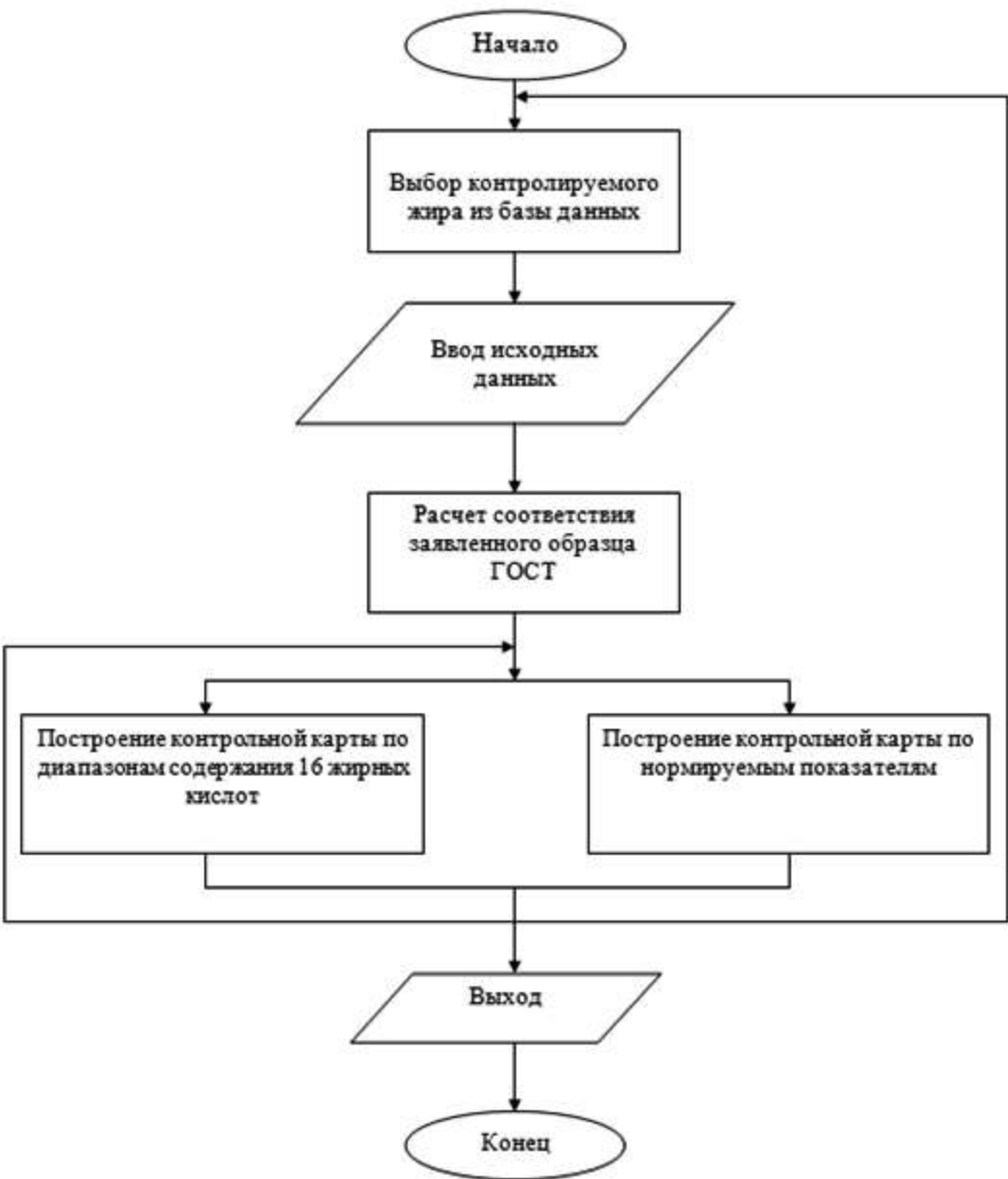


Рис. 3.14. Блок-схема программы «Система идентификации жиров»

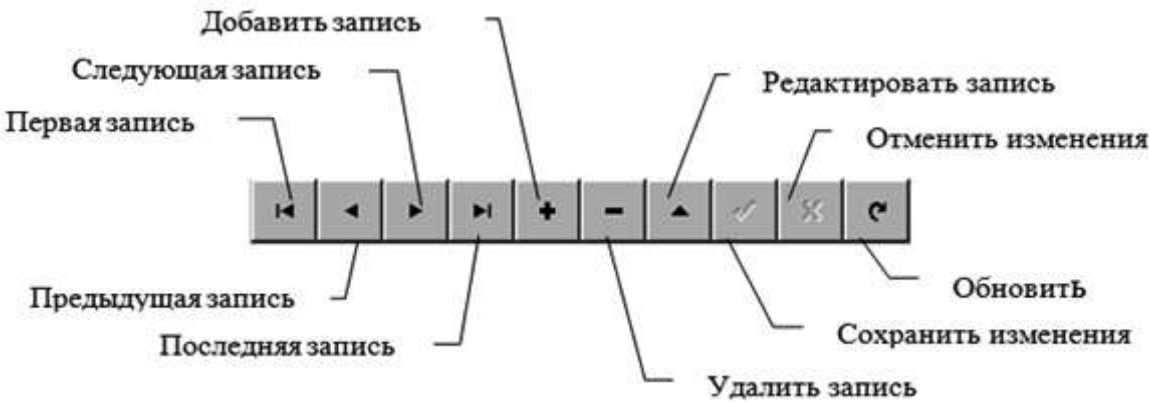


Рис. 3.15. Навигатор БД показателей жиров

Активировав кнопку «Карта» оператор визуализирует КК жира по нормализованным показателям. На этой карте представлен коридор допустимых значений (голубой цвет), все допустимые значения контролируемых показателей варьируют от 0 до 100. Синим и темно-синим цветом обозначены отклонения на 10 и 20% от нормы. Экспериментальные точки представлены в черных кружках, если они выходят из коридора допустимых погрешностей активируется окно «Warning», в котором указаны показатели, выходящие за пределы коридора. Для управления набором данных используется навигатор БД (рис. 3.15). Просмотр, редактирование, добавление записей осуществляется также с помощью навигатора базы данных. Под графиком нормализованной КК (рис. 3.16) приведены значения контролируемых показателей в пробе и их допустимые минимальные и максимальные значения.

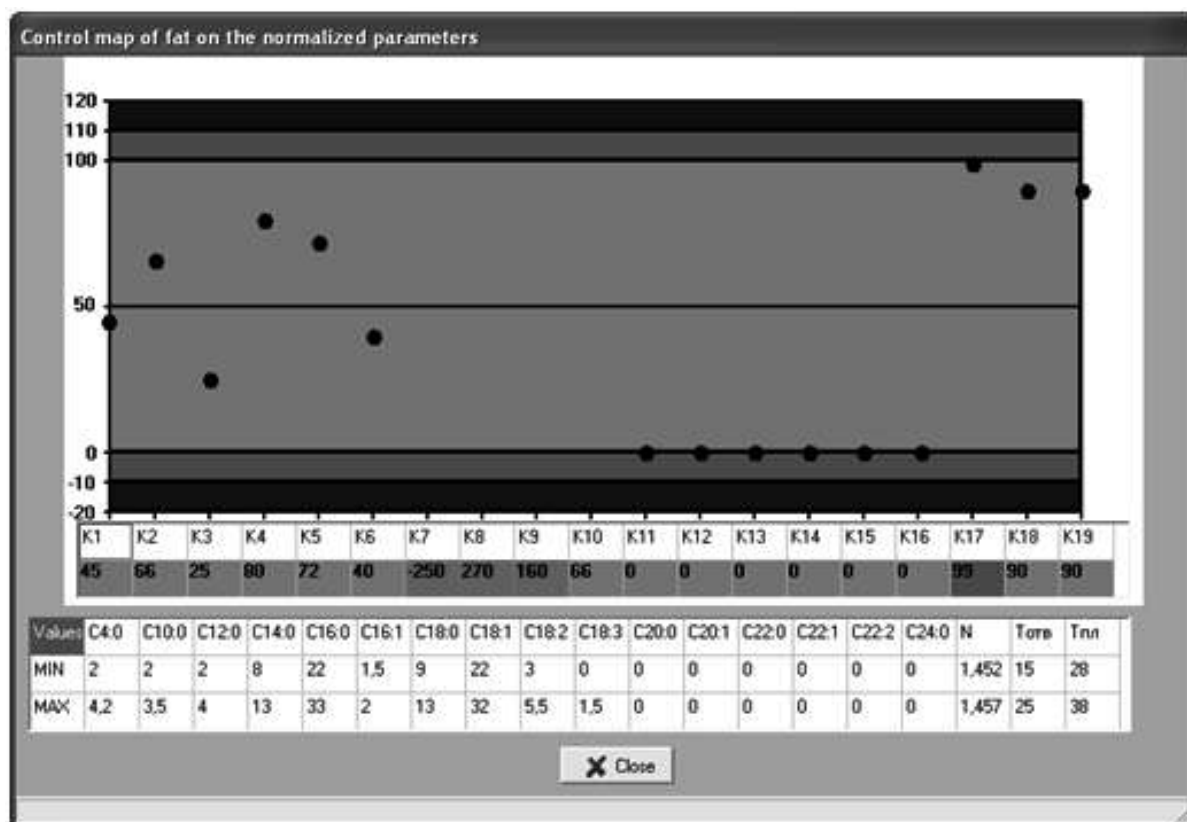


Рис. 3.16. Контрольная карта натурального молочного жира по стандартизованным диапазонам содержания 16 жирных кислот $C_{4:0}$ - $C_{24:0}$, коэффициента преломления, температур плавления и отвердевания с нанесенными на нее результатами анализа образца молочного жира. Ось ординат – нормализованные от 0 до 100 численные значения контролируемых показателей

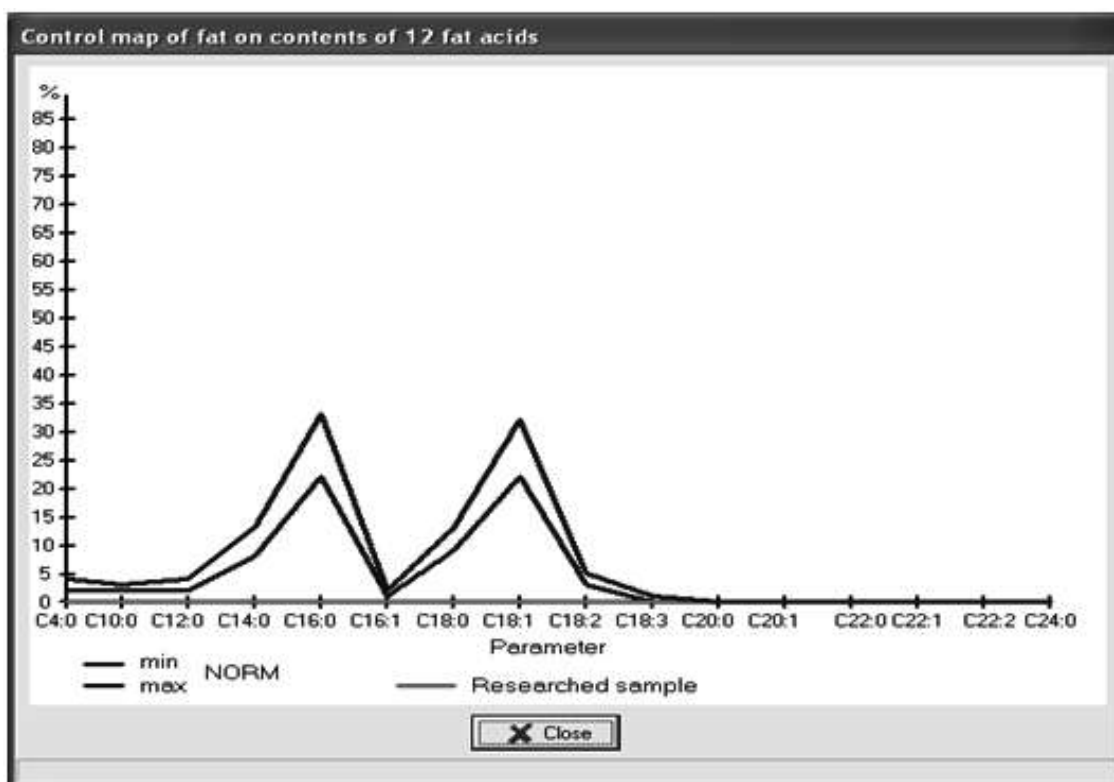


Рис. 3.17. КК натурального молочного жира по диапазонам содержания 16 жирных кислот $C_{4:0}$ - $C_{24:0}$. Ось ординат – численные значения контролируемых показателей

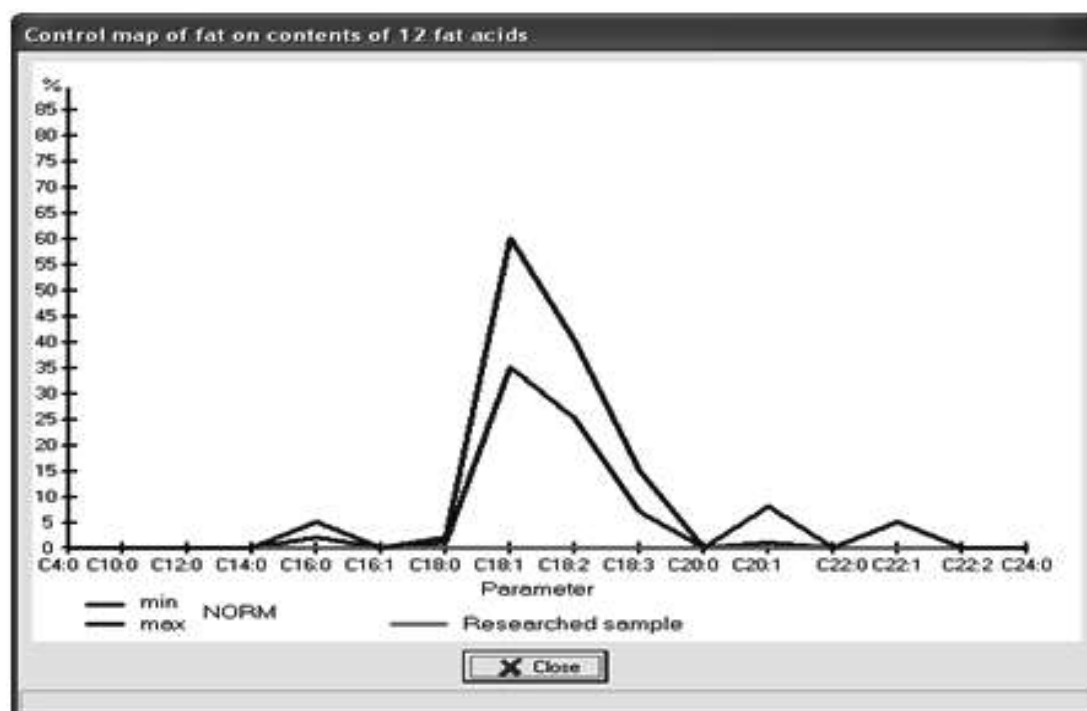


Рис. 3.18. КК горчичного масла 2-й группы по диапазонам содержания 16 жирных кислот $C_{4:0}$ - $C_{24:0}$.

В программе предусмотрено также построение КК с ненормализованными показателями (рис. 3.17-3.18), которые имеют индивидуальный профиль идентификационной зоны. Практика показала, что они удобны для рутинного контроля разных партий жира одного и того же вида. Разработанное ПО опробовано в ОАО «Воронежский молочный комбинат» значения.

3.3. Алгоритм оптимизации состава жировой фазы спредов

В последние годы в исследовательских лабораториях отраслевых институтов, вузов и фирм-производителей жиросодержащей продукции активно разрабатываются рецептуры спредов, в которых молочный жир заменяется жиром немолочного происхождения. При частичной замене в сливочном масле (спреде) молочного жира немолочными жирами можно направленно регулировать жирнокислотный состав, качество, физические свойства продукта в целом, повышать его потребительские свойства и пищевую ценность. Зачастую оптимизация состава осуществляется опытным перебором вариантов с их оценкой экспертами, в первую очередь, по консистенции и органолептике. Уже на конечной стадии констатируются полученные результаты (жирнокислотный состав, теплофизические характеристики и показатели, нормируемые ГОСТами), дается сравнительная характеристика продукта.

Экспертные оценки являются незаменимым звеном в искусстве создания и испытания нового продукта. Однако многие опытные стадии разработки могут быть заменены научно обоснованными процедурами, позволяющими при сокращении сроков и материальных затрат, априори выбирать наиболее перспективные и отбрасывать заведомо неприемлемые варианты. Для уменьшения издержек при разработке рецептуры спредов разработан новый алгоритм оптимизации состава жировой фазы. Он основан на поиске максимума обобщенной целевой функции, построенной из частных целевых функций, характеризующих изменение характеристик комбинированного жира, в котором массовая доля m_2 (%) немолочного жира изменяется от 0 до 100%. Математически обобщенную целевую функцию (ОЦФ) предложенную нами для этих целей, можно выразить в следующем виде:

$$F_g = \sum_{k=1}^S a_m a_k \frac{F_k}{F_k^{norm}} \rightarrow \max, \quad (3.2)$$

где F_g – ОЦФ для бинарной смеси жиров; a_m – фактор желательности, изменяется от 0 до 100, если частная целевая функция растет с увеличением массовой доли жира-заменителя $a_m=m_2$, если она уменьшается $a_m=100-m_2$; a_k – фактор веса частной целевой функции, a_k изменяется в пределах от 0 до 1, сумма всех a_k равна 1. F_k^{norm} – нормализирующее значение для частной целевой функции F_k . При максимизации частной целевой функции $F_k^{norm}=F_k^{max}$, а при ее минимизации – $F_k^{norm}=F_k^{min}$.

В главе 1 обсуждены ОЦФ, в которых при минимизации частной целевой функции, перед ее значением ставится знак «минус», а при максимизации – «плюс». Недостатком этого метода поиска оптимального решения является то, что при обобщении нескольких линейных целевых функций искомая функция F_g также является линейной и регулировать максимум этой функции необходимо обязательным установлением граничных условий, которые могут мало отличаться друг от друга для выбранной пары смешиваемых жиров. При нахождении этим методом максимальное значение F_g будет находиться либо в области чистого молочного, либо чистого немолочного жира, в зависимости от установленных значений a_k . Предложенный нами фактор желательности a_m вносит при суммировании элемент нелинейности, позволяющий обнаружить, при каком составе одна функция начинает превалировать над другой. Фактор веса a_k позволяет экспертным путем учитывать важность каждого частного оптимизируемого параметра. Для его определения испытаны методы парных сравнений и оценки по баллам. Согласованность экспертных оценок автоматически проверяется коэффициентом вариабельности или коэффициентом конкордации.

Компьютеризированная обработка результатов экспертизы заметно ускоряет работу экспертов. Им необходимо только внести свои оценки в электронную таблицу в оболочке программы и активизировать опцию «расчет». Созданный алгоритм поиска максимума ОЦФ осуществлен в виде ПО в среде MS Excel и Mathcad [253]. ПО дает возможность в считанные минуты по серии аддитивных или неаддитивных функций количественно сравнить *априори* или *апостериори* потребительскую оптимальность того или иного жирового состава спреда, если известны, как минимум, характеристики исходных молочного и немолочного жира и их соотношение в готовом продукте. По рассчитанной величине F_g можно сравнивать качество разных

партий и наименований спредов, корректировать пропорции при смешивании.

Приведем пример поиска оптимального состава спреда на основе заменителя молочного жира «Союз 52L» и сборного молочного жира, выработанного в Верхнемамонском районе Воронежской области. В качестве 4-х частных целевых функций возьмем стоимость 1 кг жиров, критерий пищевой ценности этих жиров RL [245], который суммирует баланс насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, $t_{\text{плав}}$ и содержание твердой фазы при 35 °С.

Для того чтобы получить частную функцию «пищевая ценность спреда – состав» следует экспериментально измерить содержание наиболее распространенных жирных кислот в молочном жире и жире «Союз 52L» методом КГЖХ. Это миристиновая, пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая и линоленовая кислота. Суммарная доля указанных кислот в большинстве пищевых жиров составляет 75-100%.

$$RL = \sum_{i=1}^m a_i (x_i^s / x_i^w), \quad (3.3)$$

где RL – значение обобщенного критерия пищевой ценности для s -го жирно-кислотного состава, a_i – коэффициент веса для i -й жирной кислоты, x_i^s – содержание i -й жирной кислоты для s -го варианта жирно-кислотного состава, x_i^w – нормирующее значение для i -й жирной кислоты (среднее значение, характерное для жира женского молока), m – количество жирных кислот. В среде Borland Delphi 7.0 нами разработана специальная программа для расчета RL .

При смешивании жиров жирнокислотный состав изменяется по аддитивной схеме и рассчитывается по правилу креста $m_2/m_1 = (c - c_1)/(c_2 - c)$, где m_1 и m_2 – массы молочного жира и жира-заменителя; c_1 и c_2 – содержание в них соответствующей жирной кислоты, c – заданная концентрация кислоты в спреде. При компьютерном анализе автоматически строится линейная зависимость по двум точкам c_1 и c_2 ($c = c_1 + b m_2$), где b – эмпирический коэфф. Аналогично рассчитывается функция стоимости по двум точкам S_1 и S_2 ($S = S_1 + d m_2$), где d – эмпирический коэфф., S , S_1 , S_2 – стоимость 1 кг спреда, молочного и немолочного жиров (значения S_1 , S_2 вводятся оператором). Система предусматривает граничные условия. Например, значения $t_{\text{плав}}$ жиров не должны быть выше 35-36 °С, а содержание твердых триглицеридов при 35 °С (ТТГ) – не больше 5%. Как известно, более тугоплавкие жиры имеют нежелательный салостый, обволакивающий привкус.

Температура плавления и содержание твердых жиров имеют определенные отклонения от аддитивности, которые можно учитывать построением полинома по экспериментальным данным. При отсутствии экспериментальных данных для промежуточных смесей в первом приближении применимы линейные зависимости по данным для исходных жиров: $t=t_1+fm_2$; $M=M_1+gm_2$; $Z=Z_1+hm_2$, где t , M и Z – $t_{\text{плав}}$, содержание твердых жиров и *транс*-изомерных кислот в спреде, а t_1 , M_1 и Z_1 – $t_{\text{плав}}$, содержание твердых жиров и суммы *транс*-изомерных кислот в молочном жире; f , g и h – эмпирические коэфф. для соответствующих показателей. Оценки всех параметров в баллах, сделанные экспертами, вносятся в таблицу. Табличный процессор рассчитывает отношение балла к сумме баллов $N_i/\Sigma N_i$ для каждого параметра и эксперта, что обеспечивает переход от оценок параметров в баллах к нормализованным значениям фактора веса, сумма которых для всех параметров равна 1.0 у любого эксперта. В итоге получают среднее значение a_k , которое проверяют на вариабельность или конкордацию (согласованность точек зрения экспертов). Приглашенные для эксперимента 5 экспертов при проведении экспертизы наибольший вес назначили пищевой ценности спреда ($a_k=0.30$), 2-й по значимости параметр – стоимость готового спреда — ($a_k=0.23$), 3-й параметр, характеризующий безопасность потребления – сумма *транс*-изомерных кислот ($a_k=0.20$), 4-й и 5-й – $t_{\text{плав}}$ и содержание твердого жира при 35 °C ($a_k=0.14$ и 0.12 соответственно). В табл. 3.9, 3.10 представлены усредненные данные для анализируемых бинарных смесей «молочный жир – жир-заменитель», а на рис. 3.19 и 3.20 даны частные и обобщенные целевые функции для этих систем.

Для того чтобы представить эти функции в сопоставимом масштабе, значения некоторых функций помножены на 10, а для того, чтобы при оптимизационных процедурах избежать деления на 0, при нахождении F_g для содержания *транс*-изомеров использовали значения $Z+1$.

Результаты исследований серий бинарных смесей следующие: максимальное значение ОЦФ имеет смесь молочного жира с Эколаком 1403-34Н при концентрации последнего $m_2=30\%$ ($F_g=91.4$). Такое же решение найдено для смеси молочного жира с Союзом 52L ($m_2=30\%$, $F_g=90.0$). Так как в обоих случаях значения ОЦФ в диапазоне $m_2=20-40\%$ изменяются плавно ($F_g=88.0-90.0$), имеется резон говорить не столько о точечном максимуме, сколько о диапазоне, в котором спред имеет оптимальные свойства.

Таблица 3.9

Усредненные данные для бинарных смесей молочный жир –
Эколакт1403-34Н

m ₂	T _{пл}	ТТГ при 35 °С, %	Цена, руб/ кг	RL	Σ транс- изомер- ров	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
0	33.0	2.0	87.0	1.01	0	10.5	27.5	11.0	27.0	4.2	1.0
10	33.2	2.3	83.6	1.05	0.5	9.6	28.4	10.3	28.4	5.0	0.9
20	33.5	2.5	80.2	1.08	1.1	8.8	29.2	9.6	29.9	5.7	0.9
30	33.7	2.8	76.8	1.12	1.6	7.9	30.1	8.9	31.3	6.5	0.8
40	34.0	3.1	73.4	1.16	2.1	7.0	31.0	8.2	32.7	7.3	0.7
50	34.2	3.4	70.0	1.20	2.7	6.2	31.9	7.5	34.2	8.1	0.7
60	34.4	3.6	66.6	1.23	3.2	5.3	32.7	6.8	35.6	8.8	0.6
70	34.7	3.9	63.2	1.27	3.7	4.4	33.6	6.1	37.0	9.6	0.5
80	34.9	4.2	59.8	1.31	4.2	3.5	34.5	5.4	38.4	10.4	0.4
90	35.2	4.4	56.4	1.34	4.8	2.7	35.3	4.7	39.9	11.1	0.4
100	35.4	4.7	53.0	1.38	5.3	1.8	36.2	4.0	41.3	11.9	0.3

Таблица 3.10

Усредненные данные для бинарных смесей молочный жир – Союз
52L

m ₂	T _{пл}	ТТГ при 35 °С, %	Цена, руб/кг	RL	Σ транс- изомер- ров	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
0	33.0	2	87.0	1.01	0	10.5	27.5	11	27	4.2	1
10	33.4	2.5	82.7	1.04	0.5	9.6	29.1	10.3	28.3	4.7	0.9
20	33.8	3.0	78.4	1.07	1.0	8.7	30.6	9.6	29.6	5.2	0.9
30	34.2	3.5	74.1	1.10	1.5	7.9	32.2	9.0	31.0	5.7	0.8
40	34.6	4.0	69.8	1.13	2.0	7.0	33.7	8.3	32.3	6.2	0.7
50	35.0	4.5	65.5	1.15	2.6	6.1	35.3	7.6	33.6	6.7	0.7
60	35.4	5.0	61.2	1.18	3.1	5.2	36.9	6.9	34.9	7.2	0.6
70	35.8	5.5	56.9	1.21	3.6	4.3	38.4	6.2	36.2	7.7	0.5
80	36.2	6.0	52.6	1.24	4.1	3.5	40.0	5.6	37.6	8.2	0.4
90	36.6	6.5	48.3	1.27	4.6	2.6	41.5	4.9	38.9	8.7	0.4
100	37	7.0	44.0	1.29	5.1	1.7	43.1	4.2	40.2	9.2	0.3

Оптимальный состав качественного спреда может быть получен при смешивании 20-40% специализированного немолочного жира и 80-60% молочного жира. Расчеты хорошо согласуются с органолептическими оценками.

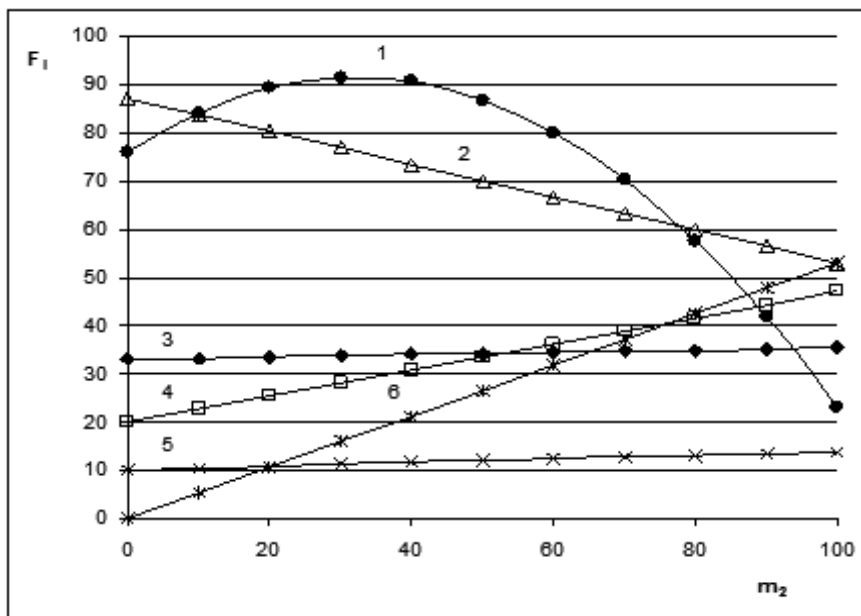


Рис. 3.19. Целевые функции для определения оптимальных соотношений в спреде молочного и немолочного жиров (Эколакт 1403-34Н): 1 – ОЦФ; 2 – стоимость; 3 – $t_{\text{плав}}$; 4 – пищевая ценность; 5 – содержание твердых жиров, 6 – содержание *транс*-изомерных кислот

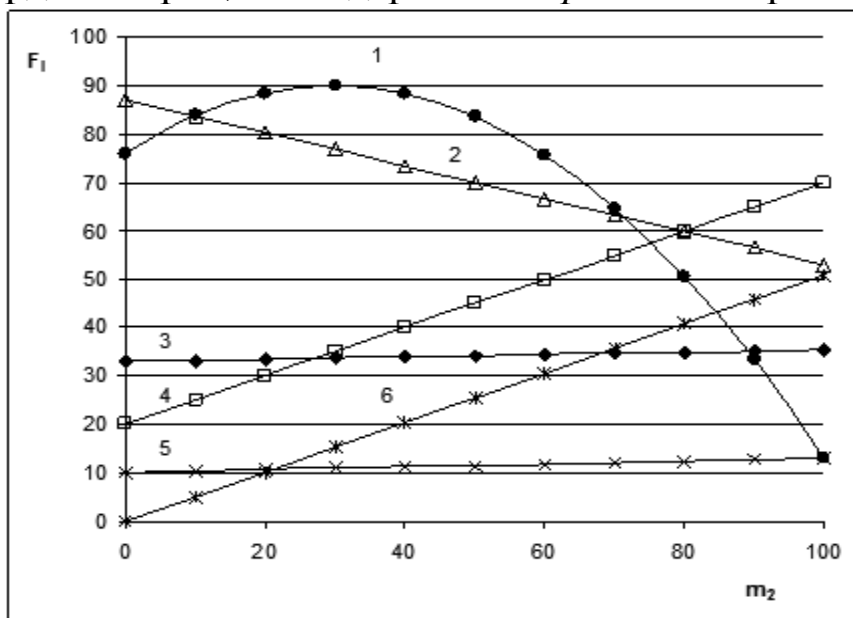


Рис. 3.20. Целевые функции для определения оптимальных соотношений в спреде молочного и немолочного жиров (Союз 52L): 1 – ОЦФ; 2 – стоимость; 3 – $t_{\text{плав}}$; 4 – пищевая ценность; 5 – содержание твердых жиров, 6 – содержание *транс*-изомерных кислот

Т.о., для целей визуализации многопараметрических данных и идентификации многокомпонентных продуктов на примере жиров животного и растительного происхождения изучены принципиальные возможности и разработаны алгоритмы обнаружения фальсификации многокомпонентными добавками с таким же качественным, но отличающимся по количеству компонент составом, что и базовый стандартный продукт.

Предложено и обосновано использование КК, включающих многокритериальную идентификационную зону с достоверно установленными диапазонами варьирования критериев подлинности в виде диаграмм с областями и лепестковых диаграмм. Разработка апробирована на примерах жирнокислотного и аминокислотного состава контролируемого продукта. Визуализация многокритериальных идентификационных зон с помощью КК сокращает информацию, повышает наглядность и облегчает ее восприятие, ускоряет процедуру идентификации. Разработанные КК могут быть эффективно использованы не только в аналитической, фармацевтической и пищевой химии, но и в фармакогнозии при контроле качества растительного и животного сырья.

БД, содержащие КК анализируемых продуктов, являются основой для создания информационно-экспертной системы проверки натуральности или подлинности многокомпонентных продуктов. Используя эти БД и усовершенствованный алгоритм расчета ОЦФ можно определять оптимальность состава многокомпонентного продукта по научно обоснованным критериям. Для случая, когда частные целевые функции изменяются линейно, предложен фактор желательности, делинеаризирующий целевую функцию и позволяющий находить обобщенную функцию, не прибегая к обязательному назначению граничных условий.

Глава 4. ИК–спектроскопическое определение содержания белка в водных растворах и слезной жидкости с применением цифровых технологий

Аналитические средства обнаружения заболеваний, медицинские объекты, лекарственные препараты в биологических средах стали для химиков-аналитиков одной из самых актуальных областей приложения. Существенное место занимают аналитические методы и средства обнаружения разного рода патологических изменений в ор-

ганизме человека [262]. Многие коллективы аналитиков начинают или расширяют работы по проблемам медицинской диагностики. Одним из важных направлений этой работы является диагностика офтальмологических заболеваний [262-267].

Основными методами диагностики этиологии воспалительного или трофического заболевания роговицы являются исследование мазков с конъюнктивы на флору, бактериологический посев с поверхности роговицы на питательные среды, иммуноферментный анализ (ИФА) и полимеразная цепная реакция (ПЦР), качественный кристаллографический анализ. Мазок с конъюнктивы и бактериологический посев информативны только при бактериальных и грибковых процессах в роговице и дают информацию только в 30% случаев. Сравнительно дорогостоящие методы ИФА и ПЦР сравнительно малодоступны, существует необходимость поиска более доступных методов экспресс-диагностики этиологии патологического процесса в роговице.

Бесспорным объектом анализа при диагностике глазных болезней является слезная жидкость (СЖ) – многокомпонентный секрет, в котором наиболее важными составляющими являются белки [263]. Общее количество белка слезы составляет 20 г/л [265]. Белки СЖ имеют сложный состав – до 60 фракций. Установлено, что при воспалительных процессах содержание общего белка в СЖ умеренно повышается. Это связано с тем, что некоторые белковые компоненты СЖ выполняют функции неспецифической защиты – это лактоферрин, церулоплазмин, лизоцим (20-29% белка слезы обладает выраженным бактерицидным действием на грамположительную флору).

Таким образом, СЖ является универсальным индикатором нарушения обменных процессов при патологических состояниях органа зрения. Например, после химического ожога роговицы или УФ-облучения глаза уровень белка в СЖ повышается в 1.5-2 раза. Следовательно, контроль динамики изменения состава и количества белков в СЖ является одним из возможных способов клинической диагностики в офтальмологии [268].

Исчерпывающая идентификация белков, связанная с их фракционированием гель-фильтрацией и последующим установлением структуры методами иммунохимии, специальными инструментальными методами мало применима в практической медицине, поэтому идет поиск методов диагностики с применением экономичных оптических методов [265-269].

В работах [270-274] отражены результаты наших исследований по разработке ИК-спектроскопической методики диагностики офтальмологических заболеваний. В связи с тем, что отбираемая проба для анализа СЖ имеет объем 7-90 мкл, имеются ограничения в применении фотоколориметров и спектрофотометров, имеющих стандартные кюветы. Для решения проблемы регистрации УФ-спектров образцов объемом несколько мкл их можно получать при помощи оптической ячейки объемом 1.5 мкл микроколоночного жидкостного хроматографа «Миличром-5». Для этих целей СЖ из микрошприца через укороченный капилляр непосредственно вводят в кювету детектора, а в кювету сравнения вводят дистиллированную воду, затем регистрируют УФ-спектр в диапазоне 190-360 нм. В связи с тем, что лизоцим содержит в своем составе ароматическую АК – триптофан, СЖ имеет максимум поглощения индольной группы в области 275-279 нм.

Как видно из рис. 4.1, СЖ непрозрачна в области < 230 нм и имеет интенсивный максимум поглощения при 279 нм. Серия опытов показала, что интенсивность поглощения в этом максимуме для слезы офтальмологических больных на 20–40 % выше нормы, что указывает на повышение общего белка в СЖ.

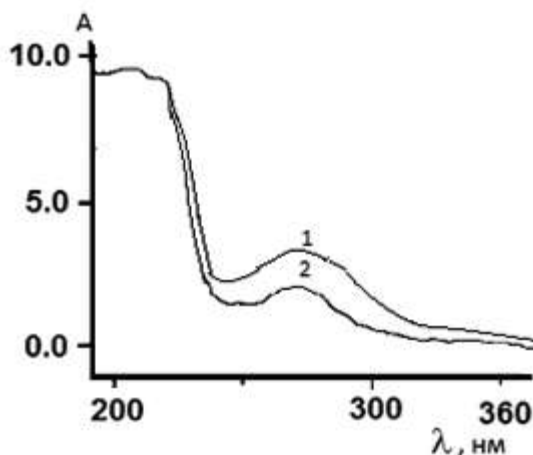


Рис. 4.1. УФ-спектр СЖ здорового (1) и больного человека (2), зарегистрированный детектором прибора «Миличром-5»

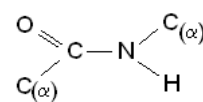
Существует методика определения содержания лизоцима, основанная на набухании гранул, которая требует существенно меньшего объема анализируемой жидкости, чем классическая методика (0.5–0.3 мл), что в принципе подходит для контроля СЖ [275, 276]. Другим оптическим методом, перспективным для анализа содержания белков в СЖ является ИК-спектроскопия. Этот метод более информативен,

чем УФ-спектрофотометрия. Ранее метод ИКС использовали [267, 269] для диагностики сосудистых заболеваний и травм органов зрения. Особенностью интерпретации ИК-спектроскопических данных в этой работе является хемометрический прием – определение критерия Бартлетта и расстояния Махаланобиса в контрольной группе и у больных, т.е. использован кластерный анализ данных. При реализации этого подхода необходимо проведение статистического анализа многочисленных экспериментальных точек в многомерном пространстве и дополнительное обучение оператора алгоритмам анализа БД.

4.1. ИК–спектроскопия лизоцима и белков слезной жидкости

ИК-спектры соединений регистрировали на приборе ИнфраЛЮМ ФТ-02 методом раздавленной капли, приготовлением тонкой пленки путем осаждения частиц из летучего растворителя на поверхности пластины KBr, или Si. Для разработки способа определения содержания белковых фракций в водных растворах и, в частности, в СЖ в качестве реперного вещества использовали лизоцим. *Лизоцим* – антибактериальный агент, фермент класса гидролаз, разрушающий клеточные стенки бактерий, содержится в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, СЖ, грудном молоке и др. Он широко применяется в пищевой промышленности наряду с бифидо- и лактобактериями, витаминами, АК и другими БАВ и относится к элементам функционального питания, в медицине применяется в качестве местного антисептического средства. В норме содержание лизоцима в СЖ около 7 г/л [277].

При проведении количественного анализа модельных растворов на содержание белковых фракций с использованием метода ИКС наиболее информативны такие области спектра (рис.4.2.), где проявляются валентные колебания групп, входящих в состав молекул полипептидного типа [225].



Характерной группой в пептидах является $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} - \text{N} \begin{array}{l} \nearrow \text{C}_{(\alpha)} \\ \searrow \text{H} \end{array} \\ \nearrow \text{C}_{(\alpha)} \end{array}$. Различными методами (рентгеноструктурный анализ, электронография, спектры поглощения и комбинационного рассеяния) было показано, что все атомы C–CONH–C лежат в одной плоскости, что отвечает sp^2 –гибридизации карбонильного атома О. Возможно, внутреннее вращение относительно одинарных связей C–C, C–N. Реализация поворотных изомеров в различных конформациях полипептидной цепи

зависит как от природы боковых цепей аминокислотных остатков, так и от свойств внешней среды. Группа CONH имеет форму, близкую к кетонной, однако связи C–N, C=O не являются соответственно одинарной и двойной. Методами ИКС установлено, что длина связи CO в пептидной группе равна 0.124 нм, больше длины связи двойной (0.119 нм), но меньше длины одинарной связи (0.144 нм) C–O. То же самое относится к связи C–N, длина которой 0.132 нм (длина одинарной связи C–N 0.147 нм, длина двойной связи 0.128 нм) [278]. Электронная плотность сдвигается от атома N к атому O и возникает не только мощный диполь, но и высокие электродонорные (атом O) и электроакцепторные свойства (атом H при N). В результате резко возрастает способность этих атомов к образованию водородной связи. Пептидная связь имеет постоянный дипольный момент D. Пространственное распределение разноименных электрических зарядов и дипольный момент пептидной связи, равный 3.5 Д, определяют постоянный дипольный момент и высокую поляризуемость пептида. Нормальные колебания в пептидной группе определяются нелинейным фрагментом OCN. Этот фрагмент служит моделью вторичной амидной группы. Полосу при 1650 см^{-1} обозначают как Амид I, а при $1540\text{--}1560\text{ см}^{-1}$ – как Амид II [279–281]. Эти полосы относят к антисимметричному и симметричному валентным колебаниям OCN-группы. В ряде случаев полоса при $1540\text{--}1560\text{ см}^{-1}$ расщепляется на Амид II и Амид III в результате взаимодействия симметричных валентных колебаний OCN-группы с деформационными колебаниями NH-группы. Наряду с этим в указанной области спектра регистрируются колебания --COO^- ($1540\text{--}1560\text{ см}^{-1}$) и $\text{--}\overset{+}{\text{N}}\text{H}_3$ концевых групп в полипептидных цепях [279–281]. В ИК-спектре лизоцима имеются и другие отчетливые характеристические полосы амидных групп (вплоть до Амида VII) (табл. 4.1).

Найдено [273], что при изменении содержания белка интенсивность поглощения характеристичных полос может изменяться (рис. 4.2). Интенсивность характеристической полосы наиболее адекватно характеризуется площадью соответствующего пика S_i в ИК-спектре. Расчет S_i пиков проводили в программе редактирования спектров Grams/32 R Version 4.02 Spectral Notebase, которая позволяла выделять анализируемую область спектра, точно фиксировать волновые числа максимумов поглощения, строить автоматически или вручную базовую линию.

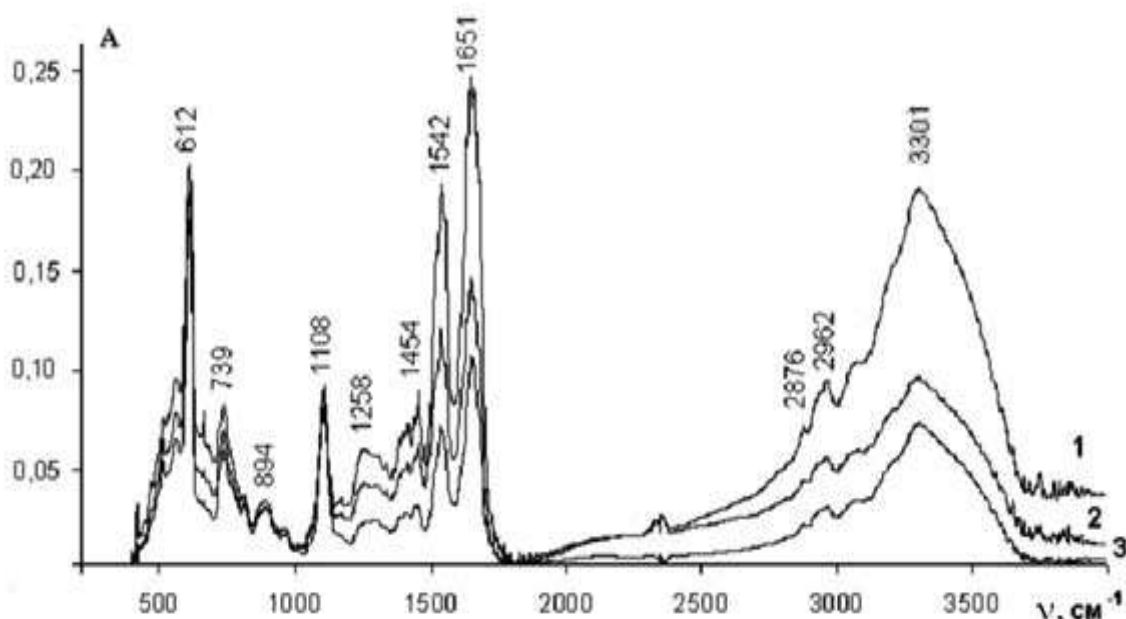


Рис. 4.2. ИК-спектры сухого остатка изотонических растворов лизоцима: 1 – концентрация лизоцима в растворе 20 г/л; 2 – 10 г/л; 3 – 5 г/л

Таблица 4.1

Характеристические полосы поглощения в ИК-спектрах модельных растворов

ν, cm^{-1}	Колебания
3311	$\nu(\text{NH})$ и ассоциатов $-\overset{+}{\text{N}}\text{H}_3 \cdots \text{H}_2\text{O}$
3215	Резонанс Ферми (Амид I + Амид II) с $\nu(\text{NH})$ и ассоциатов $-\text{COO}^- \cdots \text{H}_2\text{O}$
1651	Амид I и концевые группы $-\overset{+}{\text{N}}\text{H}_3$
1540	Амид II и концевые группы $-\text{COO}^-$
1455	δCH_2
1438	δCH_2 ; N и C=O вициальный
1400	$-\text{COO}^-$
1270	Амид III
1110	$\nu(\text{C}-\text{C})$ или $\nu(\text{C}_\alpha\text{N})$
929	Амид IV (CO-NH)
740	Амид V ($\delta_0 \text{NH}$); (CH_2)
602	Амид VI $\sigma_0(\text{C}=\text{O})$
516	Амид VII $\sigma_0(\text{C}=\text{O})$

Таблица 4.2

Результаты ИК-спектроскопического определения лизоцима в модельных растворах ($n=3$, $P=0.95$) по градуировочному уравнению $S=f(C)$ для 1649 см^{-1}

Введено, г/л	Найдено, г/л
7.0	7.5 ± 0.8

Анализ ИК-спектров показал, что для определения концентрации белка могут быть использованы S_i при 1542 или 1649 см^{-1} . Для полосы 1542 см^{-1} в диапазоне содержания лизоцима $5 \div 20$ г/л наблюдается линейная зависимость (4.1); а для полосы 1649 см^{-1} , соответственно (4.2).

$$S_i = (0.53 \pm 0.05)C + (2.67 \pm 0.70), R = 0.9917, \quad (4.1)$$

$$S_i = (0.99 \pm 0.06)C + (2.66 \pm 0.85), R = 0.9960, \quad (4.2)$$

где S_i – интегральная площадь. Для проверки правильности ИК-спектроскопической методики использовали метод «введено-найденно» (табл.4.2).

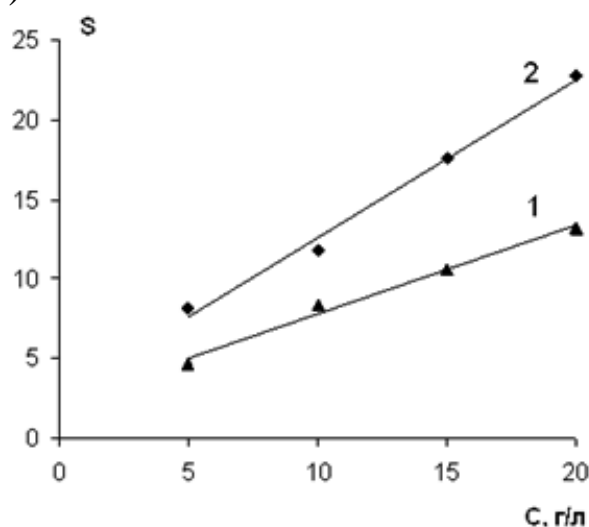


Рис 4.3. Градуировочные зависимости S_i полос поглощения от концентрации лизоцима в модельных растворах: 1 – $1540\text{--}1542\text{ см}^{-1}$; 2 – $1646\text{--}1652\text{ см}^{-1}$

Таким образом, методом ИКС позволяет количественно определять содержание лизоцима в водно-солевых и водных растворах, а при соответствующей пробоподготовке, в лизоцимсодержащем сырье, продукции и в биологических жидкостях [211].

4.2. Визуализация и редукция ИК-спектроскопических данных с помощью лепестковых диаграмм

Рассмотрим возможности ИКС в экспресс-диагностике заболеваний роговицы и контроле над процессом лечения с помощью количественного анализа по ИК-спектрам общего содержания белка в СЖ. Методология исследования заключалась в количественном определении содержания общего белка по ИК-спектрам СЖ до, в процессе и после лечения пациентов с различной патологией заболевания роговицы, и сопоставлении полученных данных с результатами анализа в контрольной группе здоровых лиц.

Анализ ИК-спектров сухого остатка СЖ показал, что для всех полученных образцов присутствуют колебания при 1652, 1545 и 1403, 1260 см^{-1} (рис. 4.4). Найдено, что ИК-спектры разных образцов СЖ демонстрируют различия преимущественно в интенсивности соответствующих характеристичных полос при незначительном их смещении [273]. Например, чем больше интенсивность полосы в области 1646-1652 см^{-1} , тем выше содержание белковых фракций в СЖ. При наличии нарушений в обмене веществ или заболеваниях органов зрения происходит более интенсивная секреция белка, направленного на восстановление обмена веществ. При изменении структуры и соотношения количеств различных белковых веществ, обусловленных динамикой биохимических процессов, сопровождающих разные стадии заболевания, S_i характеристичных полос, а значит, и их соотношение может изменяться в различной степени [271].

Установлено, что информативными в офтальмологической диагностике оказались величины S_i/S_{CT} , где S_{CT} – площадь полосы сравнения; S_1 – площадь при 1259-1270 см^{-1} , S_2 – при 1400-1403 см^{-1} , S_3 – 1542-1545 см^{-1} , S_4 – 1646-1652 см^{-1} . В качестве стандартной выбрали полосу со средней интенсивностью при 1446-1452 см^{-1} . Для количественного сравнения содержания белков в СЖ пациента с усредненной контрольной пробой здоровых лиц использовали нормализованные соотношения $(S_i/S_{CT})_j/(S_i/S_{CT})_k$, где $(S_i/S_{CT})_j$ – результат измерения i -той спектральной полосы для j -го пациента, $(S_i/S_{CT})_k$ – усредненная относительная интенсивность для i -той спектральной полосы в контрольной пробе.

В табл. 4.3 приведены результаты анализа ИК-спектров проб на общее содержание белка СЖ пациентов с разными диагнозами, на рис. 4.4 для сравнения приведены ИК-спектры СЖ здорового и боль-

ного человека.

Таблица 4.3

Общее содержание белков в СЖ по данным ИК-спектроскопии для разных категорий заболеваний в острой стадии (n=3-7, P=0.95)

Клинические примеры	Общее содержание белка, г/л
Офтальмологически здоровый	5.6
Вирусный кератит	7.0
Нейротрофический кератит	7.5
Глаукома, осложненная язвой роговицы	15.5
Гнойная язва роговицы	16.2

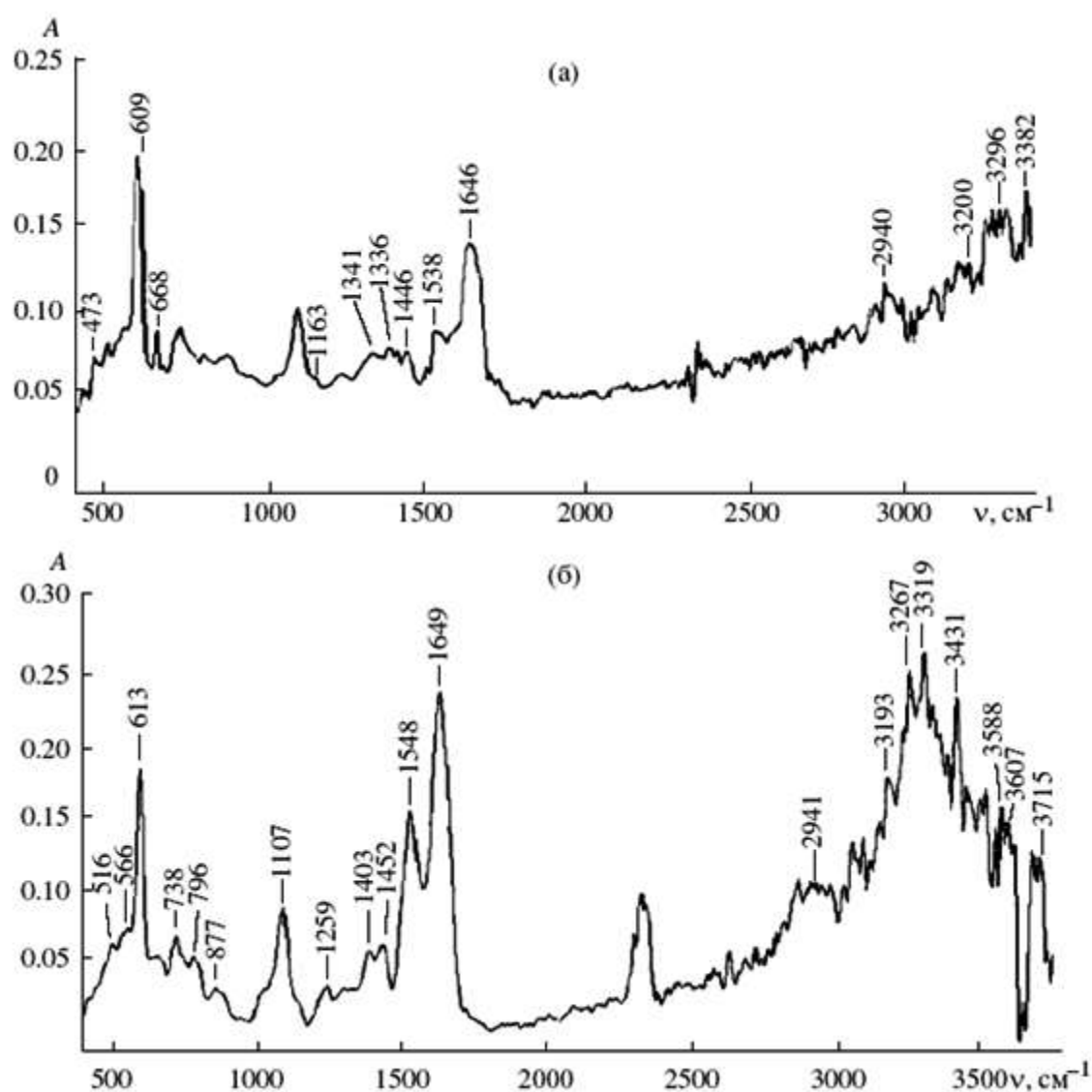


Рис. 4.4. ИК-спектры сухого остатка СЖ в контрольной группе здоровых лиц (а) и при гнойной язве роговицы (б).

Характер ИК-спектров СЖ отражает тяжесть клинического течения заболевания. Так, при острых заболеваниях соотношения площадей пиков S_4/S_{CT} возрастает в 2-2.2 раза по сравнению с контролем, S_2/S_{CT} – в 1.5-2 раза, а соотношение S_1/S_{CT} , напротив, уменьшается на 20-25%. Изменения соотношения площадей характеристических пиков S_1/S_{CT} позволяют проследить динамику заболевания, т.к. они в той или иной степени коррелируют с состоянием здоровья пациентов и при успешном лечении стремятся к значениям в контрольной группе здоровых лиц. Найдено, что соотношения площадей пиков изменяются немонотонно, максимальные изменения происходят в первые 4-5 дней, затем в течение 10-12 дней наблюдается стабилизация спектральных характеристик.

Таблица 4.4

Усредненные величины S_i и S_i/S_{CT} характеристических полос поглощения СЖ (рис. 4.4)

Характеристическая полоса, см^{-1}	1259	1403	1452	1548	1649
S_i	S_1	S_2	$S_3 (S_{CT})$	S_4	S_5
для контрольной группы здоровых лиц					
S_i	1.47	1.31	2.03	3.80	8.20
$(S_i/S_{CT})_k$	0.72	0.65	1.00	1.87	4.04
вирусный кератит					
S_i	1.32	1.01	1.12	3.28	9.59
$(S_i/S_{CT})_j$	1.18	0.90	1.00	2.93	8.56
$(S_i/S_{CT})_j/(S_i/S_{CT})_k$	1.63	1.40	1.00	1.56	2.12
нейротрофический кератит					
S_i	1.90	1.90	2.71	5.53	9.94
$(S_i/S_{CT})_j$	0.70	0.70	1.00	2.04	3.67
$(S_i/S_{CT})_j/(S_i/S_{CT})_k$	0.97	1.08	1.00	1.09	0.91
гнойная язва роговицы					
S_i	1.73	2.74	2.92	10.81	18.72
$(S_i/S_{CT})_j$	0.59	0.94	1.00	3.70	6.41
$(S_i/S_{CT})_j/(S_i/S_{CT})_k$	0.82	1.45	1.00	1.98	1.59
глаукома, осложненная гнойной язвой роговицы					
S_i	2.61	4.03	3.32	13.32	18.06
$(S_i/S_{CT})_j$	0.79	1.21	1.00	4.01	5.44
$(S_i/S_{CT})_j/(S_i/S_{CT})_k$	1.09	1.88	1.00	2.14	1.35

Как видно из рис. 4.5 изменения характеристических полос S_i/S_{CT} при наличии гнойной язвы роговицы хорошо коррелируют с состоянием здоровья пациентов. В зависимости от продолжительности лечения величины S_1/S_{CT} и S_2/S_{CT} стремятся к значениям в контрольной группе. Причем интенсивность этих характеристических полос изменяется немонотонно, принимая вид кривых «насыщения». Максимальные изменения происходят в первые 5 дней, и кривая выходит на плато в течение 10 дней. Наиболее простой рациональной функцией, адекватно описывающей динамику изменения указанных спектральных характеристик, является функция

$$y = a\tau / (b + \tau), \quad (4.3)$$

где $y = S_i/S_{CT}$, τ – время лечения в сутках, a и b – эмпирические коэффициенты (табл. 4.5).

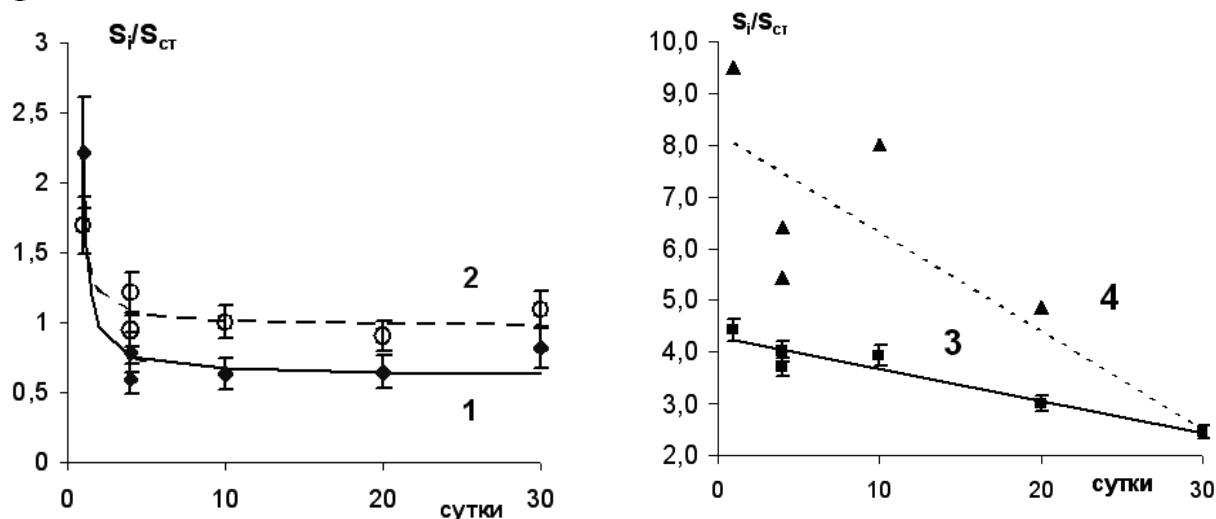


Рис. 4.5. Динамика изменения соотношения площадей пиков характеристических полос S_i/S_{CT} от времени при гнойной язве: 1 – S_1/S_{CT} ; 2 – S_2/S_{CT} ; 3 – S_4/S_{CT} ; 4 – S_5/S_{CT}

Таблица 4.5

Параметры корреляционных уравнений (4.4), характеризующих динамику изменений при протекании гнойной язвы роговицы
($n=6$, $P=0.95$)

Спектральный параметр	Тип тренда	a	b	Дисперсия, S	R
S_1/S_{CT}	(5.3)	0.620	-0.719	0.126	0.983
S_2/S_{CT}	(5.3)	0.966	-0.428	0.110	0.932
S_4/S_{CT}	(5.4)	4.29	-0.062	0.234	0.957
S_5/S_{CT}	(5.4)	8.23	-0.191	1.626	0.830

Неаддитивность изменений S_4/S_{CT} и S_5/S_{CT} от времени лечения, а значит и здоровья пациента, выражена не так четко. Вместе с тем обратно пропорциональные корреляции S_4/S_{CT} и S_5/S_{CT} от времени значимы и могут быть выражены простым линейным уравнением (табл. 4.5):

$$y = a + b \tau. \quad (4.4)$$

Рассмотрим результаты ИК-спектроскопических исследований больных вирусным кератитом (герпес) роговицы. Из рис. 4.6 следует, что изменения характеристических полос S_i/S_{CT} при вирусном кератите имеют свои особенности. За исключением величин S_5/S_{CT} , разница между острой фазой и стадией исхода выражена слабее, чем в случае гнойной язвы. В то время при наличии вирусного кератита отношение S_5/S_{CT} с высокой степенью аппроксимации описывается уравнением (4.4). Это указывает на то, что при вирусной инфекции и хроническом характере заболевания состав белковых фракций меньше отличается от состава в контрольной группе, и его изменения происходят иначе, чем при микробной инфекции.

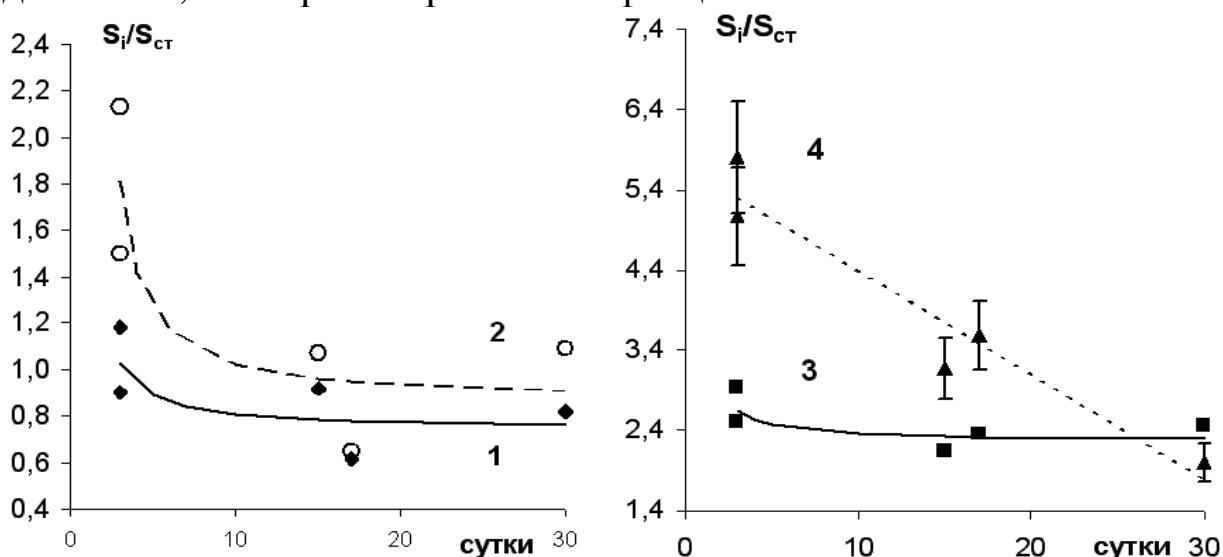


Рис. 4.6. Динамика изменения соотношения S_i/S_{CT} от времени при вирусном кератите: 1 – S_1/S_{CT} ; 2 – S_2/S_{CT} ; 3 – S_3/S_{CT} ; 4 – S_4/S_{CT}

Для нейротрофического кератита картина изменения ИК-спектральных характеристик отличается от динамики, наблюдаемой при кератите, вызванном герпесом (вирусная инфекция) и гнойной язвой (рис. 4.7, табл. 4.6). Нормализация белкового состава, если судить по изменениям S_i/S_{CT} , происходит также за 5-10 дней, однако все соотношения S_i/S_{CT} имеют четко нелинейный характер и адекватно описываются уравнением (4.4). Следует отметить, что в случае хро-

нического нейротрофического кератита отношения S_i/S_{CT} близки к отношениям в контрольной группе.

Таким образом, наши исследования показали, что в острой стадии заболевания содержание общего белка в СЖ обычно в 2.5 – 3 раза выше, чем у здоровых людей, а в случае хронических заболеваний и вирусного кератита различия ИК-спектров СЖ для острой стадии и стадии исхода выражены слабее, чем в случае гнойной язвы.

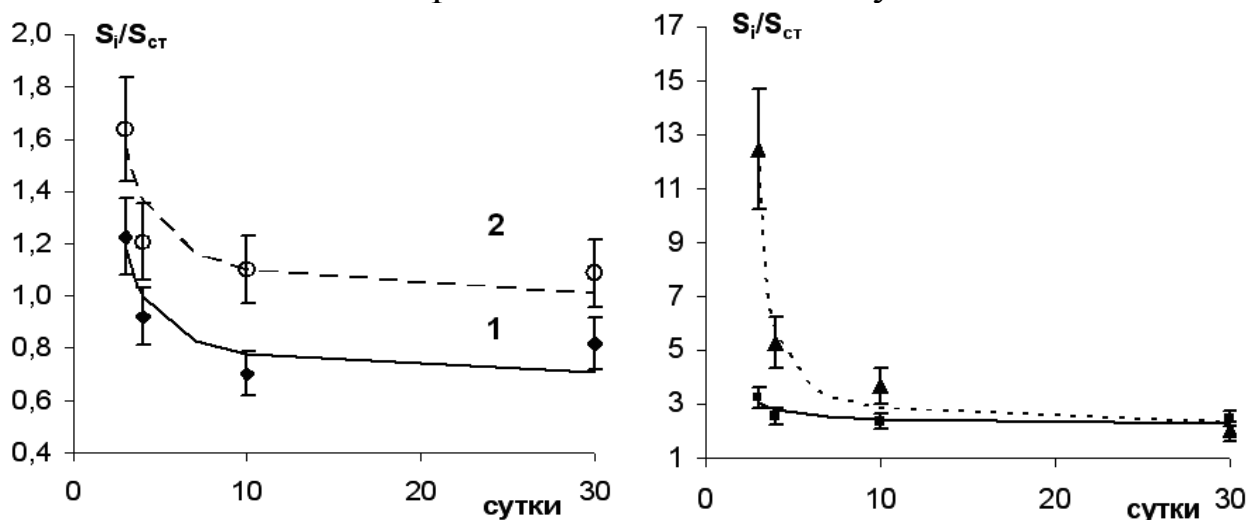


Рис. 4.7. Динамика изменения соотношения S_i/S_{CT} от времени при нейротрофическом кератите: 1 – S_1/S_{CT} ; 2 – S_2/S_{CT} ; 3 – S_4/S_{CT} ; 4 – S_5/S_{CT}

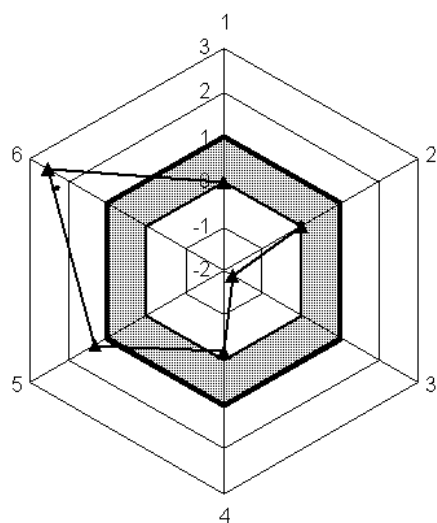
Таблица 4.6

Параметры корреляционных уравнений (4.4), характеризующих динамику изменений при протекании нейротрофического кератита роговицы ($n=4$, $P=0.95$)

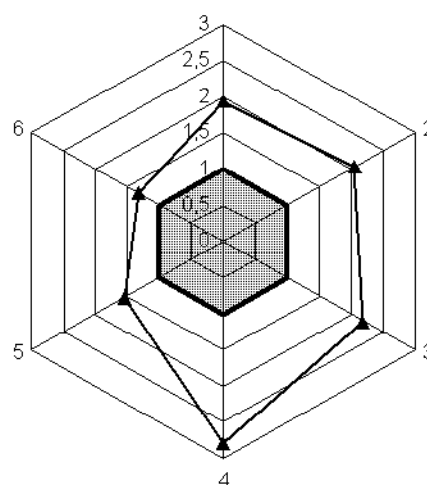
Спектральный параметр	a	b	Дисперсия, S	R
S_1/S_{CT}	0.676	-1.286	0.116	0.909
S_2/S_{CT}	0.971	-1.161	0.139	0.909
S_4/S_{CT}	2.218	-0.827	0.257	0.851
S_5/S_{CT}	2.132	-2.484	0.692	0.992

На рис. 4.8 представлены возможности «свертки» и визуализации ИК-спектроскопической информации с использованием лепестковых диаграмм. Как видно из этих рисунков, профили ЛД₆, полученные из данных ИКС для СЖ больных с разными заболеваниями и нормализованные по данным ИКС контрольной группы здоровых лиц различаются в зависимости от заболевания. Как показывают расчеты,

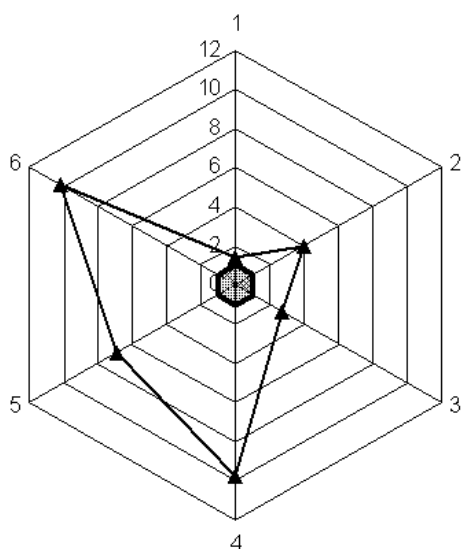
площадь $S_{\text{ЛД}}$ для растворов лизоцима прямо пропорционально зависит от концентрации лизоцима в выбранном диапазоне $S_{\text{ЛД}} = (12.58 \pm 1.03)C - (22.58 \pm 13.69)$, $R^2 = 0.99$.



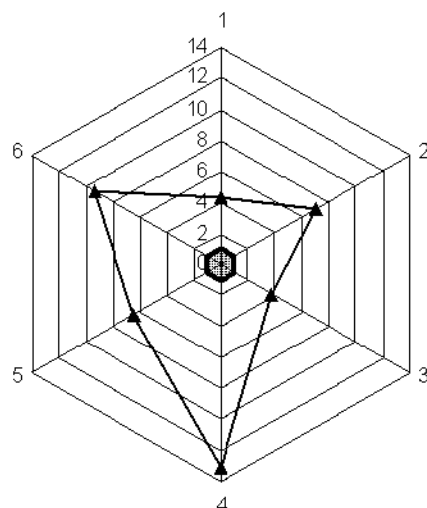
вирусный кератит



нейротрофический кератит



гнойная язва



глаукома, осложненная гнойной язвой

Рис. 4.8. ЛД₆, по осям которых отложены значения S характеристических полос ИК-спектров СЖ: 1 – 1259, 2 – 1403, 3 – 1452, 4 – 1548, 5 – 1649, 6 – 3301 см^{-1} (заштрихованная область – диапазоны значений S здоровой группы лиц)

Обобщенный показатель в виде ЛД демонстрирует свою универсальность при использовании для анализа мультисенсорного или

спектрального оптического сигнала и позволяет выполнять задачи количественного анализа.

В оболочке прикладного пакета программ Microsoft Office Access 2007 создана база данных «ИК-спектроскопия слезной жидкости», в которую включены данные по характеристическим полосам поглощения больных офтальмологическими заболеваниями и здоровых людей.

Анализ ИК-спектров слезной жидкости по разработанной методике предоставляет хорошие возможности для своевременной диагностики и прогнозирования течения патологического процесса в роговице. В этом плане эффективным является применение КК в виде ЛД, построенных на основе ИК-спектроскопических данных, которые позволяют оперативно диагностировать и контролировать динамику протекания офтальмологических заболеваний.

При определении общего содержания белка по ИК-спектрам становится возможным уменьшить объем пробы до нескольких микролитров, что важно при исследованиях ограниченных по объему проб слезной жидкости. К преимуществам ИК-спектроскопической методики относятся аппаратурно-простая пробоподготовка, экспрессность получения данных, их высокая информативность.

Свертка и визуализация спектральной информации в виде ЛД по интенсивности наиболее характеристических полос поглощения или по величинам спектральных соотношений является универсальным подходом и может быть рекомендована при разработке новых, совершенствовании, унификации и валидации существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления.

Глава 5. Цветометрические методики определения физиологически активных веществ в сырье, лекарственных средствах и биологических жидкостях

В настоящее время все более широкое применение в контроле качества фармацевтической, пищевой, технической продукции, растительного сырья и прочей продукции, обладающей определенной цветностью или меняющей цвет в зависимости от качества или сроков хранения (эксплуатации), находит цветометрический метод, в котором аналитическим сигналом служит электронное изображение, полученное с использованием цифрового устройства (фотоаппарат,

сканер и др.). Теоретическое обоснование и методология применения цифровых технологий в цветометрических измерениях достаточно полно описаны в [102,112,118,149,245,247,282-293, 295-316, 389]. Из различных моделей представления цвета для цветометрических измерений чаще всего выбирают цветовую схему *RGB*, а для разработки цветометрических методик используют регистрацию видеосигнала с помощью цифровой фотокамеры (ЦФК) и с помощью планшетных сканеров (ПС). ЦФК удобней применять в полевых условиях, но слишком темные растворы нежелательны для фоторегистрации. Для ЦФК целесообразно применение специального бокса, позволяющего унифицировать условия фотосъемки (рис. 5.1, 5.2). Кювета, заполненная пробой, устанавливается в бокс и регистрируется ее изображение. Для уменьшения паразитных засветок внутренняя поверхность бокса была покрыта чёрной матовой краской. Задняя стенка белого цвета служит диффузионным экраном. Для его освещения используют 2 галогеновые лампы общей мощностью 80 Вт. В боксе установлена подставка для оптических кювет с оптической толщиной от 10 до 100 мм. Условия съёмки: формат сохранения графической информации – JPEG, размер изображения – 1 МБ, вспышка – отключена, светочувствительность – 100 ISO или «Авто», параметры баланса белого – «галогеновые лампы».

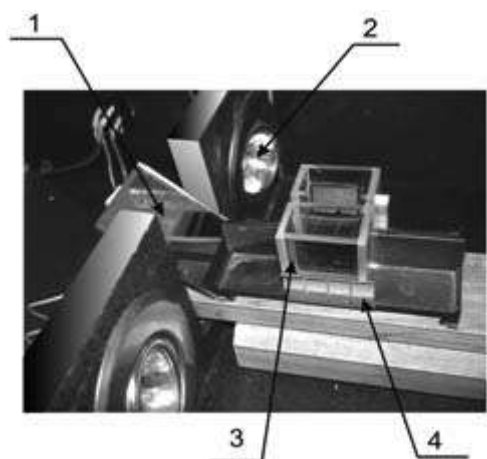


Рис. 5.1. Вид фотографического бокса: 1 – оборачивающее зеркало; 2 – лампы подсветки; 3 – кюветостеклянная кювета; 4 – кюветодержатель

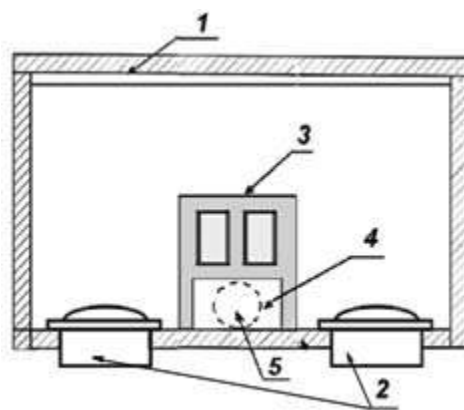


Рис. 5.2. Схема бокса: 1 – сменный экран; 2 – лампы подсветки; 3 – кюветодержатель, 4 – оборачивающее зеркало

Для получения изображений растворов с помощью такой установки можно применять не только кюветы, но и пробирки [149,363].

Что касается ПС, то для регистрации разбавленных растворов в больших кюветах необходим сканер со слайд-адаптером (рис.5.3). В работах [283,296-299,305-315] предложено использовать специально сконструированный кюветодержатель, в который помещается кювета с анализируемым раствором (рис. 5.4). Кюветодержатель состоит из светонепроницаемого корпуса и системы зеркал, что позволяет изменять направление освещения от слайд-адаптера через кювету с образцом к оптическому сенсору ПС. Использовать можно кюветы с оптической толщиной l в диапазоне 5-100 мм [149]. Условия сканирования: цветовой режим True Color (16.5 млн цветовых оттенков), шкала цветности RGB , оптическое разрешение 200 dpi. Полученные изображения передаются на ПК при помощи программного обеспечения ПС.



Рис. 5.3. Общий вид сканера с кюветодержателем

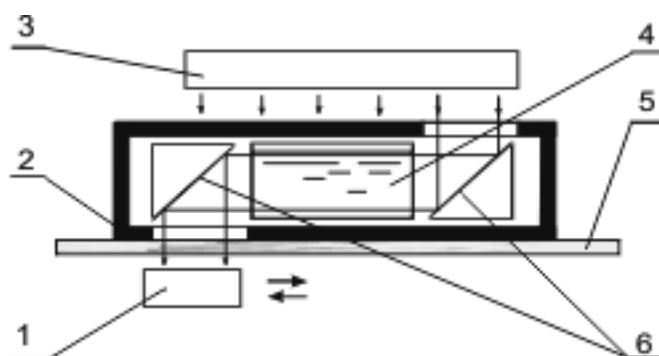


Рис. 5.4. Схема кюветодержателя для ПС: 1 – движущийся сенсор ПС; 2 – корпус; 3 – осветитель слайд-адаптера; 4 – кювета с анализируемым раствором; 5 – стекло ПС; 6 –оборачивающие зеркала

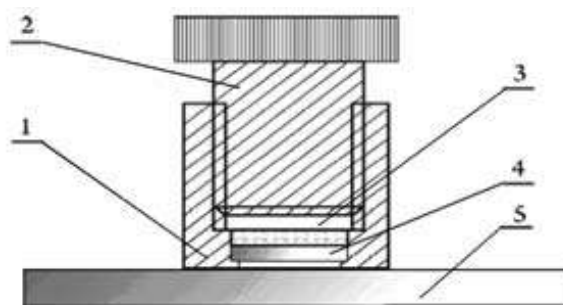


Рис. 5.5. Ячейка для определения цветности порошков на ПС:
1 – корпус ячейки, 2 – пуансон для уплотнения порошка, 3 – образец, 4 – стеклянное дно ячейки, 5 – стекло ПС.

Важными преимуществами ПС перед ЦФК являются встроенная система освещения с автоматической калибровкой баланса белого и чувствительности в каждом цикле сканирования. Файл изображения, полученный на ЦФК или ПС со слайд-адаптером, может быть автоматически проанализирован при помощи стандартного ПО, как по характеристикам цветности, так и по отражающей способности или светлоте.

При определении белизны и цветности таблетированных и порошкообразных лекарственных форм на ПС в работах [299, 311, 315] использовали цилиндрическую металлическую ячейку с прозрачным дном из оптического стекла (рис.5.5), куда помещали измельченные в агатовой ступке таблетки и проводили регистрацию с помощью ПС.

Файл изображения, полученный на ЦФК или ПС со слайд-адаптером, анализировали при помощи оригинальной программы, разработанной в среде математического пакета *Mathcad*. ПО позволяет автоматически проводить расчет средних значений яркости F_i компонент цветности в системе *RGB* для выбранного участка изображения в диапазоне 0-255 условных единиц. По значениям цветовых параметров строили градуировочную зависимость $F_i = a + bC$, где C – концентрация анализируемого вещества или цветное число. Исходными данными для программы являлись графические файлы в формате *JPG*. В координатах L, A, B цветовой системы *CIELAB* файлы обрабатывали с помощью программы *Adobe Photoshop*.

Межприборная воспроизводимость цветометрических измерений. При проверке цветометрических методик на предмет аппаратной зависимости авторами вышеизложенных сканерметрических и фоторегистрационных разработок [282-293, 295-316, 389] были получены цифровые изображения 8-12 эталонов цветов (образцы окрашенной бумаги) с помощью 5 ПС и 4 ЦФК разных фирм и провели статистическую обработку этих результатов (табл. 5.1, 5.2). Отдельно взятые цифровые устройства могут иметь, по всей видимости, различную чувствительность и систематические отклонения в цветопередаче с уклоном в красную, голубую или зеленую область. Этот эффект просматривается при анализе S_r интенсивностей R, G и B бумаги разных цветов. Например, для малиновой, сиреневой, голубой и оранжевой бумаги разброс интенсивностей минимален для компоненты R , но существенен для G и B . В то же время S_r для F_R возрастает для зеленой, коричневой, желтой, фиолетовой бумаги, а разброс интенсивностей F_G и F_B для упомянутых образцов незначителен.

Таблица 5.1

Воспроизводимость параметров цвета бумаги между 5 сканерами в шкале *RGB* для 8 образцов окрашенной бумаги

Сканер	Canon mp 211	HP g 4010	HP 3670	Canon mf 4018	HP 3800	X	S	ΔX	S_r
Цвет бум.	<i>G</i>								
зеленый	171	122	122	122	168	141	26.0	32.6	0.18
розовый	7	5	3	2	10	5.4	3.2	4.0	0.59
красный	60	25	25	25	59	38.8	18.9	23.7	0.49
желтый	255	228	228	228	254	238.6	14.5	18.2	0.06
коричневый	54	44	44	44	54	48	5.5	6.9	0.11
голубой	179	124	124	124	172	144.6	28.3	35.5	0.20
синий	40	30	30	30	41	34.2	5.8	7.2	0.17
белый	255	255	255	255	255	255	0.0	0.0	0.00
	<i>R</i>								
зеленый	2	0	2	1	1	1.2	0.8	1.0	0.70
розовый	249	238	247	248	249	246.2	4.7	5.8	0.02
красный	254	252	254	254	254	253.6	0.9	1.1	0.00
желтый	254	255	254	254	254	254.2	0.4	0.6	0.00
коричневый	127	103	125	114	115	116.8	9.7	12.1	0.08
голубой	1	1	1	0	1	0.8	0.4	0.6	0.56
синий	34	22	35	60	43	38.8	14.0	17.6	0.36
белый	254	255	254	255	254	254.4	0.5	0.7	0.00
	<i>B</i>								
зеленый	49	55	49	55	51	51.8	3.0	3.8	0.06
розовый	150	119	148	147	145	141.8	12.9	16.1	0.09
красный	18	2	19	20	19	15.6	7.6	9.6	0.49
желтый	15	1	14	5	14	9.8	6.4	8.0	0.65
коричневый	30	19	29	30	28	27.2	4.7	5.8	0.17
голубой	246	225	247	223	235	235.2	11.3	14.1	0.05
синий	125	119	124	110	115	118.6	6.3	7.8	0.05
белый	254	255	253	255	255	254.4	0.9	1.1	0.00
	Сумма <i>R+G+B</i>								
зеленый	222	177	173	178	220	194	24.7	31.0	0.13
розовый	406	357	395	395	404	391.4	19.9	24.9	0.05

Продолжение табл. 5.1

красный	332	279	298	299	332	308	23.3	29.2	0.08
желтый	524	484	496	487	522	502.6	19.2	24.0	0.04
коричневый	211	166	198	188	197	192	16.7	20.9	0.09
голубой	426	350	372	347	408	380.6	35.2	44.1	0.09
синий	199	171	189	200	199	191.6	12.4	15.5	0.06
белый	763	765	762	765	764	763.8	1.3	1.6	0.00

Таблица 5.2

Определение координат цветности в системе *RGB* на 4 ЦФК для 12 образцов окрашенной бумаги

ЦФК \ Цвет бумаги	Sony Cyber-Shot DSC-W55	Sam-sung L55W	Olym-pus M106 0	Niko n D30 00	\bar{x}	S	$\Delta\bar{x}$	S_r
<i>R</i>								
белый	255	242	218	211	231.5	17.8	28.5	0.08
малиновый	255	246	255	255	252.8	3.9	6.3	0.02
сиреневый	252	245	251	218	241.5	13.8	22.1	0.06
голубой	147	197	133	153	157.5	23.9	38.3	0.15
оранжевый	254	255	242	255	251.5	5.5	8.8	0.02
зеленый	207	218	132	163	180	34.5	55.2	0.19
желтый	255	252	218	249	243.5	14.8	23.8	0.06
коричневый	255	237	204	211	226.8	20.4	32.7	0.09
болотный	255	231	172	218	219	30.2	48.3	0.14
черный	218	227	166	138	187.4	36.7	58.8	0.20
фиолетовый	225	223	243	250	235.3	11.5	18.5	0.05
синий	221	228	203	168	205	23.2	37.2	0.11
<i>G</i>								
белый	255	231	221	213	230	15.8	25.3	0.07
малиновый	193	117	152	141	150.8	27.5	43.9	0.18
сиреневый	215	161	190	143	177.3	27.5	44.0	0.16
голубой	255	222	211	240	232	16.8	26.9	0.07
оранжевый	208	172	165	154	174.8	20.2	32.4	0.12
зеленый	252	231	199	224	226.5	18.9	30.3	0.08

Продолжение табл. 5.2

желтый	255	237	217	236	236.3	13.4	21.5	0.06
коричневый	224	177	162	160	180.8	25.8	41.3	0.14
болотный	241	192	162	187	195.5	28.6	45.8	0.15
черный	214	206	166	134	180	32.2	51.5	0.18
фиолетовый	197	108	160	147	153	31.8	50.9	0.21
синий	223	208	204	166	200.3	21.0	33.6	0.10
<i>B</i>								
белый	255	185	226	199	216.3	26.8	42.8	0.12
малиновый	195	59	189	164	151.8	54.8	87.6	0.36
сиреневый	249	174	223	186	208	29.7	47.6	0.14
голубой	250	200	255	255	240	23.2	37.1	0.10
оранжевый	133	107	157	108	126.3	20.6	32.9	0.16
зеленый	209	123	182	155	167.3	31.9	51.0	0.19
желтый	121	100	153	108	120.5	20.2	32.3	0.17
коричневый	189	114	146	131	145	27.8	44.5	0.19
болотный	136	95	126	105	115.5	16.3	26.1	0.14
черный	185	163	154	107	152.3	28.5	45.5	0.19
фиолетовый	204	154	188	166	178	19.3	30.9	0.11
синий	248	210	234	206	224.5	17.3	27.7	0.08
Сумма $R+G+B$								
белый	765	658	665	623	677.8	52.8	84.5	0.08
малиновый	643	422	596	560	555.3	82.4	131.8	0.15
сиреневый	716	580	664	547	626.7	66.9	107.0	0.11
голубой	652	619	599	648	629.5	21.7	34.7	0.03
оранжевый	595	534	564	517	552.5	29.7	47.6	0.05
зеленый	668	572	513	542	573.7	58.3	93.2	0.10
желтый	631	589	588	593	600.2	17.9	28.5	0.03
коричневый	668	528	512	502	552.5	67.3	107.7	0.12
болотный	632	518	460	510	530	62.9	100.7	0.12
черный	617	596	486	379	519.5	95.2	152.2	0.18
фиолетовый	626	485	591	563	566.2	51.9	83.1	0.09
синий	692	646	641	540	629.8	55.5	88.8	0.09

Установлено, что при интенсивности цветовых компонент больше 50 или при измерении суммы компонент $R+G+B$ как для

ЦФК, так и для ПС разброс относительно среднего имеет наименьшие значения, которые в целом характерны для большинства инструментальных методов анализа.

5.1. Контроль качества продукции по параметрам цветности

Цвет сырья, биотехнологической и фармацевтической продукции является одним из важнейших характеристик, включаемых в перечень контролируемых показателей в ГОСТ, ТУ, ТИ, ФС и другие нормативные документы.

Цвет окрашенных натуральных веществ, входящих в состав растительного сырья, наиболее изменчив и чувствителен к малейшим изменениям технологии получения и условиям хранения. Он является важным критерием качества натурального продукта и соблюдения технологической дисциплины при его переработке, поскольку количественно коррелирует с химической природой процессов, протекающих, например, при порче препарата. Интенсивность окраски при этом определяется визуально экспертным путем.

Большинство аналитических методик в лучшем случае предполагает сопоставление цвета аналита с цветом стандартного образца или цветовой шкалы.

Использование ЦФК и ПС для получения и оцифровки изображения с последующей оценкой на ПК параметров цвета более экономично, чем применение специализированных оптических и видеоденситометрических приборов. Так, стоимость ЦФК, пригодной для этих целей составляет 10-15 тыс. руб., ПС – 3-5 тыс., в то время как стоимость современных фотоколориметров составляет от 50 до 80 тыс. руб., а спектрофотометров до 300 тыс. руб.

Фотометрическая и цветометрическая методики анализа растворов, не отличаясь по стадиям пробоподготовки, различаются только способом регистрации отклика. В первом случае фотоколориметром детектируется оптическая плотность поглощенного света, а во втором – на ПС или ЦФК – суммарное цветовое различие образцов в единицах, принятых в той или иной цветовой модели.

Имея БД по цвету стандартных образцов, можно практически исключить субъективность оценки цвета, характерную для визуальных экспертиз. Для анализа параметров цвета пригодны как прозрачные, так и непрозрачные образцы, в твердом и жидком состоянии.

5.1.1. Количественный контроль цветности воды

В настоящее время актуальной задачей является скрининг проб во внелабораторных условиях. Например, важна возможность методики контроля реализовываться «в поле» – в случае скрининга объектов окружающей среды или в домашних условиях, когда нужно контролировать кровь или мочу, или быстро оценить качество водопроводной воды. Ведь предварительная подготовка большого числа проб и их транспортирование – трудозатратное дело. Рассмотрим, какой потенциал в этом плане имеет ЦМ.

Природная и водопроводная вода. Природная вода представляет собой сложную многокомпонентную систему, которая может содержать большое количество органических и неорганических примесей, в том числе потенциально опасных для человека. Одним из параметров, позволяющим контролировать качество воды является цветность. Цветность воды может быть обусловлена наличием природных соединений (например, солей гуминовых кислот) или окрашенных веществ, попавших в нее в результате техногенного загрязнения. У природных вод желтоватых и коричневых оттенков цветность вызвана присутствием гуминовых веществ и соединений трехвалентного железа. Гуминовые вещества – органические соединения, образующиеся в процессе химического и биохимического разложения остатков растений. Переходя из почвы в воду, они ее окрашивают, интенсивность окраски зависит от их концентрации. Железо практически всегда встречается в поверхностных и подземных водах; концентрация его зависит от геологического строения и гидрологических условий бассейна. Соединения железа в воде присутствуют в растворенной, коллоидной и нерастворенной форме. Повышенное содержание железа в воде говорит о загрязнении ее производственными сточными водами. Высокое содержание железа вызывает отложение осадка в трубах и их зарастание, ухудшает вкус питьевой воды. Водопроводная вода, как правило, окрашена слабо. Интенсивная окраска сточных вод указывает на наличие большого количества, например, красителей – отходов, сброшенных текстильными предприятиями [286].

В настоящее время для оценки цветности воды чаще всего используют визуальное определение на основе сопоставления с различными шкалами: платиново-кобальтовой или бихромато-кобальтовой [158]. Реже используется фотоколориметрический метод анализа [317]. В цветометрических исследованиях цветности воды [286, 316]

также применялись стандартные растворы [158], в которых цветность выражена в градусах бихромато-кобальтовой шкалы. В небольшом объеме дистил. воды растворяли 0.0875 г $K_2Cr_2O_7$ и 2.0 г $CoSO_4 \cdot 7H_2O$. Растворы солей смешивали, прибавляли 1 мл конц. H_2SO_4 ($\rho=1.84$) и доводили водой до 1 л. 1 мл основного раствора соответствовал 5 градусам цветности. Для приготовления рабочих растворов смешивали основной раствор с раствором, содержащим 1 мл H_2SO_4 ($\rho=1.84$) в 1 л, доводя общий объем раствора до 100 мл. Например, для приготовления раствора, имеющего цветность 20° , смешивали 4 мл основного раствора с 96 мл раствора H_2SO_4 . Дистиллированную воду считали полностью бесцветной. При визуальном определении цветности воды заполняли растворами сравнения бесцветные пробирки высотой 20 см. Цветность образца принимали равной цветности стандартного раствора, имеющего наиболее близкую окраску. Для регистрации параметров цветности использовали ПС со слайд-адаптером и фотоколориметр КФК-3. При фотоколориметрическом определении цветности на КФК-3 измеряли D стандартных растворов и образцов воды при $\lambda=345$ нм в кюветах с $l=50$ мм. Строили градуировочный график, по которому находили значение цветности образца. Для ЦМ определения цветности воды регистрацию видеосигнала проводили на ПС в кювете с $l=100$ мм.

Установлено [286,316], что для градуировочной зависимости, найденной с помощью ПС, наиболее подходящей является функциональная зависимость $F_B=f(X)$, где X – градусы цветности, а F_B – интенсивность синей компоненты. В диапазоне $X=0-60$ получена линейная зависимость интенсивности синей компоненты $F_B=(252.3\pm0.6)-(0.81\pm0.02)X$ (рис.5.6). Для этой зависимости характерна высокая степень аппроксимации ($R^2>0.99$). Для измерений на КФК-3 на основании спектра поглощения выбрали длину волны $\lambda=345$ нм [286, 305, 316]. На рис. 5.7 представлена градуировочная зависимость оптической плотности от цветности воды, выраженной в градусах бихромато-кобальтовой шкалы $D=(0.0037\pm0.0003)X$, $R^2=0.97$. В табл. 5.3-5.4 приведены результаты измерения цветности нескольких проб водопроводной и природной воды [286, 316] с помощью цветометрической и фотоколориметрической методик.

По ГОСТ 3351-74 и СанПиН 2.1.4.559-96 на питьевую воду цветность воды X не должна превышать 20 условных градусов цветности. Как видно, по цветности пробы водопроводной воды, взятой в промышленных районах г. Воронежа, зачастую не удовлетворяют

требованиям нормативной документации. Повышенная цветность свидетельствует, по всей видимости, о повышенном содержании железа.

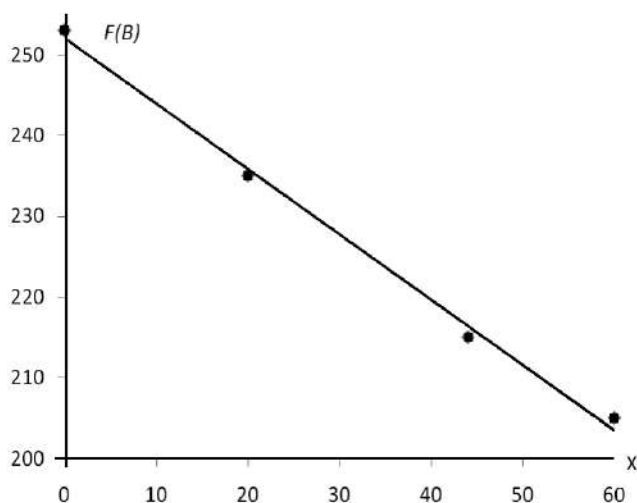


Рис. 5.6. Зависимости интенсивности компоненты B от градусов цветности воды X

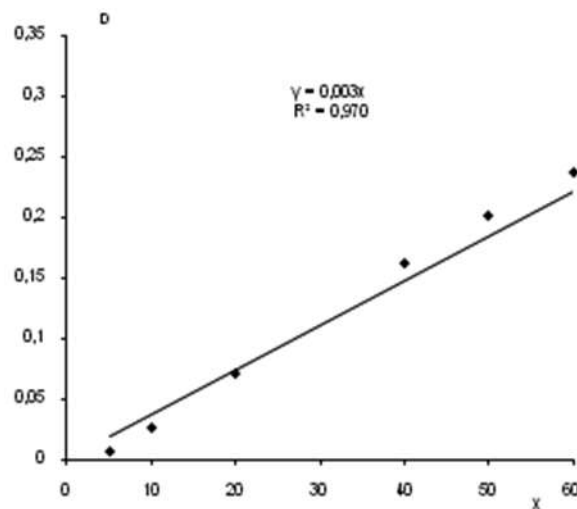


Рис. 5.7. Зависимость оптической плотности от цветности воды, выраженной в градусах би-хромато-кобальтовой шкалы

Таблица 5.3
Цветность водопроводной воды из разных районов г. Воронежа

Район г. Воро- нежа Цвет- ность воды в градусах	Коминтерновский		Левобережный		Центральный	
	ПС	КФК-3	ПС	КФК-3	ПС	КФК-3
декабрь 2007 г.	14.9±1.3	16.2±0.9	16.7±1.6	20.1±1.0	23.9±2.1	16.3±0.7
январь 2008 г.	14.9±1.3	16.2±0.9	13.1±1.2	21.9±1.0	23.9±2.1	16.2±0.7
февраль 2008 г.	17.5±1.5	17.8±1.0	19.3±1.7	25.4±1.2	16.6±1.5	18.1±0.8
март 2008 г.	22.5±1.7	17.8±1.0	24.3±2.1	21.4±1.2	11.6±1.1	8.1±0.3
апрель 2008 г.	22.7±1.7	14.7±0.8	20.2±1.9	14.3±0.7	23.4±2.1	19.7±0.8

Таблица 5.4

Цветность воды из природных источников

Место отбора проб	ПС	КФК-3
родник, сан. им. Горького, г. Воронеж	1.1±0.1	0.8±0.1
колодец, Воронежская обл., г. Россошь	12.9±1.1	6.2±0.3
р. Чамлык, Липецкая обл.	10.3±0.9	5.4±0.2
р. Битюг, Липецкая обл.	35.2±2.8	31.1±0.6
родник, Липецкая обл., Добринский р-н, с. В. Чамлык	0.2±0.1	0.3±0.1
родник, Липецкая обл., с. Поддубовка	14.7±1.3	8.4±0.3

Таблица 5.5

Интенсивность цветовых компонент $F(R,G,B)$ образцов воды для инъекций, полученная с применением ПС со слайд-адаптером

Фирма-производитель	R	G	B
Элара	234.1±0.6	245.5±0.6	237.1±0.6
Микроген	233.3±0.7	245.3±0.7	241.4±0.6
Мосхимфарм	231.0±1.3	247.2±1.1	249.2±0.6
Новосибхимфарм	234.5±1.3	244.4±1.11	237.3±0.6
Биохимик	235.2±1.1	254.2±0.7	250.0±0.7

Таблица 5.6

Интенсивность цветовых компонент $F(R,G,B)$ образцов воды для инъекций, полученная регистрацией с помощью ЦФК

Фирма	R	G	B
Элара	235.2±1.1	244.4±1.3	236.3±1.1
Микроген	232.3±0.6	244.4±1.1	239.4±0.6
Мосхимфарм	230.5±1.3	247.2±1.3	245.5±0.6
Новосибхимфарм	232.1±0.6	242.3±0.6	235.4±0.7
Биохимик	233±0.6	246±1.1	247.1±0.7

В природных источниках качество воды по цветности близко к качеству дистиллированной воды, в то время как речная вода (р. Битюг) имеет заметно выраженную цветность.

Была определена цветность воды для инъекций (табл. 5.5-5.7). Для регистрации использовали не только ПС со слайд-адаптером, но и ЦФК. Для ЦФК найдено градуировочное уравнение $F_B=(250.1\pm0.57)-(0.75\pm0.03)X$. Данные по цветности воды, получен-

ные с помощью ПС и ЦФК хорошо согласуются между собой, но по сравнению с фотоколориметрической методикой указывают на более высокий уровень цветности проб. Вместе с тем, видно, что все пробы воды для инъекций удовлетворяют требованиям СанПиН 2.1.4.559-96, методики ЦМ позволяют количественно отличить качество образцов проб воды.

Таблица 5.7

Значения цветного числа образцов воды для инъекций разных производителей, определенные с помощью ПС и ЦФК

Фирма-производитель	Градус цветности		
	ПС	ЦФК	КФК-3
Элара	18.8±1.8	18.4±1.8	12.5±0.8
Микроген	13.5±1.2	14.3±1.3	7.7±0.5
Мосхимфарм	3.8±0.4	6.1±0.5	3.4±0.3
Новосибхимфарм	18.5±1.7	19.6±1.8	12.5±0.3
Биохимик	2.8±0.3	4.0±0.3	2.3±0.2

Таким образом, измерение цветности воды с помощью ЦМ по достоверности и объективности, безусловно, превосходит визуальное определение, но по точности уступает фотоколориметрической.

5.1.2. Определение цветности растворов водорастворимых витаминов

Окраску жидкостей в соответствии с Государственной Фармакопеей [169] определяют визуально путем сравнения с соответствующими эталонами. В общую фармакопейную статью (ФС) включены методы контроля качества лекарственных средств по показателям «цветность» и «цветность раствора». Цветность является условно принятой количественной характеристикой для жидкостей, имеющих незначительную окраску.

Для визуальной оценки окраски жидкостей в зависимости от интенсивности в области коричневых, желтых и красных цветов используют один из 2 методов, описанных в ФС. Окраска 2 растворов совпадает (при определенном источнике света), если их спектры поглощения и отражения идентичны и наблюдатель не замечает разницы между ними.

Метод 1. Испытания проводят в одинаковых пробирках из бесцветного, прозрачного, нейтрального стекла с внутренним диаметром около 12 мм, используя равные объемы – 2.0 мл испытуемой жидкости и воды или растворителя, или эталона сравнения, описанного в статье. Сравнивают окраску в дневном отраженном свете, горизонтально (перпендикулярно оси пробирок) на матово-белом фоне (эталонны 1-3).

Метод 2. Испытания проводят в одинаковых пробирках из бесцветного, прозрачного, нейтрального стекла с внутренним диаметром от 15 до 25 мм, используя равные слои высотой 40 мм испытуемой жидкости и воды, или растворителя, или эталона сравнения, описанного в статье. Сравнивают окраску в дневном отраженном свете сверху вдоль вертикальной оси пробирок на матово-белом фоне (эталонны 4-9).

Эталонные растворы готовят путем смешения исходных растворов желтого цвета (на основе $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), красного цвета (на основе $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) и синего цвета (на основе $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). В табл. 5.8-5.9 представлены результаты определения параметров цветности эталонных растворов, приготовленных по ФС для красного и желтого цвета. Данные, приведенные на рис. 5.8 и 5.9, позволяют выбрать для цветометрического контроля красных растворов интенсивность компоненты R (линейно уменьшается в регламентируемом диапазоне) или компоненты B (линейно возрастает), а для контроля желтых растворов пригодны только F_B .

Таблица 5.8

Интенсивность цветовых компонент $F(R,G,B)$ для эталонных растворов красного оттенка (фармакопейная шкала R). Метод сканерметрии

Градус цветности красных эталонных растворов (№ эталона)	R	G	B
1	252.1±0.6	203.1±0.6	103.2±0.6
2	234.4±0.6	189.5±0.6	115.5±0.6
3	220.2±1.1	188.3±0.6	123.6±0.6
4	206.2±0.5	206.4±0.6	134.4±0.7
5	193.3±0.6	213.7±0.7	146.3±0.6
6	180.2±1.3	213.4±1.3	157.5±1.1
7	168.4±1.3	215.2±1.1	167.6±0.6

Сканерметрические измерения позволяют давать объективную, не зависящую от «самочувствия» эксперта, количественную оценку окраски жидкостей. Кроме того, периодичность этапа подготовки эталонных растворов при проведении анализа можно сократить (срок хранения эталонных растворов ограничен, а некоторые применяются только свежеприготовленными). Цифровые изображения практически «не портятся» при хранении на электронном носителе.

Таблица 5.9

Интенсивность цветовых компонент $F(R,G,B)$ для эталонных растворов желтого оттенка (фармакопейная шкала Y). Метод сканерметрии

Градус цветности желтых эталонных растворов	R	G	B
1	207.2±1.1	188.3±1.3	2.1±1.1
2	202.1±0.6	189.4±0.6	24.2±1.11
3	203.3±0.6	190.5±0.6	56.5±0.55
4	197.4±0.6	190.8±0.6	88.4±0.68
5	199.4±0.7	204.7±0.6	114.1±0.55
6	200.5±1.1	212.9±1.3	135.2±1.11
7	203.2±0.6	215.5±0.6	168.3±0.68

Таблица 5.10

Интенсивность цветовых компонент $F(R,G,B)$ образцов витаминов. Метод сканерметрии, $n=5$, $P=0.95$

Препараты	R	G	B
Цианокобаламин, Дальхимфарм, г. Хабаровск	190.2±0.6	43.0±0.6	23.3±0.6
Цианокобаламин, Борисовский ЗМП, г. Борисов, Беларусь	186.5±0.7	39.1±0.6	18.2±0.6
Цианокобаламин, Ереванский витаминный завод, г. Ереван, Армения	176.4±0.6	34.4±0.6	15.1±0.5
Рибофлавин, Уфимский витаминный завод, г.Уфа	175.2±0.6	121.2±0.6	2.0±0.5

С помощью ПС и ЦФК оценим цветность образцов препаратов витаминов B_{12} (цианокобаламина) и B_2 (рибофлавина) различных производителей по желтой шкале. Результаты измерений приведены в табл.5.10.-5.11. Параллельные измерения ($n=5$, $P=0.95$) по определе-

нию цветности образцов витаминов ЦМ методиками с применением ПС и ЦФК показали хорошую воспроизводимость. Визуально все образцы витамина В₁₂ показали соответствие эталонному образцу № 2, а рибофлавина – № 1.

Таблица 5.11

Интенсивность цветовых компонент F(R,G,B) образцов витаминов.
Метод фоторегистрации, $n=5$, $P=0.95$

Препараты	<i>R</i>	<i>G</i>	<i>B</i>
Цианокобаламин, Борисовский ЗМП, г. Борисов, Беларусь	188.2±0.7	42.3±0.7	22.0±0.6
Цианокобаламин, Ереванский витаминный завод, г. Ереван, Армения	185.5±0.6	40.0±0.6	19.2±0.6
Цианокобаламин, Борисовский ЗМП, г. Борисов, Беларусь	175.3±0.6	35.0±0.6	17.2±0.5
Рибофлавин, Уфимский витаминный завод, г.Уфа	172.1±0.7	118.7±0.6	1.0±0.5

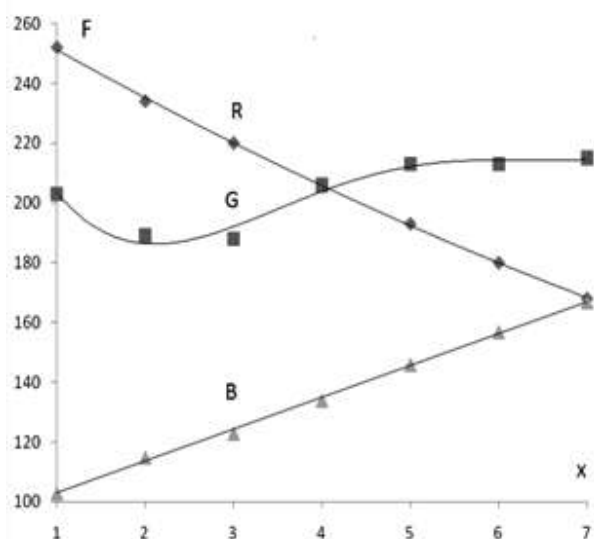


Рис. 5.8. Зависимости интенсивности компонент от градусов цветности эталонных растворов красного оттенка. Сканерметрические измерения

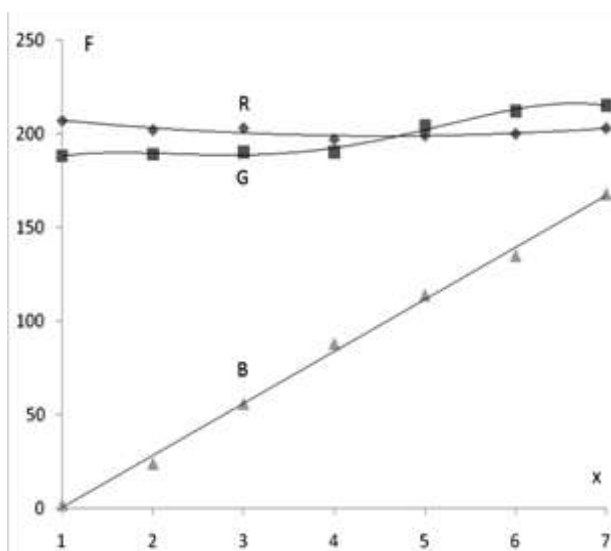


Рис. 5.9. Зависимости интенсивности компоненты F_B от градусов цветности эталонных растворов желтого оттенка. Сканерметрические измерения

Таким образом, методики ЦМ подтвердили визуальную экспертизу, но выявили различия в интенсивности до 25% по компоненте *B* для 3 визуально равноценных препаратов. Этот диапазон интенсивности компоненты может быть нормирован и использоваться как численный критерий цветности при предварительной оценке качества.

5.1.3. Определение цветности растительных масел

В фармацевтической промышленности масла растительного и природного происхождения используются в качестве основы для приготовления мазей, эмульсий, суспензий, масляных растворов и применяются сами как системы, содержащие БАВ. Интенсивность окраски (цветное число) рафинированных масел обратно пропорциональна степени их очистки. Цветное число *J* – безразмерная величина в диапазоне от 0 до 100 – определяется путем сравнения интенсивности окраски исследуемого масла с окраской стандартных растворов йода. В [149,282,301,303] цветное число определяли как с помощью ПС, так и ЦФК.

Для определения готовили цветную шкалу стандартных водных растворов йода в КИ [157]. Для этого одну часть дважды возогнанного йода (0.24-0.26 г) и 2 части КИ (0.50 г) отвешивали в стаканчике с притертой пробкой и растворяли в 10 мл воды. Полученный раствор переносили в мерную колбу вместимостью 250 мл и постепенно доливали водой до метки.

Титр раствора устанавливали по раствору 0.01 моль/л $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Затем отбирали некоторый объем раствора, прибавляли к нему дистиллированную воду в таком количестве, чтобы стандартный раствор содержал точно 100 мг йода в 100 мл. Эталоны хранили в темном месте.

При визуальном определении цветности в пробирку наливали профильтрованное масло и сравнивали интенсивность его окраски с окраской стандартных растворов. Исследования проводили в проходящем и отраженном дневном свете, либо при свете матовой электрической лампочки.

Цветность масла выражали цветным числом эталона, дающего при сравнении одинаковую окраску [143]. При фотоколориметрическом определении цветности масел стандартными растворами использовали оптическую кювету $l=20$ мм, оптическую плотность растворов

снимали на КФК-3 при $\lambda=450$ нм. Затем строили градуировочный график, по которому находили значение цветного числа. В случае цветометрического определения цветности масел регистрацию аналитического сигнала проводили в оптических кюветах $l=20$ мм на ЦФК или ПС со слайд-адаптером, затем проводили анализ изображения в программах *Adobe Photoshop* и *Mathcad*.

По полученным данным строили зависимости интегральной характеристики цвета S_F , или интенсивности отдельной компоненты F_i от эталонных величин J (рис. 5.10–5.11).

Установлено, что для определения цветного числа растительных масел пригодна как S_F , так и интенсивность компоненты F_B , которая важна, если необходимо определить с большой точностью цветное число рафинированных масел с цветным числом $J \leq 30$. Для темных масел предпочтение следует отдать интегральной цветности S_F .

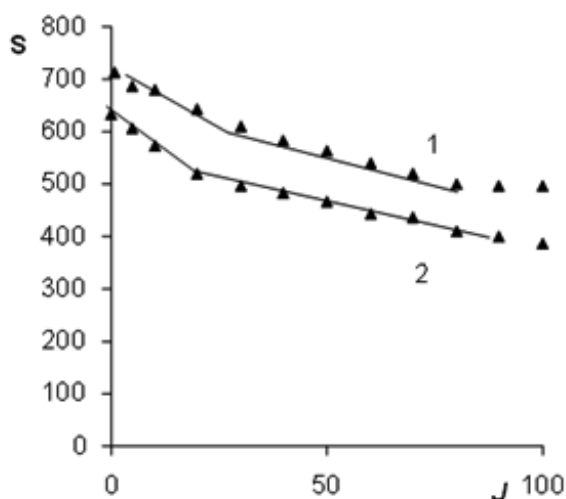
Зеленая компонента G также может быть использована, особенно при контроле темных масел, содержащих хлорофилл или госсипол. Для ПС по этой компоненте наблюдается тесная линейная корреляция $F_G=f(J)$ во всем диапазоне цветных чисел от 0 до 100 (табл. 5.12).

В целом, в диапазоне цветного числа от 0 до 100 интенсивности параметров цветности S_F , F_i изменяются нелинейно, поэтому выделяли линейные диапазоны ($J=1-30$, $20-80$) и строили градуировочные зависимости $F_i=a-bJ$, где J – цветное число для растительных масел по йодной шкале.

Сопоставление данных, полученных с помощью ЦФК и ПС, показало (рис. 5.11а и 5.11б), что они отличаются друг от друга систематическим отклонением, обусловленным техникой регистрации аналитического сигнала.

На рис. 5.12. представлен градуировочный график для фотоколориметрического определения цветного числа. Линейный диапазон для определения цветного числа находится в области $J=0-40$.

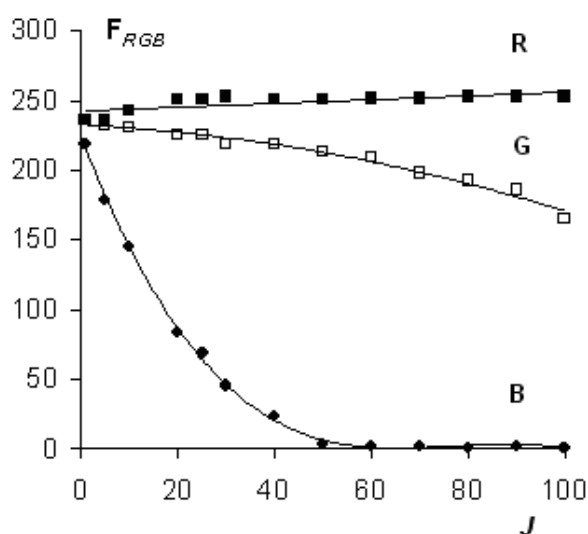
Параллельные опыты по определению цветного числа растительных масел разными методиками (табл. 5.13 и 5.14) показали хорошую воспроизводимость, фотографическая и сканерметрическая методики характеризуются величиной относительного стандартного отклонения S_r не более 8 %, как и большинство инструментальных методов.



а)

Рис. 5.10. Зависимости интегральной цветности S_F стандартных образцов от цветного числа по йодной шкале:

1 – регистрация на ПС,
2 – регистрация на ЦФК



б)

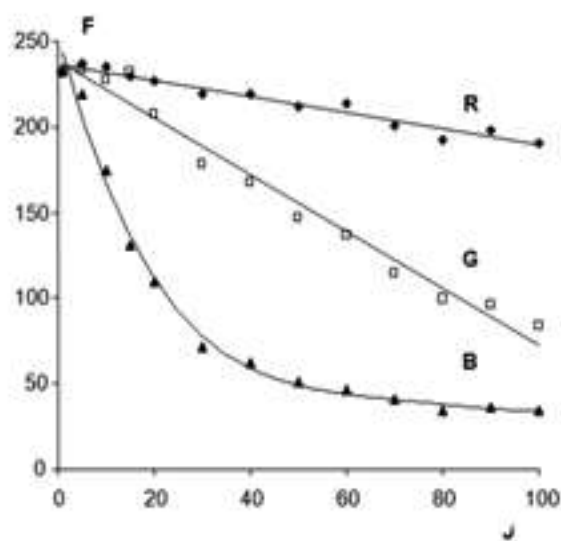


Рис. 5.11. Зависимости интенсивности компонент F_i от величины цветного числа J по йодной шкале: а – регистрация на ЦФК, б – регистрация на ПС

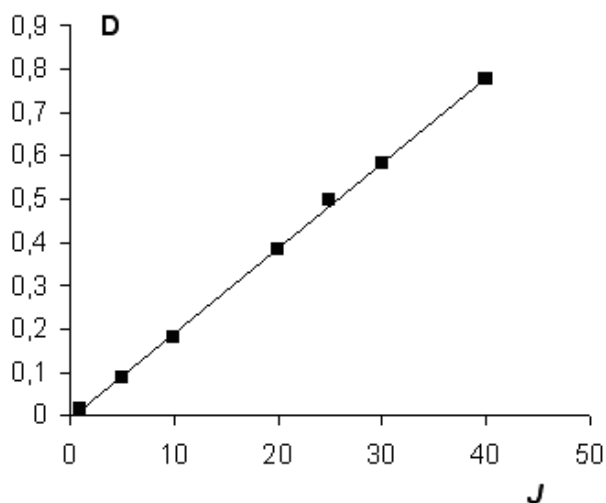


Рис. 5.12. Градуировочный график определения цветного числа J по величине оптической плотности на КФК-3, $\lambda=450$ нм, $D=(0.019 \pm 0.001)J$, $R^2=0.995$

Таблица 5.12

Градуировочные уравнения для определения цветного числа цветного числа растительных масел $y=a+bJ$ ($n=4-6$, $P=0.95$)

Способ регистрации	Диапазон цветных чисел	Градуировочное уравнение	R^2
ЦФК	1–20	$S_F=(633.4\pm1.5)-(5.65\pm0.13)J$	0.999
	20–80	$S_F=(553.1\pm5.6)-(1.77\pm0.11)J$	0.983
	0–30	$F_B=(218.9\pm6.9)-(8.67\pm0.62)J$	0.980
ПС	1–20	$S_F=(709.8\pm5.0)-(3.31\pm0.44)J$	0.965
	20–80	$S_F=(683.5\pm4.88)-(2.35\pm0.09)J$	0.993
	0–30	$F_B=(249.5\pm1.4)-(2.70\pm0.08)J$	0.997
	1–100	$F_R=(236.5\pm1.7)-(0.47\pm0.03)J$	0.955
	1–100	$F_G=(239.0\pm4.1)-(1.67\pm0.08)J$	0.978

Таблица 5.13

Результаты определения цветного числа J визуальным методом, с помощью ПС, ЦФК и КФК-3 для образцов подсолнечного масла из разных партий (диапазон $J=1-20$, $n=5$, $P=0.95$)

Образец	Методика определения						
	Визуально	ПС		ЦФК		КФК-3	
	J	J	S_r	J	S_r	J	S_r
1	5	5.7 ± 0.2	0.04	7.2 ± 0.4	0.04	5.5 ± 0.2	0.02
2	5	4.5 ± 0.2	0.04	6.5 ± 0.5	0.07	4.9 ± 0.1	0.02
3	5	4.4 ± 0.1	0.02	6.4 ± 0.6	0.08	4.5 ± 0.2	0.05

Таблица 5.14

Результаты определения цветного числа J визуальным методом, с помощью ПС и КФК-3 для образцов масел из разных партий

Название масла	Методика определения		
	Визуально	КФК-3	ПС
Вазелиновое ¹	5	5.8 ± 0.2	7.3 ± 0.3
Вазелиновое ²	5	6.9 ± 0.3	5.1 ± 0.2
Персиковое ¹	5	5.5 ± 0.2	4.9 ± 0.2
Персиковое ²	15	23.5 ± 1.2	18.5 ± 0.8
Персиковое ³	25	31.3 ± 1.5	26.1 ± 0.9
Миндальное ¹	5	5.8 ± 0.2	5.2 ± 0.2
Миндальное ²	25	22.3 ± 1.2	22.7 ± 1.4

Примечание:^{1 2 3} – образцы разных производителей.

Оценка правильности разработанных ЦМ, проведенная с помощью простого теста Стьюдента [318], показала, что суммарная неучтенная систематическая погрешность для измерений с помощью ПС составила 3.1% ($n=5$; $P=0.95$; $t_{табл}=2.78$). Для ЦФК суммарная неучтенная систематическая погрешность была равна 5.4% ($n=5$; $P=0.95$; $t_{табл}=2.78$). Применение F -критерия и точного теста Стьюдента для сравнения полученных разными методиками значений цветности показало, что результаты, полученные с помощью ЦФК, значимо отличны от фотоколориметрической методики. Результаты измерений на ПС и КФК-3 статистически одинаковы.

5.1.4. Определение цветности водных и водно-этанольных растворов антоциановых пигментов

Антоциановые пигменты (АП) являются одними из самых распространенных в природе водорастворимых пигментов, имеющими разнообразные оттенки от розового до черно-фиолетового. АП получили широкое применение в качестве составляющих БАД, т.к. оказывают положительное терапевтическое воздействие [319], актуальным является контроль качества антоцианосодержащей продукции, которая часто представлена в виде водных или водно-этанольных концентратов.

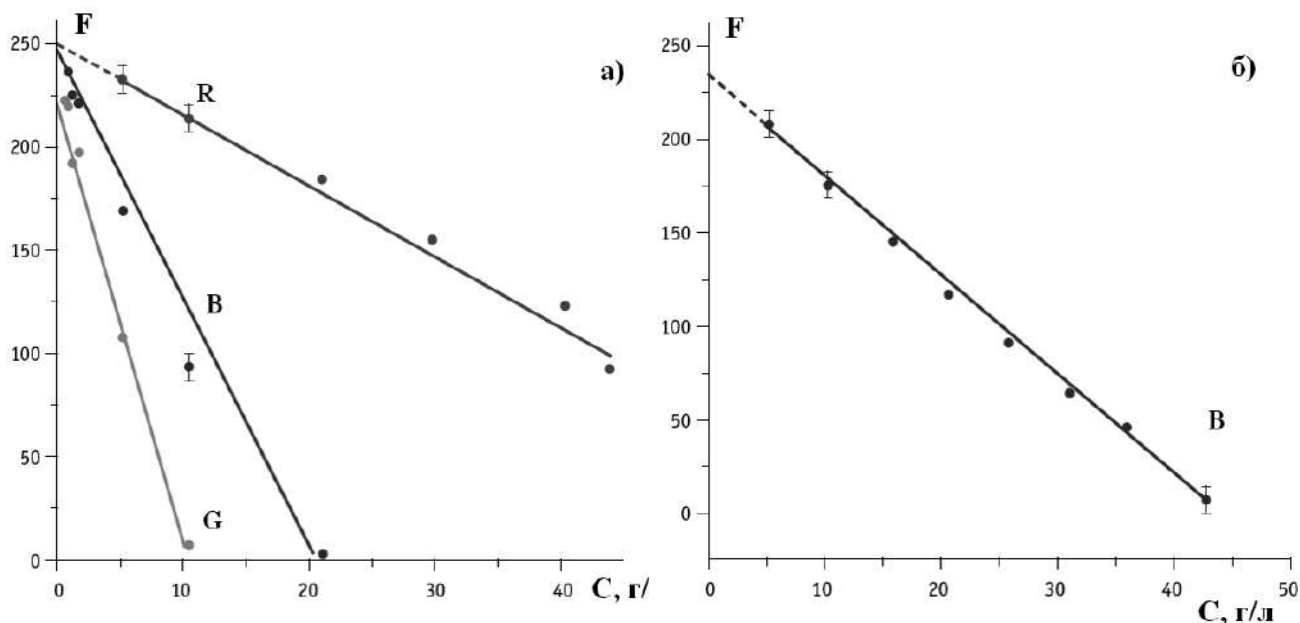


Рис. 5.13. Градуировочные графики для нахождения концентрации АЦ по параметрам цветности в водно-этанольных (а) и водных растворах (б)

В [285] предложено определение антоциановых пигментов в водных и водно-этанольных растворах. Водные и этанольные растворы АП готовили одинаково как для получения градуировочной зависимости оптической плотности от концентрации, так и для ЦМ. Концентрацию АП в исходном растворе определяли по раствору сернокислого кобальта [155]. Для этого 20 г $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ растворяли в мерной колбе на 1000 мл. Раствор соответствует по интенсивности окраски содержанию 22 мг красящего вещества (энина). Содержание АП в растворе рассчитывали по формуле $C=22D_2/mD_1$, где C – концентрация АП, г/л, D_1 – оптическая плотность раствора сернокислого кобальта, $\lambda=490$ нм; D_2 – оптическая плотность испытуемого раствора АП, $\lambda=540$ нм; m – масса навески АП, г. Серию растворов для построения градуировочных графиков готовили разбавлением из раствора с концентрацией АП равной 45 г/л. Параметры цветности (как и D) определяли в кювете с $l=20$ мм.

На рис. 5.13 приведены градуировочные графики, полученные при цветометрических измерениях водных и этанольных растворов АП [285]. С ростом концентрации АП в водно-этанольных растворах от 0 до 45 г/л значения интенсивностей компонент цветности F_i уменьшаются. В диапазонах $C=1-10$ г/л для компоненты G , 1-20 г/л для компоненты B и 5-30 г/л для компоненты R можно выделить отрезки, близкие к линейным и использовать их для градуировки (см. табл. 5.15). Для водных растворов АП интенсивность компонент F_G и F_B практически линейно убывает с увеличением концентрации во всем диапазоне.

Таблица 5.15

Градуировочные зависимости $F_i=a-bC$ для определения общей концентрации АП каркаде в водных и этанольных растворах

Раствор	Диапазон C , г/л	Градуировочное уравнение	R^2
водно-этанольный	5-45	$F_R=(252\pm5)-(3.38\pm0.19)C$	0.984
	1-10	$F_G=(233\pm6)-(21.78\pm1.11)C$	0.991
	1-20	$F_B=(246\pm11)-(12.21\pm1.18)C$	0.955
водный	5-43	$F_G=(225\pm3)-(5.09\pm0.07)C$	0.992
	5-43	$F_B=(231\pm3)-(5.29\pm0.13)C$	0.987

В случае растворов АП линейная область цветометрических

градуировок шире, чем фотоколориметрических, поэтому не требуется предварительное разбавление. Так, концентрацию АП в водных растворах можно определять по аналитической функции F_G (табл. 5.15), рабочий диапазон $C=3-43$ г/л. При определении на КФК-3 этот диапазон ограничен более низкими концентрациями от 1 до 10 г/л (табл. 5.16).

Таблица 5.16

Градуировочные зависимости оптической плотности от общей концентрации АП каркаде в водных и этанольных растворах $D=aC$

Раствор	Диапазон C , г/л	Градуировочное уравнение	R^2
водно-этанольный	1 – 6	$D=(0.133\pm0.003)C$	0.998
водный	1 – 10	$D=(0.133\pm0.002)C$	0.986

Таблица 5.17

Результаты определения содержания АП в водных растворах на КФК-3 и ЦМ методикой с помощью ПС ($n=5$, $P=0.95$)

Способ регистрации	Введено, г/л	Найдено, г/л	S_r
КФК-3	5.4	5.3 ± 0.1	0.001
ПС	5.4	6.4 ± 1.2	0.016

Методика ЦМ охватывает более широкий диапазон концентраций, но фотометрическая методика определения АП селективней. Так, оптическая плотность D при 490-550 нм обусловлена поглощением только АП, а при 440 нм можно контролировать содержание танинов.

Методики ЦМ не позволяют оценить вклад индивидуальной группы веществ, а фиксируют только суммарный эффект. Результаты метрологических исследований методики ЦМ позволяют заключить (табл. 5.17), что она применима для количественного контроля общего содержания натуральных АП в экстрактах, напитках, винах, ликероводочных изделиях как более простой и менее затратный метод анализа, альтернативный методу фотоколориметрии.

5.1.5. Контроль цветности непрозрачных и твердых образцов

Для цветометрической оценки непрозрачных жидкостей, мазей, суспензий, эмульсий, твердых материалов можно использовать ЦФК и ПС без слайд-адаптера. В [284] апробирован способ контроля концентрации глюкозно-фруктозных сиропов (ГФС) по их цветности с помощью ЦФК, в [299,311,315] – контроля цветности (белизны) твердых лекарственных форм с помощью ПС.

Фруктозо-глюкозные сиропы. Изучен способ контроля цветности непрозрачных ФГС стевии, топинамбура, цикория и якона, полученных из исходного растительного сырья способом [320]. В качестве исходных образцов для проведения исследований [284] взяли концентрированный сироп стевии, который содержал 40% сухих веществ, сироп топинамбура ($w=67.4\%$), цикория ($w=50\%$) и якона ($w=52\%$). Цветометрические измерения проводили на ЦФК в оптических стеклянных кюветах толщиной $l=10$ мм.

Таблица 5.18

Градуировочные зависимости параметров цветности от концентрации сиропов w (%)

Сироп	Диапазон линейности, w %	Градуировочные зависимости	R^2
Стевия	2-20	$F_G=(101.8\pm4.6)-(4.82\pm0.40)w$	0.987
	2-20	$F_B=(77.2\pm4.8)-(3.45\pm0.42)w$	0.971
	2-20	$S_F=(302.8\pm14.1)-(14.50\pm1.22)w$	0.986
Топинамбур	5-40	$F_R=(176.5\pm3.2)-(1.50\pm0.13)w$	0.978
	5-30	$F_G=(177.8\pm8.2)-(3.14\pm0.43)w$	0.963
	5-40	$S_F=(466.0\pm40.3)-(7.52\pm1.64)w$	0.875
Цикорий	2.5-20	$F_G=(160.7\pm2.9)-(3.67\pm0.22)w$	0.993
	5-20	$F_B=(80.4\pm3.6)-(2.68\pm0.23)w$	0.993
	5-20	$S_F=(407.1\pm18.1)-(8.83\pm1.15)w$	0.983
Якон	2.5-26	$F_R=(129.5\pm0.9)-(2.45\pm0.06)w$	0.998
	2.5-26	$F_G=(121.3\pm5.5)-(2.50\pm0.39)w$	0.953
	2.5-26	$S_F=(280.8\pm4.1)-(4.39\pm0.29)w$	0.992

В табл. 5.18. представлены полученные градуировочные зависимости интенсивностей цветовых компонент R , G и B от концентрации

сиропов. Как видно из рис. 5.14 величины F_i для разных сиропов специфично меняются в зависимости от содержания сухих веществ в сиропах. Для контроля концентрации сиропов якона наиболее подходящей является измерение интенсивности красной компоненты F_R , а для сиропов стевии, топинамбура и цикория – зеленой компоненты F_G . Для них характерен линейный вид зависимостей $F_i=f(w)$ при высокой степени аппроксимации ($R^2>0.98$). Характер изменения F_i от величины сухого остатка для каждого вида сиропа имеет индивидуальные особенности, что может быть использовано для качественной идентификации сиропов. На рис 5.15. представлены зависимости изменения интегральной цветности S_F для рассмотренных ФГС. Таким образом, показана принципиальная возможность применения метода ЦМ для экспресс-теста ФГС, величины S_F или F_i , можно рекомендовать для включения в нормируемые показатели качества ФГС.

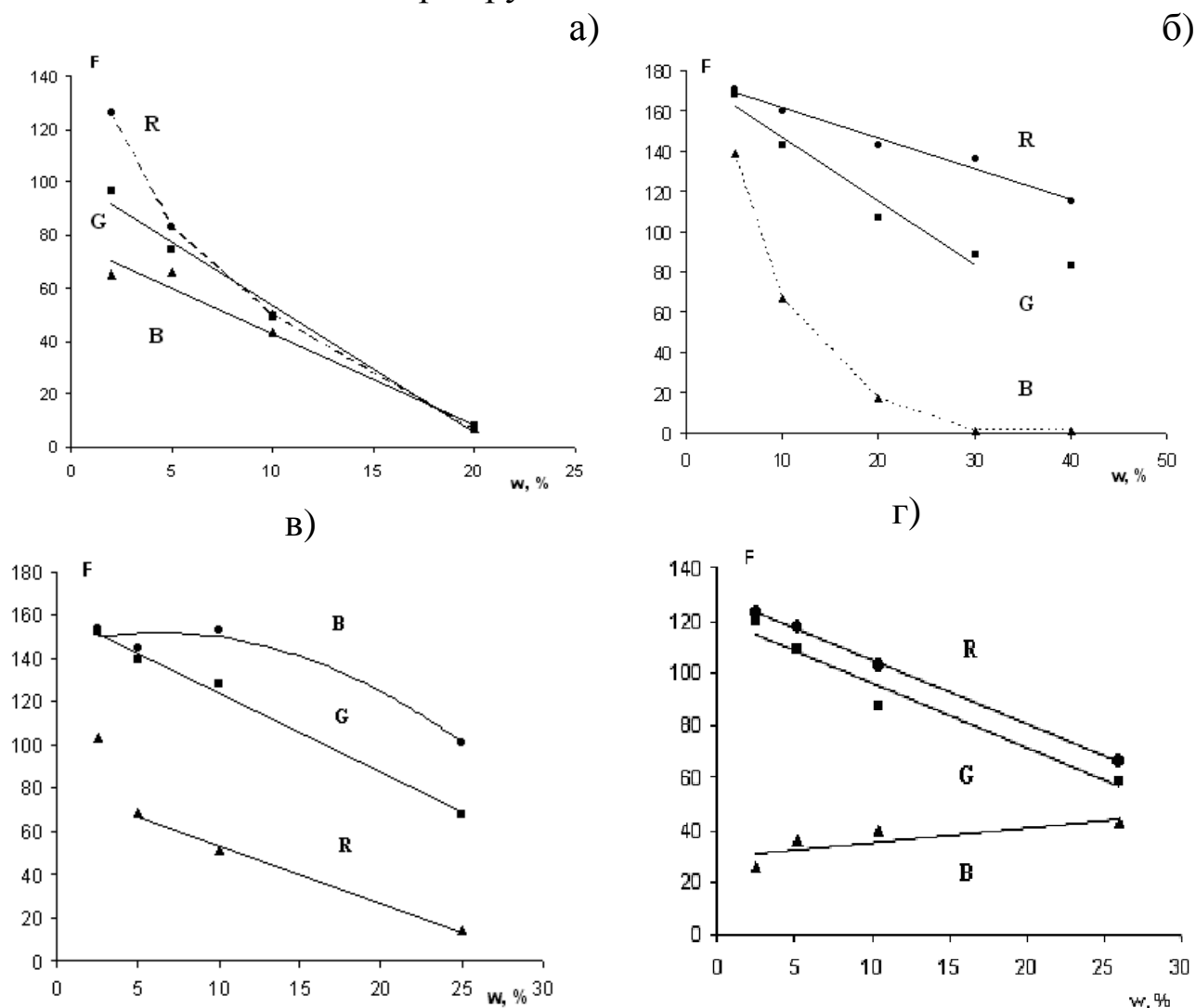


Рис. 5.14. Графики зависимости интенсивности компонент F_i цветности сиропов: а) стевии, б) топинамбура, в) цикория, г) якона, w – содержание сухих веществ, %

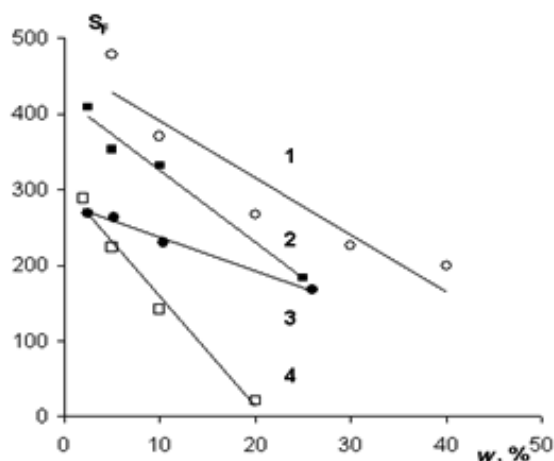


Рис. 5.15. Зависимости интегрального изменения цвета S_F сиропов: 1 – топинамбура, 2 – цикория, 3 – якона, 4 – стевии

Контроль белизны и цветности порошкообразных лекарственных препаратов. Определение цвета и степени белизны является необходимым параметром при оценке соответствия ФС лекарственных форм [169]. Оценка степени белизны (оттенка) порошкообразных лекарственных средств может быть проведена инструментальным методом, исходя из спектральной характеристики света, отраженного от образца.

Измерение коэффициентов отражения осуществляют на спектральных фотометрах. Уточненная оценка белизны лекарственных форм с указанием интенсивности цветовых и сероватого оттенков может быть проведена с использованием абсолютных коэффициентов отражения, определяемых с помощью спектрофотометров отражения, снабженных интегрирующей сферой, например СФ-18.

Белизну (цветность) порошкообразных и таблетированных лекарственных форм в [299,311,315] оценивали с помощью ПС в цилиндрической металлической ячейке с прозрачным дном (описание приведено в п. 2.5). Таблетированные лекарственные формы предварительно растирали до порошкообразного состояния в агатовой ступке.

Для анализа относительной белизны апробировали величину S_F , нормированную относительно значений цветности эталона $W_э$, которым в фармакопейной практике является $BaSO_4$. Относительное значение белизны $W_r^э$ в процентах от белизны эталона $W_э$ определяли по формуле:

$$W_r^э = \frac{S_F}{W_э} \times 100\% . \quad (5.1)$$

В связи с тем, что для ПС предусмотрена автоматическая настройка баланса белого, нами предложено проводить нормировку относительно теоретической абсолютной белизны, принимая за эталон

максимальные значения интенсивности всех 3 каналов *RGB*
 $W_T=255 \times 3=765$, тогда

$$W_r = \frac{S_F}{W_T} \times 100\% . \quad (5.2)$$

В табл. 5.19 проведено измерение W_r и F_i нескольких образцов лекарственных форм. Для оценки объективности сканерметрического определения белизны провели параллельные измерения одних и тех же препаратов на ПС и на промышленном белизнометре БЛИК–РЗ (табл. 5.20). Наблюдаемая низкая погрешность при измерении в областях близких к значениям $F_i=255$ (белый цвет) указывает не на высокую точность измерений, а скорее всего, на сравнительно низкую чувствительность ПС в оценке белизны. Вместе с тем, сканерметрическое определение белизны точнее и объективней, чем визуальная оценка, имеет преимущества в электронном документировании.

С помощью разработанного сканерметрического метода определили относительную белизну $W_{отн}$ проб самых различных препаратов и субстанций [315].

Таблица 5.19

Степень белизны различных лекарственных препаратов,
определенная цветометрически на ПС

Наименование	F_i			W_r	S_r
	R	G	B		
Аскорбиновая кислота с глюкозой ОАО «Марбиофарм»	240±3	254±1	254±1	97.8±0.4	0.002
Ацетилсалициловая кислота ОАО «Дальхимфарм»	237±1	251±2	254±1	97.0±0.2	0.001
Бензилпенициллина на- триевая соль ОАО «Биосинтез»	233±2	246±2	253±1	95.7±0.6	0.004
Бромгексина гидрохлорид ОАО «Акрихин»	243±3	253±2	253±0	98.0±0.6	0.003
Валидол	225±2	238±2	245±2	92.5±0.6	0.004
Кальция глюконат ОАО «Татхимфарм-препараты»	245±2	254±1	253±0	98.3±0.4	0.002

Таблица 5.20

Степень белизны различных лекарственных препаратов,
определенная на белизномере Блик-РЗ и на ПС

Наименование	Описание по ФС	W_r	
		Блик-РЗ	ПС
Бария сульфат	белый или почти белый	100.0	95.9±0.7
Аскорбиновая кислота с глюкозой	белый или почти белый	98.2	97.8±0.4
Ацетилсалициловая кислота	белый	90.9	96.7±1.0
Валидол	белый с сероватым от- тенком	94.2	92.5±0.6

Установлено, что препараты, оцениваемые человеческим глазом как белые, аппаратно регистрируются как объекты, обладающие разной степенью белизны. Таким образом, появляется возможность перейти от субъективной визуальной характеристики лекарственных препаратов к объективной оценке степени их белизны и соответствию критериям качества. Например, в табл. 5.21 показаны результаты измерения степени белизны 5 препаратов разных производителей. Явно выпадающие результаты сканерметрического тестирования, отличные от усредненных результатов для качественной продукции, являются сигналом для более детальной экспертизы качества данного продукта.

Сканерметрический контроль процессов старения лекарственных препаратов. Для изучения хранимостпособности лекарственных средств предусмотрена процедура ускоренного старения, которую проводят по «Временной инструкции по проведению работ для определения сроков годности лекарственных средств на основе метода ускоренного старения при повышенной температуре» (И-42-2-82).

В качестве исследуемого объекта выбрали бензилпенициллина натриевую соль, 1×10^6 ед., производитель – ОАО «Синтез» (условия хранения – список Б, в сухом месте, при комнатной температуре). ЦМ позволяет проводить мониторинг цветности препаратов в процессе проведения испытаний. Например, на рис. 5.16 показана, как изменяется степень белизны препарата бензилпенициллина натриевой соли в условиях ускоренного старения.

Таблица 5.21

Относительная белизна препаратов разных производителей

Наименование препарата	Производитель	Относительная белизна, $W_{отн}, \%$
Ацетилсалициловая кислота	ОАО «Дальхимфарм»	97.0
	ЗАО «Медисорб»	98.0
	ОАО «Фармстандарт – Томскхимфарм»	97.8
Аскорбиновая кислота с глюкозой	ОАО «Марбиофарм»	97.9
	ЗАО «Производственная фармацевтическая компания Обновление»	98.0
	ОАО «Фармстандарт – УфаВИТА»	99.4
Бромгексин	ОАО «Химико-фармацевтический комбинат «Акрихин»	98.0
	АО «Гриндекс»	95.5
	ЗАО «Производственная фармацевтическая компания Обновление»	95.5
Бензилпенициллина натриевая соль	ОАО «Синтез»	97.2
	ОАО «Красфарма»	95.5
	ОАО «Биосинтез»	95.6
Кальция глюконат	ОАО «Татхимфармпрепараты»	98.3
	ОАО «Тюменский химико – фармацевтический завод»	97.5
	ОАО «Фармстандарт – Лексредства»	98.0

В процессе ускоренного старения наблюдали резкое изменение относительной белизны, которое можно связать с процессами распада и окисления, протекающими при повышенной температуре. Из полученных данных следует, что через 17 суток ускоренного старения (что соответствует 544 суткам хранения при комнатной температуре) происходит накопление критического количества продуктов деструкции, которые влияют на цвет субстанции. Проводимые параллельно цветометрические испытания на содержание активного вещества (гидроксамоновая проба, красно-фиолетовое окрашивание, контроль по

компоненте *B*) подтвердили резкое изменение состава в процессе ускоренного старения (рис. 5.17).

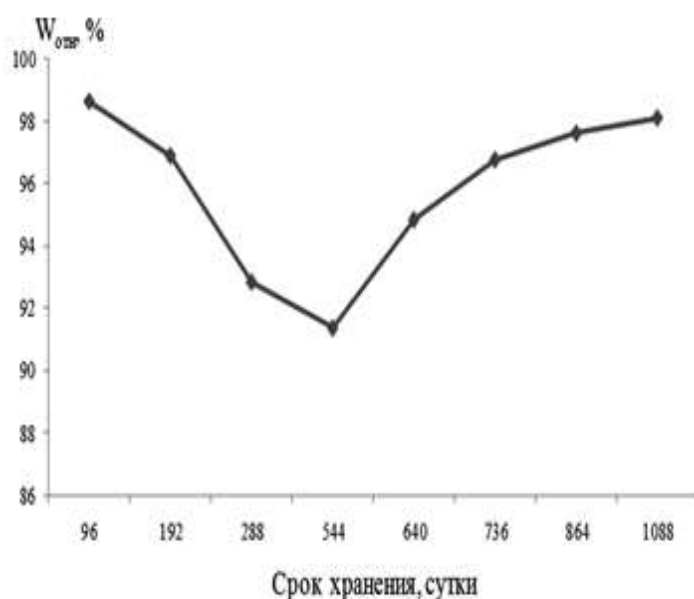


Рис. 5.16. Влияние на относительную белизну образца бензилпенициллина натриевой соли срока хранения (в условиях ускоренного старения)

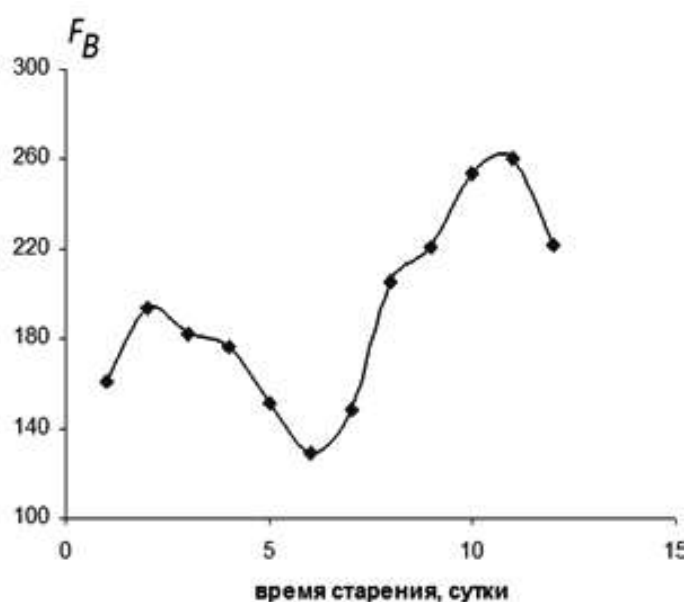


Рис. 5.17. Результаты цветиметрического анализа бензилпенициллина натриевой соли в условиях ускоренного старения (гидроксамовая проба)

5.2. Применение цветиметрии в анализе водных растворов биологически активных соединений с использованием цветных реакций

Одним из наиболее интересных практических приложений ЦМ являются тест-методики (цветные тесты). Для большинства лекарственных веществ, имеющих те или иные функциональные группы, существует набор цветных реакций, позволяющих определить наличие и качество этих веществ.

5.2.1. Цветометрическое определение лекарственных веществ в водных растворах

Регистрация методом ЦМ изображения лекарственного средства, не имеющего специфической окраски, но подвергнутого цветному тесту, дает не только интегральную интенсивность S_F , но и как минимум интенсивность 3 компонент цветности – R , G и B . Если провести 2 цветные реакции, то количество контролируемых показателей цветности удвоится, увеличится надежность идентификации. Если цветные реакции идут с высоким и воспроизводимым выходом, ЦМ может использоваться в количественном определении веществ, дающих цветные реакции.

Рассмотрим фармакопейные реакции для водорастворимых аналитов. В [310, 313] для таких препаратов как ампициллин, анальгин, бензилпенициллина натриевая соль, доксициклина гидрохлорид, парацетамол, салициловая кислота, эуфиллин были приготовлены серии стандартных растворов в диапазоне концентраций от исходного содержания активного вещества в лекарственной форме до количества, обеспечивающего минимально выраженную окраску продукта фармакопейной реакции.

Для получения окрашенных растворов с каждым из препаратов была проведена соответствующая фармакопейная реакция [166].

Анальгин. 2 мл 50% раствора анальгина помещали в колбу на 50 мл и прибавляли 5 мл 95% этанола и 0.5 мл разведенной HCl. После растворения препарата прибавляли 5 мл 0.1 н. раствора иодата калия и наблюдали появление малинового окрашивания раствора. Для получения градуировочной зависимости из исходного раствора путем разбавления готовили серию стандартных растворов с концентрациями 10-30 %.

Ампициллин. 0.5 г порошка ампициллина растворяли в 3 мл воды. К полученному раствору прибавляли 1-3 капли раствора свежеприготовленного реактива Феллинга и наблюдали появление устойчивого фиолетового окрашивания. Для получения градуировочной зависимости из исходного раствора путем разбавления готовили серию стандартных растворов с концентрациями 0.006 – 0.16 г/мл.

Доксициклин. 0,05 г порошка доксициклина из капсул растворяли в 2 мл 95% этанола. К этому раствору прибавляли 1-2 капли 3% раствора $FeCl_3$ и наблюдали появление красно-коричневого окрашивания. Для получения градуировочной зависимости из исходного рас-

твора разбавлением готовили стандартные растворы с концентрациями 0.0005 – 0.025 г/мл.

Натриевая соль бензилпенициллина. 0.05 г порошка бензилпенициллина натриевой соли помещали в колбу вместимостью 50 мл, приливали 3 мл воды, взбалтывали до полного растворения порошка, прибавляли 0.1 г гидроксиламина гидрохлорида, взбалтывали и прибавляли к полученному раствору 1 мл 0.1 н NaOH, 1 мл 1 н HCl и 3 капли раствора 3% FeCl₃ до появления красно-фиолетового окрашивания. Для получения градуировочной зависимости из исходного раствора путем разбавления готовили серию стандартных растворов с концентрациями 0.0016 – 0.016 г/мл.

Парацетамол. Таблетку (0.5 г) растворяли при нагревании в 10 мл воды, добавляли 2 мл HCl разбавленной и 1 каплю 0.1 М K₂Cr₂O₇, появлялось фиолетовое окрашивание. Для проведения реакции с FeCl₃ готовили реагент, растворяя 5 г безводного FeCl₃ или 8.25 г гексагидрата FeCl₃ в 100 мл дистиллированной воды. Растертую таблетку парацетамола (0.5 г) или его субстанцию растворяли при нагревании в 100 мл воды и прибавляли реагент из расчета 0.1 г препарата на 0.05 мл раствора FeCl₃. При добавлении реагента к раствору парацетамола появлялось фиолетовое окрашивание.

Для приготовления диазотирующего реагента 2.8 г 4-нитроанилина растворяли в 32 мл HCl конц. (ρ = 1.183 г/мл) в мерной колбе на 250 мл и доводили раствор до метки водой. К 20 мл полученного раствора прибавляли 5 мл 1%-ого раствора нитрита натрия и 3-4 капли 0.7 %-ого бромиды калия (фотометрический реагент). К 5 мл водного раствора парацетамола, подщелоченного раствором карбоната натрия до pH 9, добавляли 1 мл фотометрического реагента, наблюдали желто-оранжевое окрашивание.

Салициловая кислота. 0.01 г порошка салициловой кислоты помещали в колбу вместимостью 50 мл и приливали 10 мл воды. К полученному раствору прибавляли 1 каплю раствора 3% FeCl₃ и наблюдали сине-фиолетовое окрашивание, которое исчезало от прибавления нескольких капель разведенной HCl и сохранялось при прибавлении нескольких капель разведенной уксусной кислоты. Для получения градуировочной зависимости из исходного раствора разбавлением готовили стандартные растворы (C=0.04 – 1 г/л).

Эуфиллин. 2 мл 2% раствора эуфиллина помещали в колбу вместимостью 50 мл и приливали 4 мл воды. К полученному раствору прибавляли 5 капель раствора сульфата меди и наблюдали появление

устойчивого ярко фиолетового окрашивания. Для получения градуировочной зависимости из исходного раствора путем разбавления готовили серию стандартных растворов с концентрациями 0.0025 – 0.5 %.

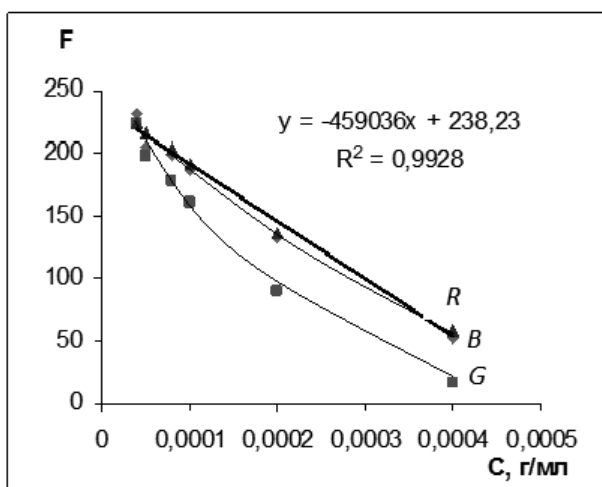


Рис. 5.18. Зависимость интенсивности цветового канала R от концентрации салициловой кислоты (тест с хлоридом железа(III))

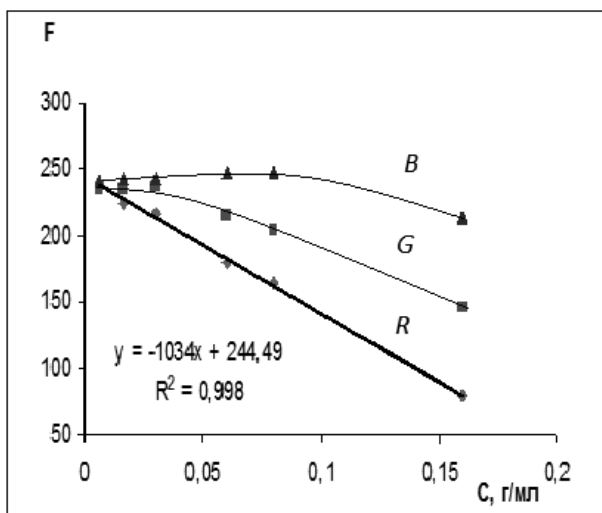


Рис.5.19. Зависимость интенсивности цветового канала R от концентрации эуфиллина (тест с сульфатом меди)

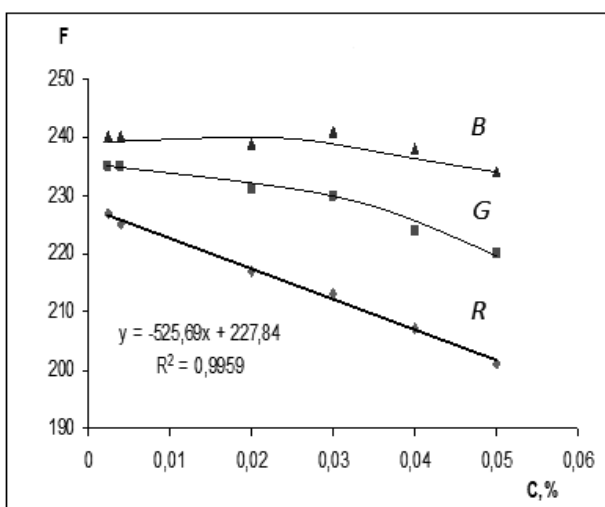


Рис 5.20. Зависимость интенсивности цветового канала R от концентрации ампициллина (тест с реактивом Феллинга)

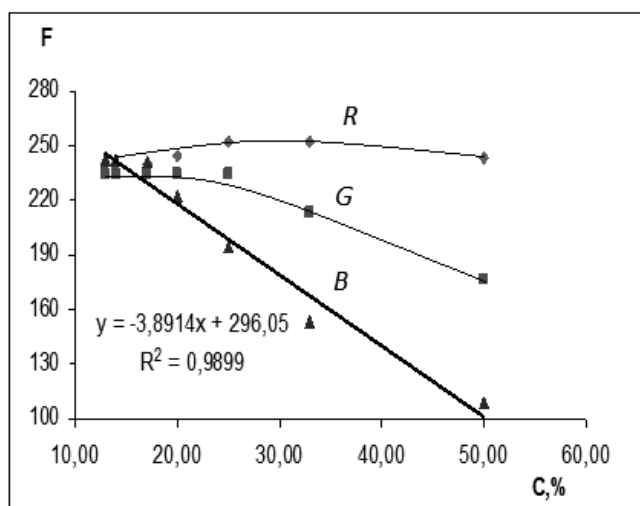


Рис 5.21. Зависимость интенсивности цветового канала B от концентрации анальгина (тест с иодатом калия)

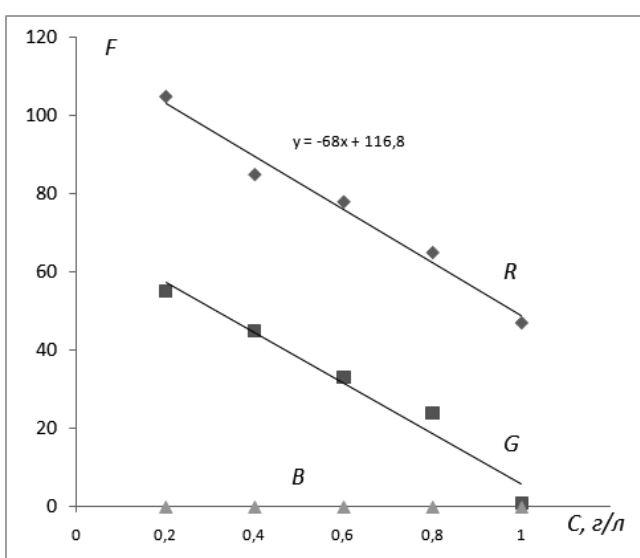


Рис. 5.22. Зависимость интенсивности цветового канала R от концентрации доксициклина гидрохлорида (тест с хлоридом железа(III))

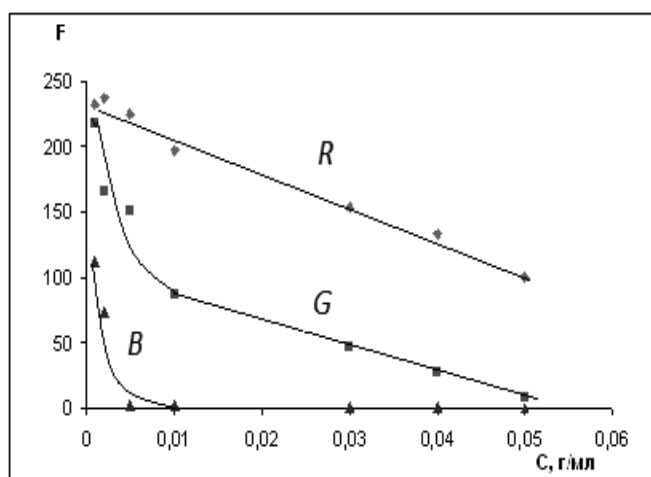


Рис. 5.23. Зависимость интенсивности цветового канала R от концентрации парацетамола (тест с бихроматом калия)

Результаты проведенного сканерметрического анализа показали закономерное изменение параметров R , G , B в зависимости от концентрации растворов (рис. 5.18-5.23).

Наиболее выражено эта зависимость проявляется для той цветовой компоненты, которая в каждом случае является дополняющим цветом по отношению к цвету окрашенного раствора. Линеаризуются зависимости по выбранным компонентам с высокой степенью достоверности аппроксимации.

Таким образом, выбранные цветные тесты в случае применения ЦМ пригодны не только для идентификации, но и для количественной оценки содержания соответствующего лекарственного средства в фармацевтической продукции.

5.2.2. Цветометрическое определение нитритов в моче и нитропроизводных в водных растворах

Азотсодержащие соединения играют огромную роль в регуляции основных систем организма человека: сердечнососудистой, иммунной, нервной, органов дыхания, системе гомеостаза. Накоплено большое количество данных, отражающих зависимость суммарного содержания кислородных соединений азота (нитратов и нитритов) в биологических жидкостях в зависимости от разных заболеваний или их отдельных стадий.

Для определения нитритов в моче в [297, 298] использовали цветную реакцию с реактивом Грисса-Илошвая. В зависимости от концентрации нитритов в пробе цвет должен изменяться от бледно-розового до кроваво-красного. Полученный окрашенный раствор также фотометрировали на КФК-3 ($\lambda=490$ нм, $l=30$ мм). Концентрацию нитрит-ионов определяли по градуировочным зависимостям (рис. 5.24), полученным для линейных диапазонов концентраций 0–0.3 мг/л и 0.3–1.2 мг/л. Более концентрированные образцы мочи перед анализом разбавляли в 2-4 раза.

Для определения концентрации нитритов с помощью реактива Грисса-Илошвая применимы градуировочные зависимости по всем 3 цветовым компонентам, но их линейные диапазоны отличны. Градуировка по яркости синей компоненты F_B пригодна для контроля среднего содержания нитритов, по зеленой компоненте F_G – только для низкого уровня, а по красной компоненте F_R – для среднего и высокого уровня (см. рис. 5.25, табл. 5.22).

Положение максимума в спектре поглощения для окрашенных в красный цвет растворов указывает на то, что наименее яркой является компонента цветности G , т.к. растворы поглощают в сине-зеленом

участке спектра, а для получения градуировочной зависимости наиболее пригодна красная компонента R , соответствующая наблюдаемому цвету раствора, дополнительному к поглощаемому.

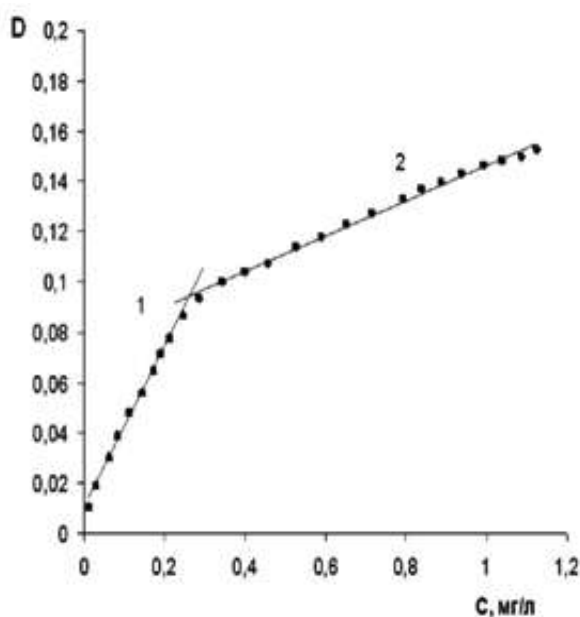


Рис. 5.24. Зависимость оптической плотности от концентрации нитрит-ионов в растворе

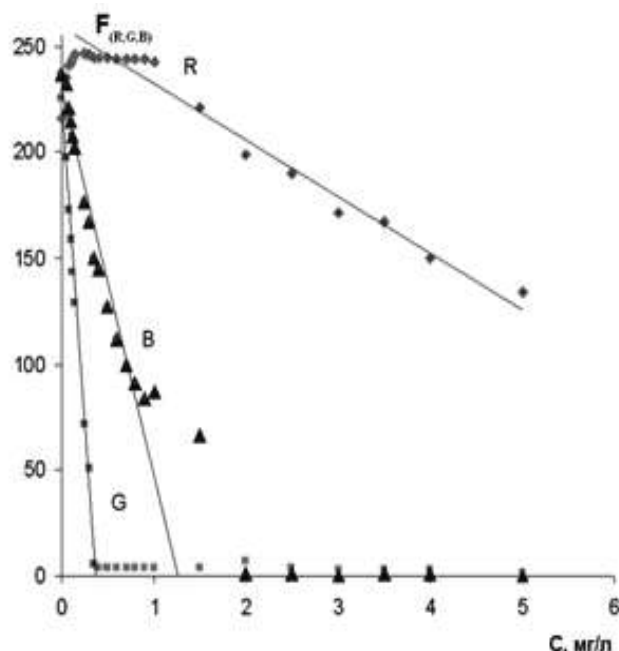


Рис. 5.25. Зависимости компонент цветности F_i от концентрации нитрит-ионов в растворе

Таблица 5.22

Градуировочные зависимости для определения нитрит-ионов в растворе ($n=4-6$, $P=0.95$)

Способ регистрации	Диапазон C , мг/л	Градуировочное уравнение	R^2
КФК-3	0–0.3	$D=(0.336 \pm 0.013)C+(0.008 \pm 0.002)$	0.987
	0.3–1.2	$D=(0.071 \pm 0.002)C+(0.076 \pm 0.001)$	0.993
ПС	0–0.4	$F_G=(227.6 \pm 4.9)C-(621.4 \pm 25.6)$	0.989
	0–1	$F_B=(226.2 \pm 5.0)C-(180.1 \pm 10.6)$	0.960
	1–5	$F_R=(258.8 \pm 6.0)C-(26.4 \pm 1.0)$	0.968

В табл. 5.23 разработанная методика ЦМ сопоставлена с методикой фотоколориметрического определения нитритов.

С помощью реактива Грисса-Илошвая окрашивали растворы и проводили цветометрические определения также лекарственных веществ, являющихся нитропроизводными. Результаты анализа приведены в табл. 5.24.

Таблица 5.23

Сравнение результатов определения концентрации нитритов на фотоколориметрической и ЦМ методикой в образцах мочи с разным уровнем содержания нитритов (n=5, P=0.95)

Образец мочи, уровень	КФК-3	ПС	
		по компоненте В	по компоненте R
1 (низкий)	0.85±0.09	0.92±0.15	—
2 (средний)	2.28±0.15*	—	2.69±0.38
3 (высокий)	4.34±0.30*	—	4.73±0.43

*Пробу перед анализом разбавляли в 3 раза

Таблица 5.24

Определение нитропроизводных по фармакопейной методике и с помощью сканерметрического определения

Лекарственное вещество	Содержание в лекарственном средстве, мг	Найдено по фармакопейной методике [166], мг	Сканерметрия, с реактивом Грисса-Илошвая, г
Фурацилин	18 – 22	20.2 ± 1.0	19.9 ± 1.1
Левомецетин	47.50 – 52.5	50.3 ± 0.9	50.2 ± 2.1
Фуразолидон	47.5 – 52.5	-	49.0 ± 2.8
Эринит	8.0 – 12.5	-	10.1 ± 0.4
Изосорбида динитрат	8.0 – 12.0	-	9.0 ± 0.7
Нитрокор	0.42 – 0.58	0.49 ± 0.06	0.46 ± 0.03
Нитроглицерин	0.42 – 0.58	0.48 ± 0.05	0.46 ± 0.05
Нитронг форте	5.9 – 7.8	6.4 ± 0.4	6.2 ± 0.3

В современных лабораториях применяют тест-полоски, представляющие собой закрепленный, комбинированный реактив Грисса,

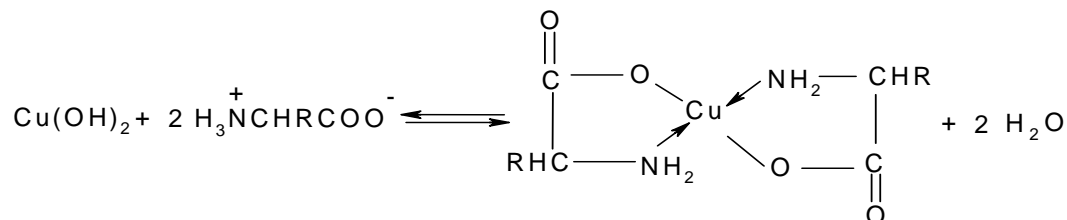
позволяющие определять концентрацию нитрит-ионов до 2 мг/л. Контроль цветности тест-полосок методом ЦМ позволит, судя по результатам наших исследований, повысить надежность и чувствительность этого тестирования.

5.2.3. Цветометрическое определение аминокислот, пептидов и белков в водных растворах

Существует много лекарственных препаратов и БАД на основе аминокислот (АК). Они чаще всего применяющиеся для парентерального питания при различных патологиях, а так же в диетологии при составлении сбалансированных белковых диет. Например, препарат для парентерального питания Гепасол Нео, применяемый при печеночной недостаточности, содержит в себе комплекс как заменяемых, так и незаменимых аминокислот (L-валин, L-лейцин, L-лизин, L-метионин, L-треонин, L-фенилаланин, L-аланин, глицин и др.). Глицин, α -аланин, β -аланин, изолейцин, фенилаланин входят в состав растительных и животных белков, в различные биологические жидкости, обладают известной физиологической активностью, их применяют в составе лекарственных средств и БАД. Инсулин – гормон полипептидной природы, оказывает многогранное влияние на обмен практически во всех тканях, основное биологическое действие заключается в снижении концентрации глюкозы в крови. Лизоцим является лекарственным антибактериальным средством, которое применяется в косметологии, ветеринарии, используется в качестве биологического консерванта (Е 1105) и входит в список разрешенных пищевых добавок (СанПиН 2.3.2.1078-01). Пищевые продукты, обогащенные лизоцимом, предназначены для профилактики и лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, иммунодефицитных состояний. Ряд лекарственных средств синтезируют с помощью АК (даралгин, каптоприл и др.), специальное значение имеют смеси АК, используемые в качестве средств для парентерального питания (полиамин, валин, ваминалак) [142]. АК проявляют характерные аналитические свойства при взаимодействии с ионами металлов. Образование хелатных комплексов с Cu^{2+} , окрашенных в синий цвет, лежит в основе методов их определения. Пептиды и белки дают биуретовую реакцию с Cu^{2+} , образуя продукты фиолетового цвета. Для получения окрашенных веществ в растворах АК и пептидных соединений при-

меняется часто также реакция с нингидрином. В работах [295,300,304,390] для цветометрических измерений проводили следующие реакции:

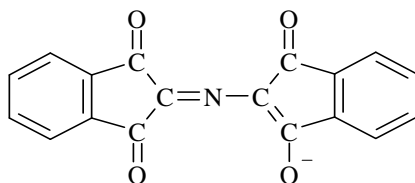
Цветной тест для аминокислот полипептидов с ионами Cu^{2+} . АК и пептиды с Cu^{2+} образуют комплексы темно-синего цвета [151]:



В мерную колбу ёмкостью 25 мл пипеткой вносили аликвоту раствора АК, добавляли 2-3 капли раствора тимолфталейна и по каплям раствор NaOH до появления голубой окраски. К полученному раствору приливали суспензию $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$, содержимое колбы доводили до метки водой, перемешивали и фильтровали. Затем анализируемым раствором заполняли кюветы с оптической толщиной 30 мм, измеряли D при $\lambda=640$ нм на КФК-3 или интенсивность компонент цветности R , G и B в модели RGB.

Реактивы. Раствор хлорида меди(II), раствор фосфатного буфера (64.5 г Na_2HPO_4 и 7.2 г NaOH в 1 л воды), боратный буфер (57.21 г $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ и 100 мл 1М HCl в 2 л воды), суспензия $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$, тимолфталейн.

Цветной тест аминокислот с нингидрином [141]. При нагревании 1 эквивалента АК с 2 эквивалентами нингидрина образуется краситель типа мурексида, интенсивно окрашенный в синий или сине-фиолетовый цвет:



Раствор в 80%-ном этаноле, содержащий около 5 мкг АК, смешивали с 2 мл 0.2%-ного раствора нингидрина в изобутаноле и этим же спиртом разбавляли до объема 10 мл. Нагревали 3 мин при 80 °С, затем охлаждали до 22 °С и измеряли D при $\lambda=500-560$ нм или интенсивности компонент цветности.

Установлено, что биуретовая реакция не всегда дает стабильную синюю окраску, пригодную для цветометрических измерений [295]. Например, в растворах фенилаланина, содержащего ароматическое кольцо, в результате этой реакции наблюдается бледное голубое ок-

рашивание с нестабильной интенсивностью, поэтому для цветометрических измерений в этом случае использовали нингидриновую реакцию.

В ЦМ чаще всего используют в качестве аналитического сигнала не величину S_F , а значения интенсивностей F_i отдельных компонент цветности R , G и B . На рис. 5.27-5.29 приведены графики зависимостей F_i от концентрации растворов АК, глицилглицина и лизоцима, из которых видно, что изменение параметров цветности F_i зависит от C и природы АК.

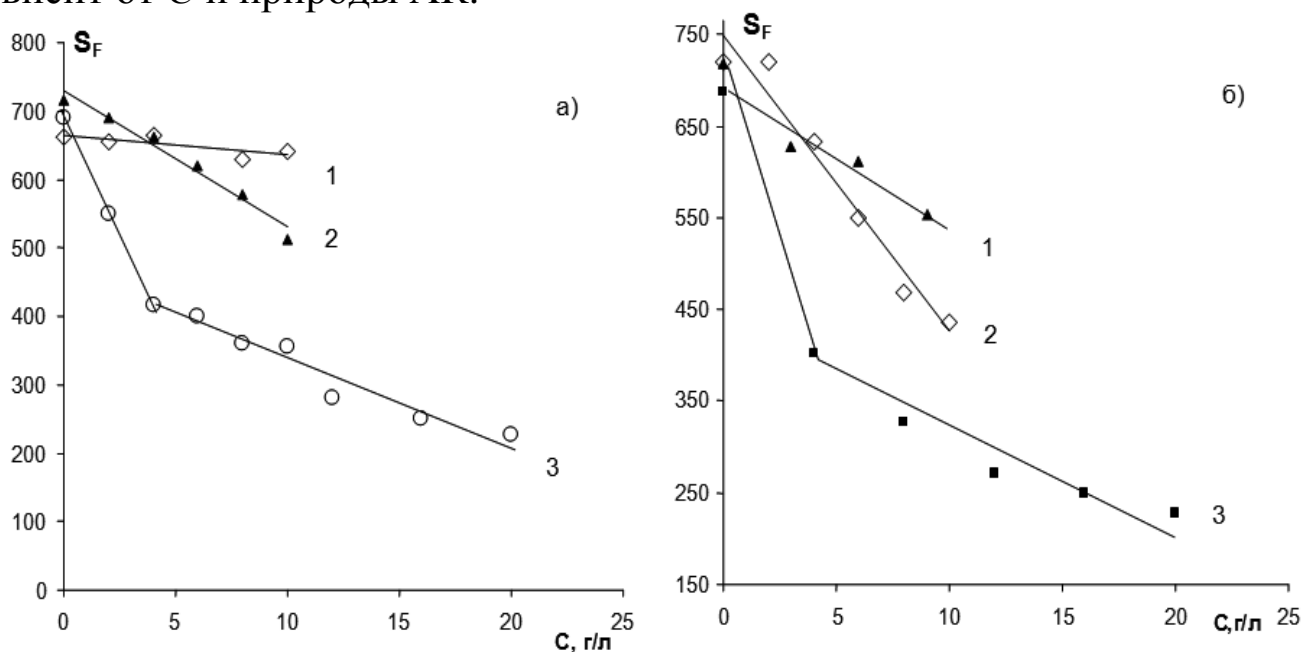


Рис. 5.26. Зависимости изменения цвета S_F после цветного теста с Cu^{2+} от концентрации АК и их производных: а) 1 – α -аланин, 2 – β -аланин, 3 – глицин, б) 1 – лизоцим, 2 – изолейцин, 3 – глицилглицин

Рассмотрим результаты исследований по применению цветометрических координат в модели RGB для количественных измерений АК и пептидов с применением цветных реакций [284, 310, 312-314, 390]. Диапазон концентраций водных растворов АК, глицилглицина и лизоцима составлял 2-20 г/л, что характерно для их содержания в культуральных жидкостях и лекарственных средствах. Сначала проанализируем интегральное изменение цвета $S_F = F_R + F_G + F_B$ в зависимости от концентрации анализируемого вещества.

Из рис. 5.26 видно, что характер зависимостей $S_F = f(C)$, не линейный. Вместе с тем, можно выделить линейные диапазоны в об-

ласти 0-5, 0-10, 5-20 г/л.

б)

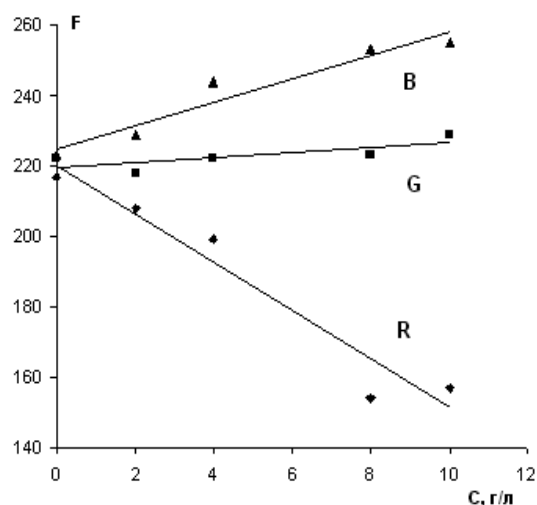
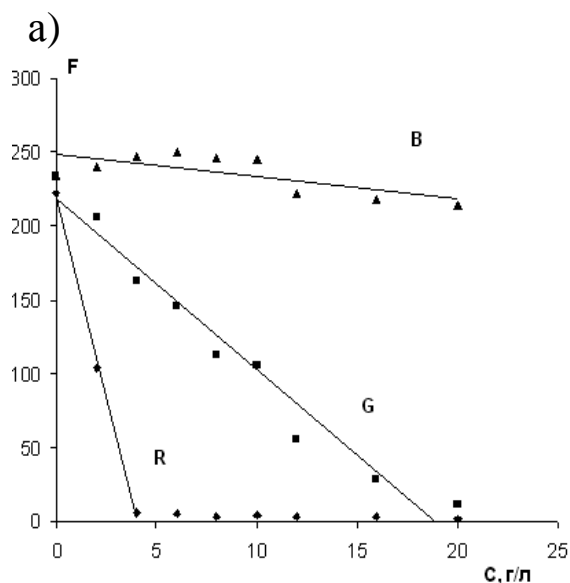


Рис. 5.27. Зависимости интенсивности компонент цветности от концентрации водных растворов в системе *RGB* после цветного теста с Cu^{2+} : а) глицина, б) α -аланина

а)

б)

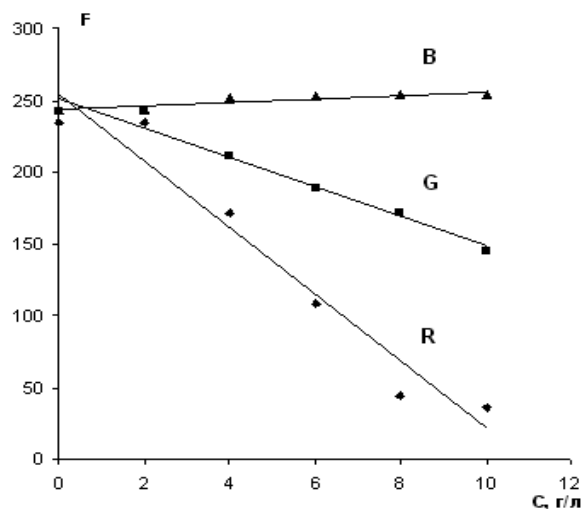
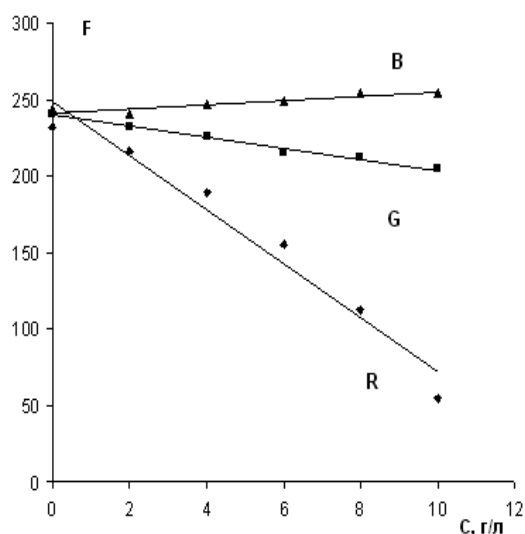


Рис. 5.28. Зависимости интенсивности компонент цветности от концентрации водных растворов в системе *RGB* после цветного теста с Cu^{2+} : а) β -аланина, б) изолейцина

В табл. 5.25 приведены примеры градуировочных уравнений $S_F = a + bC$. Эти данные позволяют сделать вывод, что цифровые измерения цветности растворов позволяют количественно контролировать концентрацию АК и пептидов с применением биуретовой реакции, за исключением α -аланина и фенилаланина. Для первого интенсивность

окраски в интервале $C=0-10$ г/л изменялась незначительно (рис. 5.26а), а для второго вообще не удалось получить устойчивой цветной реакции

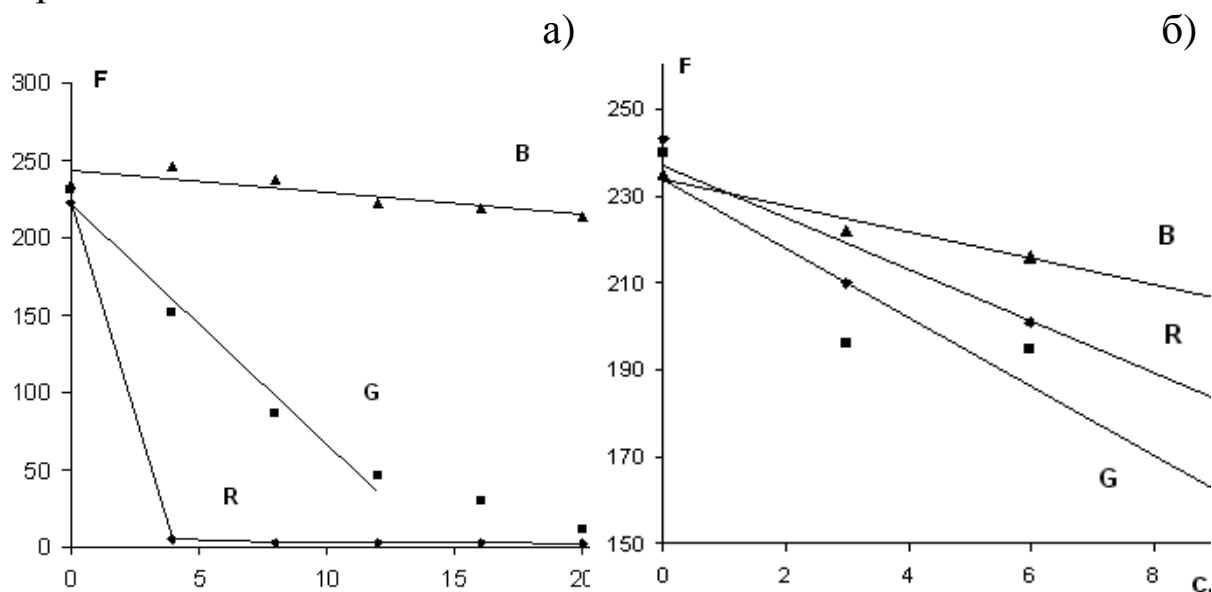


Рис. 5.29. Зависимости интенсивности компонент цветности от концентрации водных растворов в системе RGB после цветного теста с Cu^{2+} : а) глицилглицина, б) лизоцима

В зависимостях $F_i=f(C)$ можно выделить линейные диапазоны для градуировки. В табл. 5.25 представлены градуировочные уравнения $F_i=a+bC$. Наиболее подходящей для количественных определений АК является зеленая компонента G . Для определения лизоцима – синяя компонента B . В этих случаях линейная зависимость наблюдается в более широком диапазоне концентраций с высокими степенями аппроксимации ($R^2>0.94$).

Изменение F_i от C для разных АК не идентично, о чем свидетельствуют различия в величинах коэффициентов градуировочных зависимостей. Так, коэффициент b в линейных градуировочных зависимостях (табл. 5.25 и 5.26) характеризует чувствительность отдельных компонент цветности к особенностям строения аналита, его величина может отличаться для данного цветного теста в 4-5 раз.

Для растворов фенилаланина биуретовая реакция вообще дает лишь слабое синее окрашивание, мало зависящее от концентрации. По-видимому, фенильный радикал препятствует образованию стабильного хелатного комплекса. Что касается α -аланина, то для его контроля наиболее подходит зависимость $F_R=f(C)$, а слабая корреля-

ция $S_F=f(C)$ в этом случае вызвана компенсационным эффектом: по мере уменьшения F_R заметно увеличивается F_B и слабо растет F_G , при этом сумма S_F изменяется незначительно.

Таблица 5.25

Градуировочные зависимости величин $S_F=a+bC$ для определения концентрации АК и пептидов в водных растворах после цветного теста с Cu^{2+} ($n=4-6$, $P=0.95$)

Вещество	Диапазон C , г/л	Градуировочное уравнение	R^2
глицин	0 – 6	$S_F=(664.5 \pm 39.9)-(50.2 \pm 10.7)C$	0.917
	6–20	$S_F=(465.7 \pm 23.6)-(12.8 \pm 1.8)C$	0.925
α -аланин	0 – 10	$S_F=(664.2 \pm 7.6)-(2.8 \pm 1.3)C$	0.693
β -аланин	0 – 10	$S_F=(728.8 \pm 10.1)-(19.9 \pm 1.7)C$	0.973
изолейцин	0 – 10	$S_F=(748.3 \pm 19.3)-(32.2 \pm 3.2)C$	0.962
глицилглицин	4 – 20	$S_F=(423.50 \pm 23.17)-(10.68 \pm 1.75)C$	0.9257
лизоцим	0 – 9	$S_F=(704.20 \pm 18.03)-(16.93 \pm 3.21)C$	0.9329

Таблица 5.26

Градуировочные зависимости интенсивности компонент цветности $F_i=a+bC$ в системе RGB от концентрации C для определения в водных растворах АК и пептидов ($n=4-6$, $P=0.95$)

Вещество	Диапазон C , г/л	Градуировочное уравнение	R^2
глицин	0 – 20	$F_G=(217.7 \pm 9.2)-(11.5 \pm 0.9)C$	0.961
α -аланин	0 – 10	$F_R=(220.1 \pm 6.1)-(6.9 \pm 1.0)C$	0.940
β -аланин	0 – 10	$F_G=(239.9 \pm 1.3)-(3.7 \pm 0.2)C$	0.986
изолейцин	0 – 10	$F_G=(251.3 \pm 5.5)-(10.3 \pm 0.9)C$	0.969
глицилглицин	0 – 12	$F_G=(210.4 \pm 18.1)-(12.7 \pm 1.8)C$	0.940
лизоцим	0 – 10	$F_B=(233.5 \pm 1.7)-(3.0 \pm 0.3)C$	0.978

Сопоставим результаты измерений цвета в моделях RGB и

CIELAB для изученной цветной реакции. На рис. 5.30-5.31 представлены градуировочные графики в системе *CIELAB*, а в табл. 5.27 – их аналитические выражения. Полученные результаты показывают, что для концентрационных зависимостей в системе *CIELAB* наиболее подходящими являются зависимости $L=a+bC$, где L – светлота, в отдельных случаях пригодны величины F_A или F_B , где A и B – координаты красно-зеленой и желто-синей осей соответственно. В целом, диапазоны линейности и степени аппроксимации концентрационных зависимостей в 2 цветовых моделях отличаются незначительно.

В связи с тем, что видеосигнал для большинства цифровых устройств регистрируется в системе *RGB*, перевод данных из модели *RGB* в модель *CIELAB* становится дополнительной операцией, которая в изученных случаях не дала принципиального улучшения метрологических характеристик методики измерения, поэтому в соответствии с принципом «лезвия Оккама» применение модели *CIELAB* является излишним.

Параллельно цветометрическим измерениям выполнялись фотокolorиметрические, на рис. 5.32 приведен спектр поглощения. Положение максимума в спектре поглощения для окрашенных в сине-зеленый цвет продуктов реакции аминокислот с Cu^{2+} подтвердило то, что наименее яркой является компонента цветности R , т.к. растворы поглощают в оранжево-красном участке спектра, а наиболее пригодной для получения градуировочных зависимостей является зеленая компонента G .

Прозрачный окрашенный фильтрат фотометрировали на КФК-3, при $\lambda=640$ нм в кюветах толщиной $l=30$ мм, в качестве раствора сравнения использовали воду. Параллельно проводили «холостой опыт». Для окрашенного раствора продуктов реакции лизоцима с Cu^{2+} максимум поглощения – 550 нм, поэтому наименее яркой оказалась зеленая компонента G цветности.

На рис. 5.33 показаны графики зависимости оптической плотности D от концентрации растворов глицина, α -аланина, β -аланина, изолейцина, глицилглицина и лизоцима, в табл. 5.28 приведены градуировочные уравнения. Найдено, что при концентрациях изученных веществ выше 6-10 г/л оптическая плотность растворов $D>1$, что ограничивает применение метода фотометрии. Требуется, как минимум, дополнительная стадия разбавления. Диапазоны линейности для зависимостей $D=f(C)$ сопоставимы с диапазонами, полученными для градуировочных зависимостей $F_i=f(C)$.

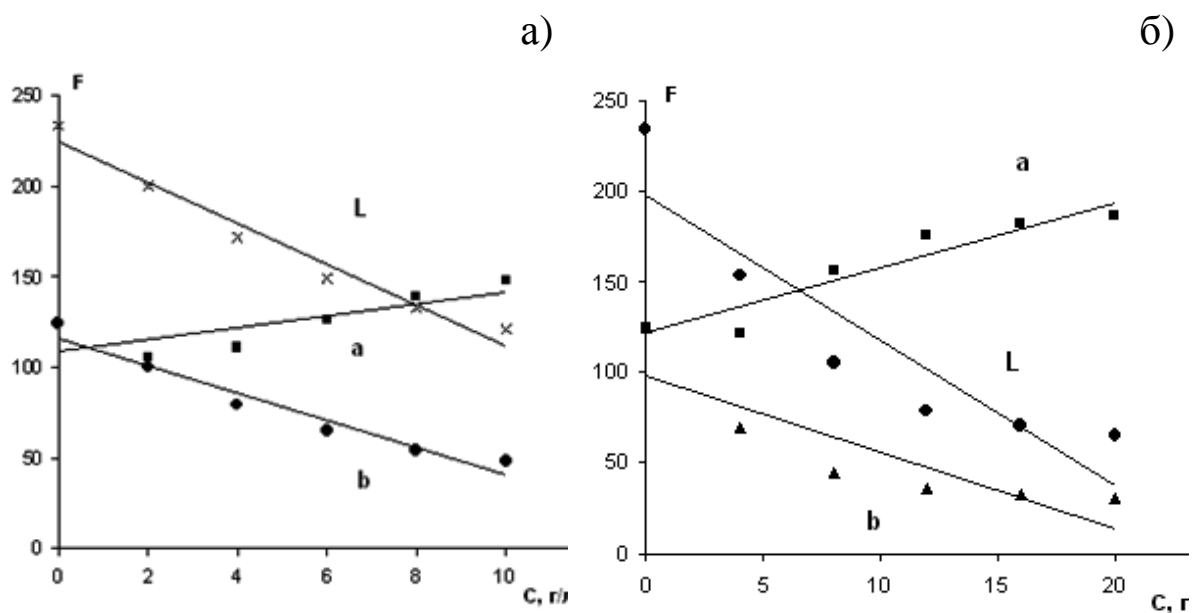


Рис. 5.30. Зависимости интенсивности компонент цветности после цветного теста с Cu^{2+} в системе *CIELAB* от концентрации водных растворов: а) глицина, б) глицилглицина

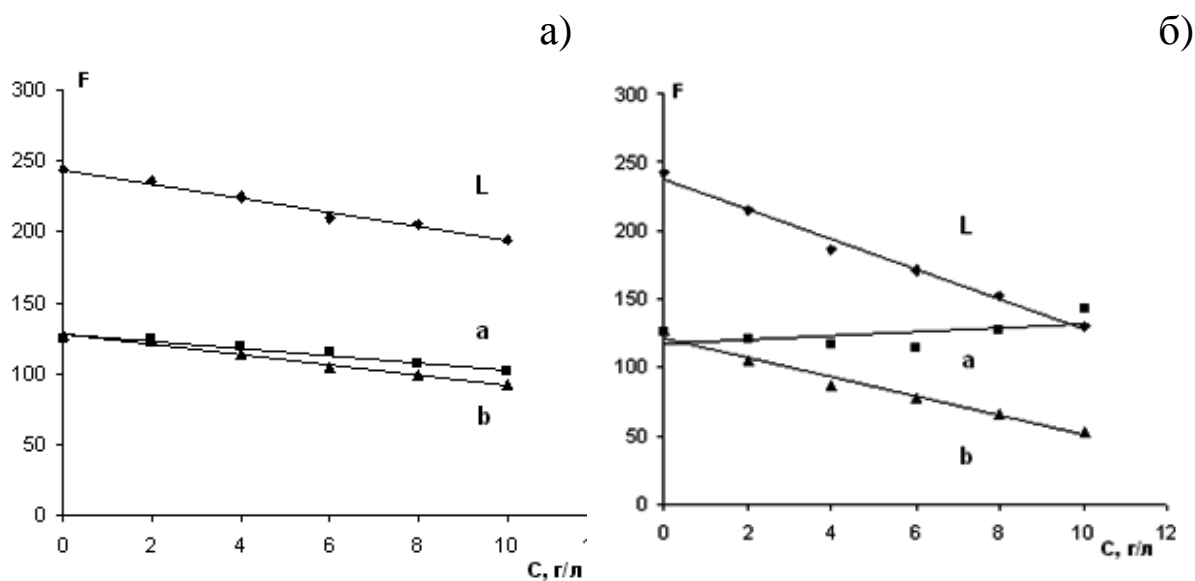


Рис. 5.31. Зависимость интенсивности компонент цветности после теста с Cu^{2+} в системе *CIELAB* от концентрации водных растворов: а) β -аланина, б) изолейцина

Параллельные опыты по количественному определению АК в водных растворах разными методиками показали хорошую воспроизводимость (табл. 5.29). Использование *F*-критерия для сравнения дисперсий приведенных результатов определения разными методи-

ками показало, что они значимо не различаются. Применение точного теста Стьюдента дает возможность считать, что значимого различия между результатами определения АК, полученными на КФК-3, с помощью ПС и ЦФК не существует.

Таблица 5.27

Градуировочные зависимости интенсивности компонент цветности $F_i=a+bC$ в системе *CIELAB* после цветного теста с Cu^{2+} от концентрации для водных растворов АК ($n=4-6$, $P=0.95$)

Вещество	Диапазон C , г/л	Градуировочное уравнение	R^2
глицин	0-10	$L=(223.5\pm6.2)-(11.3\pm1.0)C$	0.967
	0-10	$F_A=(108.1\pm8.5)+(3.3\pm1.4)C$	0.588
	0-10	$F_B=(115.4\pm4.9)-(7.5\pm0.8)C$	0.953
β -аланин	0-10	$L=(243.1\pm1.7)-(5.0\pm0.3)C$	0.988
	0-10	$F_A=(127.3\pm1.5)-(2.6\pm0.3)C$	0.963
	0-10	$F_B=(127.3\pm1.0)-(3.76\pm0.2)C$	0.992
изолейцин	0-10	$L=(237.3\pm3.6)-(11.0\pm0.6)C$	0.988
	0-10	$F_A=(116.9\pm7.1)+(1.5\pm1.2)C$	0.303
	0-10	$F_B=(121.2\pm3.1)-(7.19\pm0.5)C$	0.980
глицилглицин	0-20	$L=(197.4\pm21.5)-(8.0\pm1.8)C$	0.835
	0-20	$F_A=(121.4\pm7.3)+(3.6\pm0.6)C$	0.900
	0-20	$F_B=(98.1\pm14.5)-(4.2\pm1.2)C$	0.756

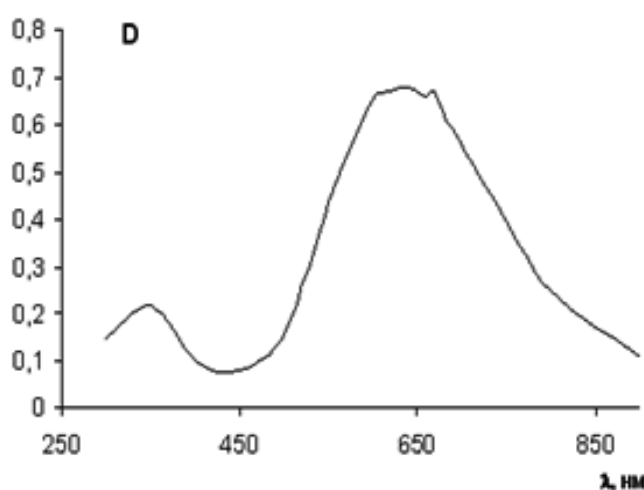


Рис. 5.32. Спектр поглощения для окрашенного комплекса β -аланина с Cu^{2+} в водном растворе

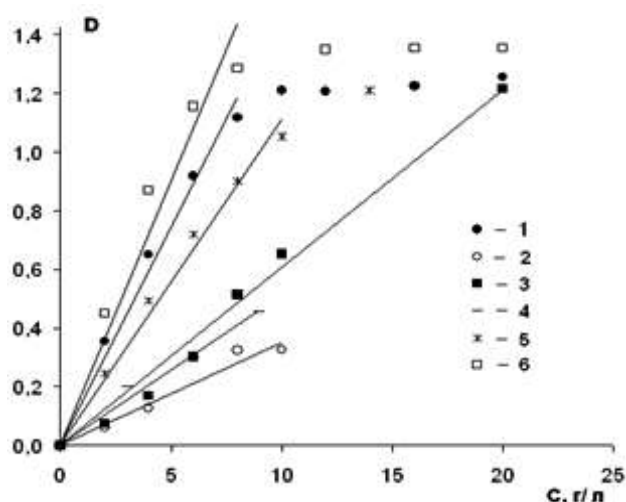


Рис. 5.33. Зависимости оптической плотности D от концентрации C водных растворов после цветного теста с Cu^{2+} : 1 – глицин, 2 – α -аланин, 3 – β -аланин, 4 – лизоцим, 5 – изолейцин, 6 – глицилглицин

Таблица 5.28

Градуировочные зависимости оптической плотности растворов от концентрации $D=aC$ после цветного теста с Cu^{2+} ($n=4-6$, $P=0.95$)

Вещество	Диапазон C , г/л	Градуировочное уравнение	R^2
глицин	0 – 6	$D = (0.148 \pm 0.047)C$	0.891
α -аланин	0 – 10	$D = (0.036 \pm 0.006)C$	0.949
β -аланин	0 – 20	$D = (0.065 \pm 0.006)C$	0.969
изолейцин	0 – 8	$D = (0.101 \pm 0.017)C$	0.918
глицил- глицин	0 – 8	$D = (0.161 \pm 0.040)C$	0.939
лизозим	0 – 9	$D = (0.051 \pm 0.008)C$	0.953

Таблица 5.29

Результаты определения концентраций АК с применением ЦФК, ПС со слайд-адаптером и на КФК-3 ($n=3$, $P=0.95$)

Вещество	Введе- но, г/л	ЦФК		ПС		КФК-3	
		найдено	S_r	найдено	S_r	найдено	S_r
глицин	4.0	4.2 ± 0.1	0.02	3.8 ± 0.1	0.01	4.3 ± 0.1	0.01
α -аланин	4.0	4.3 ± 0.2	0.02	4.1 ± 0.1	0.02	3.7 ± 0.2	0.02
изолейцин	4.0	4.7 ± 0.3	0.03	5.0 ± 0.1	0.01	4.5 ± 0.1	0.02
Глицил- глицин	4.0	4.6 ± 0.2	0.03	4.6 ± 0.1	0.01	4.5 ± 0.1	0.01

Таким образом, сравнение результатов цветометрической и фотометрической методик анализа позволяет сделать вывод, что ЦМ дает возможность анализировать растворы АК в более широком интервале концентраций (шире линейные диапазоны). При этом она не уступает по точности фотоколориметрической [164], если в качестве аналитического сигнала брать зависимости индивидуальных компонент цветности $F_i=f(C)$.

Цветометрическое определение фенилаланина с нингидрином. Для определения фенилаланина в водно-этанольных растворах с помощью метода ЦМ и фотоколориметрически использовали цветной тест с нингидрином, т.к. тест с Cu^{2+} оказался непригодным.

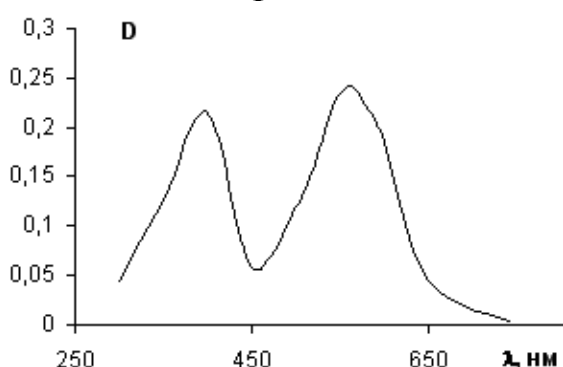


Рис. 5.34. Спектр поглощения окрашенного продукта реакции фенилаланина с нингидрином

Полученный после цветной реакции раствор фотометрировали в кюветах толщиной 10 мм, раствор сравнения – вода. Предварительно определили длину волны ($\lambda=560$ нм), при которой наблюдался максимум поглощения растворов (рис. 5.34). На рис. 5.35. показана зависимость оптической плотности от концентрации, которую можно выразить уравнением $D=(1.205 \pm 0.034)C$, $R^2=0.99$.

В случае использования ЦМ для определения концентрации фенилаланина по реакции с нингидрином подходящей оказалась величина F_G (рис. 5.36.), для которой установлена градуировочная зависимость $F_G=(240.1 \pm 20.2) - (156.5 \pm 35.4)C$; $R^2=0.91$.

Цветометрическое определение аминокислот с помощью фоторегистрации. В качестве устройств оцифровки использовали [390] ЦФК Nikon D3000.

В качестве объектов исследования выбрали следующие АК: L-аспарагин, L-лизин, глицин, глицилглицин, DL-лизина моногидрид, DL- α -аланин, DL-ориентин, DL-серин, DL-треонин, L-глутамин. Для получения окрашенных продуктов использовали биуретову и нингидриновую реакцию. Оказалось, что, не смотря на кажущийся визуально одинаковым цвет анализируемых растворов АК, соот-

ношение F_i может существенно отличаться при проведении одной и той же цветной реакции, но с разными анализатами. Это позволило выдвинуть идею, что контролируя интенсивности цветовых компонент в растворах анализата для 2 и более цветных реакций, характерных для АК, можно получить значимые для идентификации различия в наборе цветометрических данных, т.е. мультипараметрический сигнал, пригодный для решения аналитических задач.

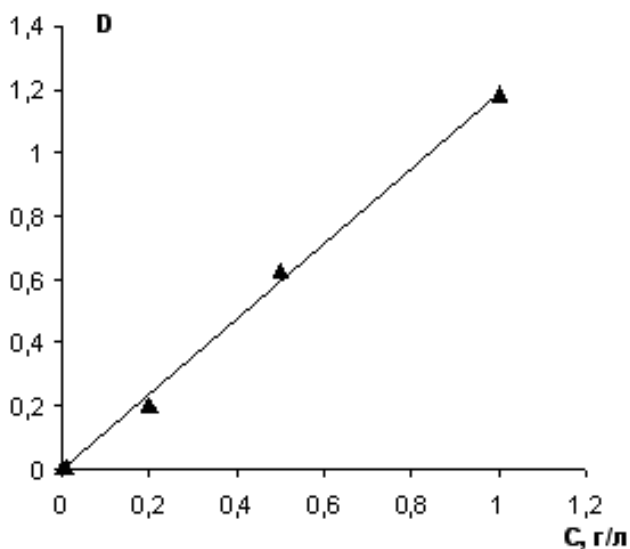


Рис. 5.35. Зависимость оптической плотности от концентрации в водно-этанольных растворах фенилаланина

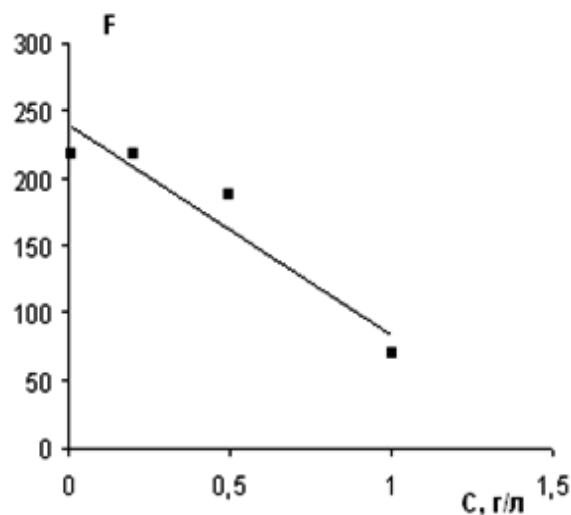


Рис. 5.36. Зависимость интенсивности компонента цветности G от концентрации фенилаланина

Проблема визуализации данных по 2-м реакциям решена простым и наглядным способом – уже зарекомендовавшим себя применением ЛД с 6-ю осями, отражающими в данном случае значения F_i в модели RGB (в последовательности $R_n, G_n, B_n, R_{\bar{o}}, G_{\bar{o}}, B_{\bar{o}}$, где индекс n и \bar{o} относятся к нингидриновой и биуретовой реакции соответственно).

ЛД строили как в оболочке Microsoft Excel (так и в оболочке MathCAD, в которой были разработаны алгоритмы расчета геометрических размеров ЛД). Как видно из рис. 5.38, ЛД образуют индивидуальный профиль, характерный для каждого анализата. Геометрические параметры ЛД – площадь (S), периметр (P), соотношение корня квадратного из площади к периметру ($S^{0,5}/P$) меняются в зависимости от типа АК и C (табл. 5.30), то есть, геометрические параметры ЛД (форма, площадь и периметр) по итогам регистрации параметров RGB

двух цветных реакций применимы в идентификации АК, их можно рассматривать в качестве обобщенного идентификационного показателя.

Таблица 5.30

Численные показатели ЛД для АК: S – площадь, P – периметр

Аминокислота	C г/л	S	P	$S^{0,5}/P$
L-аспарагин	20	26950	654	0.25
	10	39840	798	0.25
	5	29840	695	0.25
	2.5	47850	848	0.26
	1.25	93310	1172	0.26
L-лизин	20	253	64	0.25
	10	330	286	0.20
	5	934	479	0.20
	2.5	1145	528	0.20
	1.25	3578	821	0.23
Глицин	20	952	390	0.08
	10	1104	397	0.08
	5	5163	438	0.16
	2.5	7456	457	0.19
	1.25	19240	720	0.19
DL-лизина моногидрохлорид	20	757	153	0.18
	10	4792	359	0.19
	5	7955	426	0.21
	2.5	13770	565	0.20
	1.25	65160	997	0.25
DL- α -аланин	20	2092	228	0.20
	10	5459	335	0.22
	5	9412	456	0.21
	2.5	33480	733	0.25
	1.25	66230	1035	0.25
DL-треонин	10	2706	216	0.24
	7.5	5138	318	0.22
	5	11490	442	0.24
	2.5	26300	709	0.23

DL-серин	10	3146	272	0.20
	7.5	6577	363	0.22
	5	8185	405	0.22
	2.5	36460	766	0.25
DL-глутамин	10	25000	732	0.21
	7.5	17820	601	0.22
	5	58910	462	0.16
	2.5	48300	490	0.14
DL-ориеитин	10	1146	151	0.22
	7.5	1023	128	0.25
	5	2577	244	0.21
	2.5	3342	312	0.18

Установлено, что для построения концентрационных зависимостей можно использовать как площадь, так и периметр получаемых ЛД, однако при сравнительно высоких концентрациях АК (около 20 г/мл) в результате цветной реакции образуются слишком темные растворы, что приводит к нелинейному уменьшению площадей и периметров ЛД за счет тенденций $F_i(255,255,255) \rightarrow F_i(0,0,0)$ при повышении концентрации с ~ 1 до 20 г/мл (рис. 5.37).

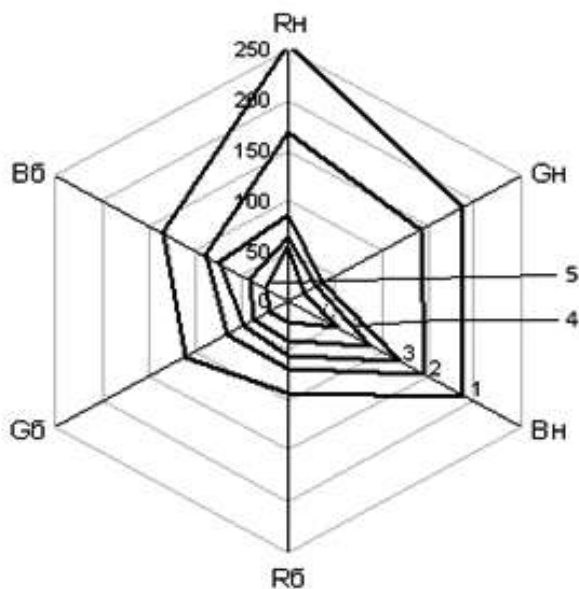


Рис. 5.37. Лепестковая диаграмма изменения цветности нингидриновой и биуретовой реакции в модели *RGB* для водных растворов DL- α -аланина различной концентрации: 1- 1.25; 2- 2.55; 3 – 5; 4 – 10; 5 – 20 г/л.

Зависимости геометрических размеров ЛД от концентрации АК могут быть линеаризованы в логарифмических координатах (рис.

5.39) со степенью аппроксимации, достаточной для построения калибровочных кривых ($R^2 \geq 0.95$). На рис. 5.39 приведены примеры градуировочных графиков для определения DL- α -аланина по логарифмическим анаморфозам $\ln(S) = (11.41 \pm 0.09) - (1.26 \pm 0.05)\ln(C)$ и $\ln(P) = (7.07 \pm 0.03) - (0.55 \pm 0.02)\ln(C)$, величина достоверности аппроксимации этих зависимостей $R^2 = 0.988$ и 0.997 , S_r равны 0.044 и 0.017 соответственно. Предел обнаружения $C_{\min} = 0.45-0.50$ г/л. Среднее время единичного анализа – 15 мин.

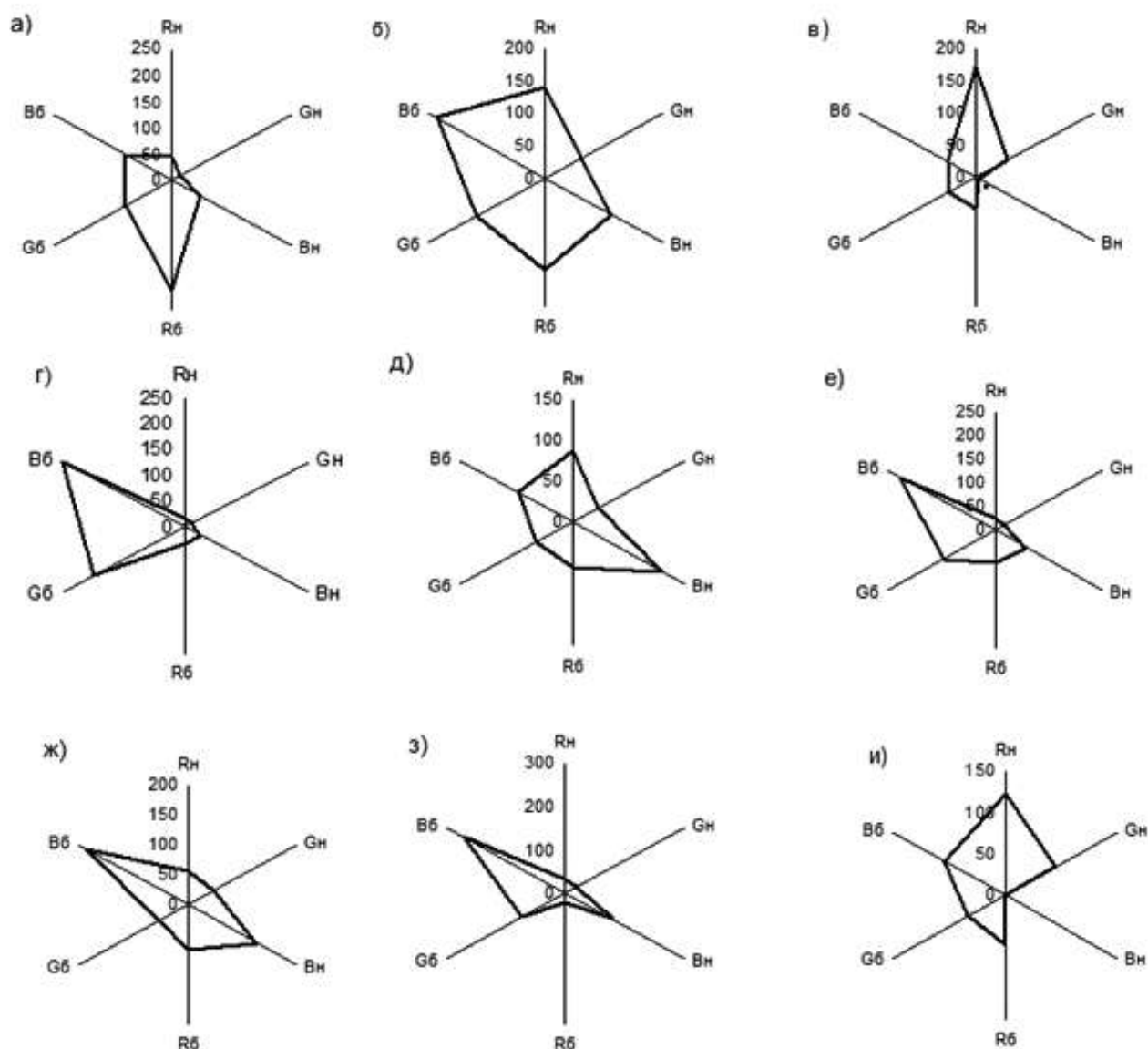


Рис. 5.38. Лепестковые диаграммы изменения цветности для различных аминокислот, $C=5$ г/л: а) L-аспарагин, б) L-лизин, в) глицин, г) глицилглицин, д) DL-аланин, е) DL-серин, ж) DL-треонин, з) L-глутамин, и) DL-лизина моногидрид

В связи с тем, что зачастую культуральные жидкости, фармацевтические, пищевые материалы содержат смеси свободных АК, в которых варьируется их соотношение, представилось интересным проанализировать зависимость цветометрических характеристик от суммарной C и соотношения отдельных компонентов в модельных смесях, состоящих из 5 АК (L-аспарагиновая кислота, глицилглицин, DL-глутаминовая кислота, L-изолейцин, L-лейцин).

На рис. 5.40 представлены ЛД для смесей АК, в которых компоненты взяты в соотношении 1:1:1:1:1 (модельная смесь 1); 1:6:1:1:1 (модельная смесь 2) и 6:1:1:1:1 (модельная смесь 3); диапазон $C=1.25-20.0$ г/л. В модельной смеси 2 взяли излишек глицилглицина, а в смеси 3 – аспарагиновой кислоты. Видно, что профиль ЛД смесей зависит от соотношения АК, но при этом сохраняется высокая степень аппроксимации для концентрационных зависимостей (табл. 5.31, 5.32), т.е. по геометрическим параметрам ЛД количественно определяется суммарное содержание свободных АК в диапазоне $C=1.25-20.0$ г/л.

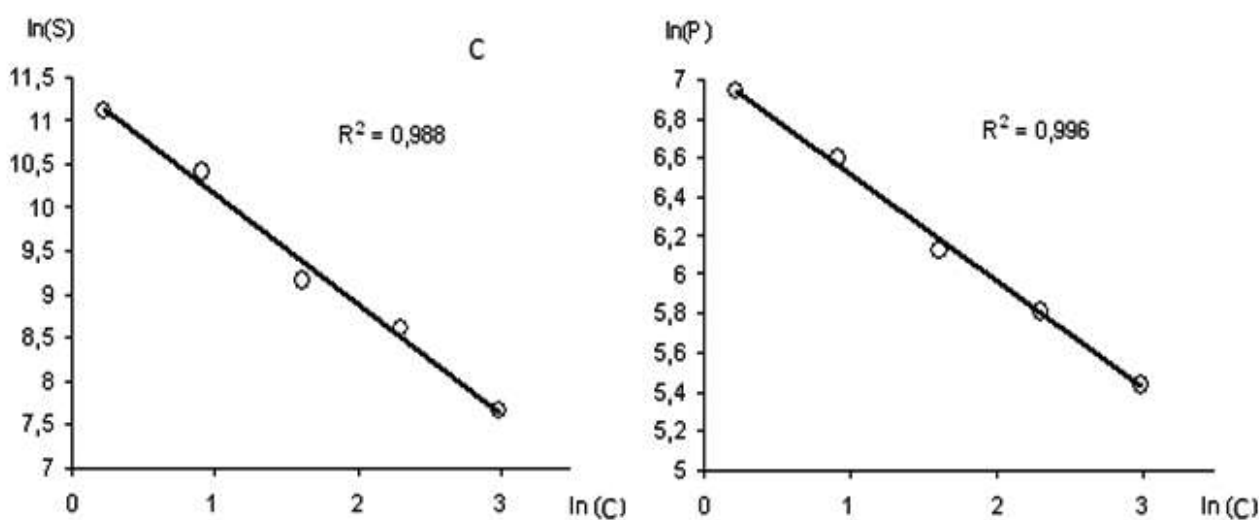


Рис. 5.39. Калибровочные графики для определения DL- α -аланина по логарифмическим анаморфозам $\ln(S)=a-b\ln(C)$ и $\ln(P)=a-b\ln(C)$

Таким образом, разработан обобщенный идентификационный показатель в виде ЛД с 6-ю осями для цветометрических методик определения АК в водных растворах по 2 стандартным цветным реакциям с использованием видеосигнала ЦФК в цветовой модели RGB . Показана возможность использования этого критерия в количественном определении аминокислот в водных растворах.

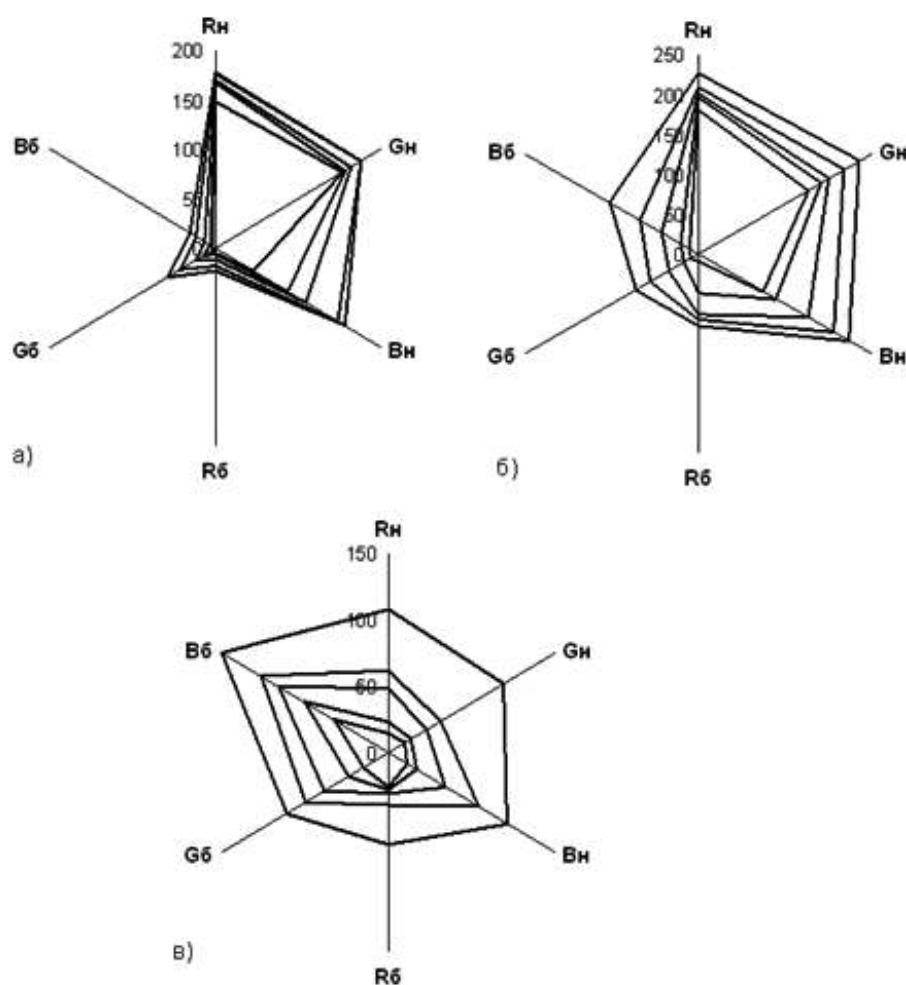


Рис. 5.40. ЛД параметров цветности смесей АК ($C=1.25-20.0$ г/л): L-аспарагиновая кислота, глицилглицин, DL-глутаминовая кислота, L-изолейцин, L-лейцин при соотношении: а) 1:1:1:1:1; б) 1:6:1:1:1; в) 6:1:1:1:1

Табл. 5.31

Градуировочные зависимости для трех модельных смесей аминокислот, полученные с использованием площади (S) и периметра (P) ЛД ($n=5$, $P=0,95$)

Модельная смесь	Градуировочное уравнение	R^2	S_r
1	$\ln(S) = (8.29 \pm 0.08) - (0.32 \pm 0.02) \ln(C)$	$R^2 = 0.973$	0.017
	$\ln(P) = (6.72 \pm 0.05) - (0.15 \pm 0.01) \ln(C)$	$R^2 = 0.971$	0.008
2	$\ln(S) = (9.02 \pm 0.08) - (0.43 \pm 0.02) \ln(C)$	$R^2 = 0.992$	0.017
	$\ln(P) = (7.02 \pm 0.06) - (0.18 \pm 0.03) \ln(C)$	$R^2 = 0.993$	0.024
3	$\ln(S) = (10.21 \pm 0.09) - (1.18 \pm 0.03) \ln(C)$	$R^2 = 0.995$	0.024
	$\ln(P) = (6.49 \pm 0.04) - (0.60 \pm 0.02) \ln(C)$	$R^2 = 0.994$	0.017

Табл. 5.32

Результаты определения суммарной концентрации смеси АК с применением ЦФК с использованием площади (S) и периметра (P) ЛД, полученных по результатам измерения параметров цветности двух цветных реакций ($n=5$, $P=0.95$).

Модельная смесь	Введено, г/л	S		P	
		найдено	S_r	найдено	S_r
1	10.0	9.8 ± 0.4	0.036	9.7 ± 0.4	0.036
2	10.0	10.3 ± 0.2	0.015	10.2 ± 0.2	0.016
3	10.0	9.7 ± 0.2	0.017	9.8 ± 0.2	0.015

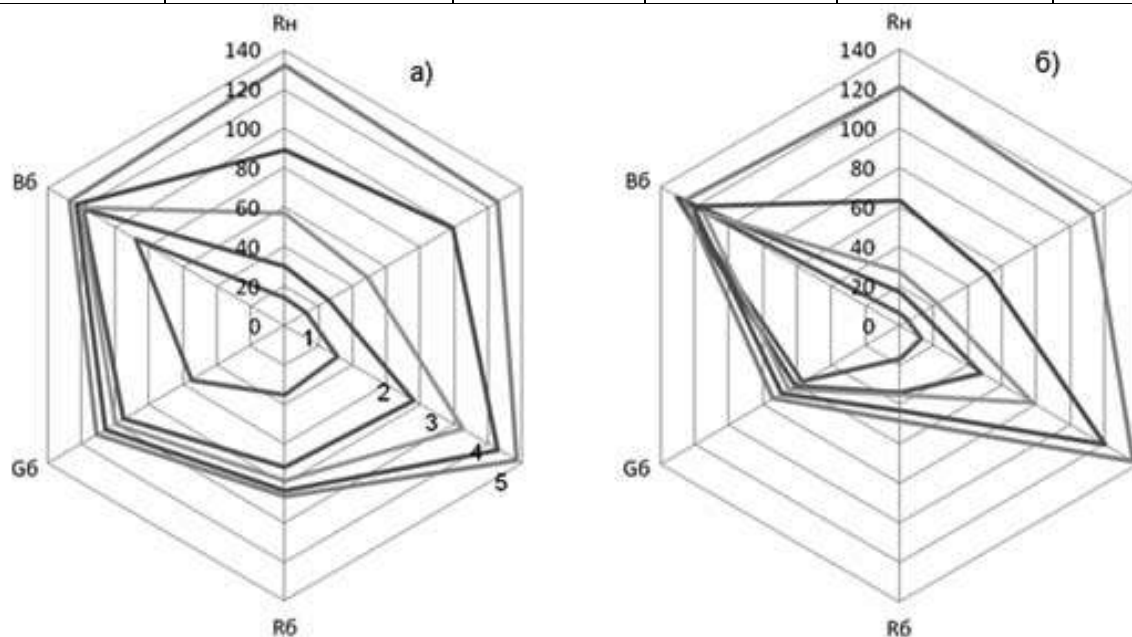


Рис. 5.41. ЛД для контроля инфезола. По осям отложены цвета продукта биуретовой реакции и цвета продукта реакции с нингидрином для С (г/мл): 1 – 0.1; 2 – 0.08; 3 – 0.06; 4 – 0.04; 5 – 0.02; а) ЦФК, б) ПС

Цветометрический анализ лекарственного препарата инфезол. Хорошим примером для апробации разработанной цветометрической методики с использованием 2 цветных реакций является препарат инфезол, который представляет собой смесь 14 АК.

Для оценки их общего содержания в лекарственном препарате применили ЦМ с цифровой регистрацией продуктов нингидриновой и биуретовой реакции. Из исходного препарата были приготовлены растворы с суммарными концентрациями АК 0.02-0.1 г/л. По результатам цветометрии окрашенных продуктов 2-х реакций построены

ЛД (рис. 5.41) и концентрационные зависимости для площадей и периметров ЛД (табл. 5.33).

Табл. 5.33

Градуировочные зависимости для растворов инфезола, полученные с использованием площади (S) и периметра (P) ЛД ($n=5$, $P=0.95$)

Способ регистрации	Градуировочное уравнение	R^2	S_r
ЦФК	$S=(39760\pm290) - (38940\pm290)C$	$R^2 = 0.99$	0.006
	$P = (846\pm6) - (178\pm3)C$	$R^2 = 0.98$	0.011
ПС	$S= (23870\pm110) - (8280\pm20) C$	$R^2 = 0.84$	0.002
	$P = (690\pm6) - (572\pm15) C$	$R^2 = 0.97$	0.021

Таким образом, по величине площади или периметра ЛД можно количественно определять суммарное содержание смеси АК в инфезоле в диапазоне $C=0.02-0.1$ г/л.

Цветометрический анализ инсулина. Молекула инсулина образована двумя полипептидными цепями, содержащими 51 аминокислотный остаток: А-цепь состоит из 21 аминокислотного остатка, В-цепь образована 30 аминокислотными остатками.

Таблица 5.34

Концентрационные зависимости для площади (S) и периметра (P) ЛД для растворов инсулина ($n=5$, $P=0.95$). По данным ЦФК и ПС

Способ регистрации	Градуировочное уравнение	R^2	S_r
ЦФК	$S=(48100\pm380)-(10900\pm90) C$	$R^2 = 0.94$	0.006
	$P =(930\pm5)-(141\pm3) C$	$R^2 = 0.95$	0.004
ПС	$S = (7580\pm50) - (1960\pm10) C$	$R^2 = 0.99$	0.004
	$P =(490\pm10) - (90\pm5) C$	$R^2 = 0.99$	0.003

Строение инсулина позволяет использовать для получения окрашенных продуктов те же цветные тесты, что и для свободных АК (биуретовую реакцию и реакцию с нингидрином). Для водного раствора инсулина с концентрациями в диапазоне 1.75-3.5 г/л проводили нингидриновую и биуретовую реакцию.

По результатам цветометрических измерений для окрашенных продуктов реакций построены ЛД для растворов инсулина с концен-

трациями 1.75-3.5 г/л (рис. 5.42) и установлены градуировочные зависимости (табл.5.34).

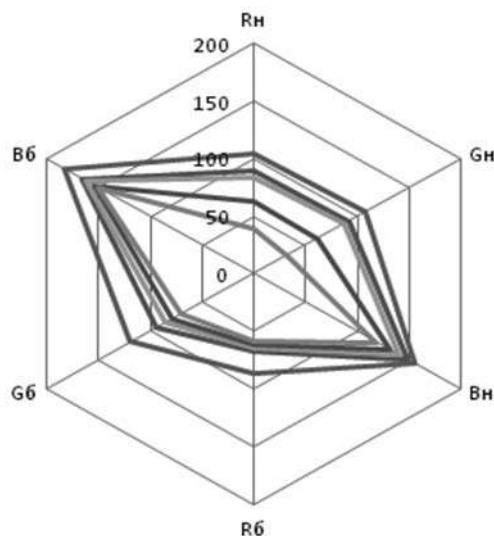


Рис. 5.42. ЛД для контроля растворов инсулина с концентрациями 1.75; 2.1; 2.8; 3.15 и 3.5 г/л. По осям отложены F_i продуктов биуретовой и нингидриновой реакций

Правильность цветометрического способа определения инсулина на примере использования ПС со слайд-адаптером и градуировочной зависимости площади ЛД от концентрации инсулина в растворе проверяли методом «введено-найдено» (было введено 2 г/л; найдено 1.89 ± 0.14 г/л, $S_r = 0.012$).

5.2.4. Цветометрическое определение фенолов и их производных

В фармацевтической, пищевой и других отраслях промышленности фенолы и их производные используются как антисептики, стабилизаторы и антиоксиданты, мономеры и прекурсоры, низшие фенолы – токсиканты. Определение их содержания актуально для количественной оценки биологической и экологической безопасности продукции. Наиболее селективным методом контроля фенолов является ВЭЖХ, для экспрессного контроля применяют ТСХ [364-366]. В ряде случаев, когда не требуется селективного покомпонентного определения, суммарное содержание фенолов (фенольный индекс) контролируют спектрофотометрическим методом [364-365].

Известен ряд цветных реакций для качественного и количественного определения фенолов, которые применяют в аналитической практике и в диагностике материалов [365]. Цифровые технологии дают дополнительные возможности в эффективном применении цветных реакций в аналитической практике для определения фенолов в водных растворах.

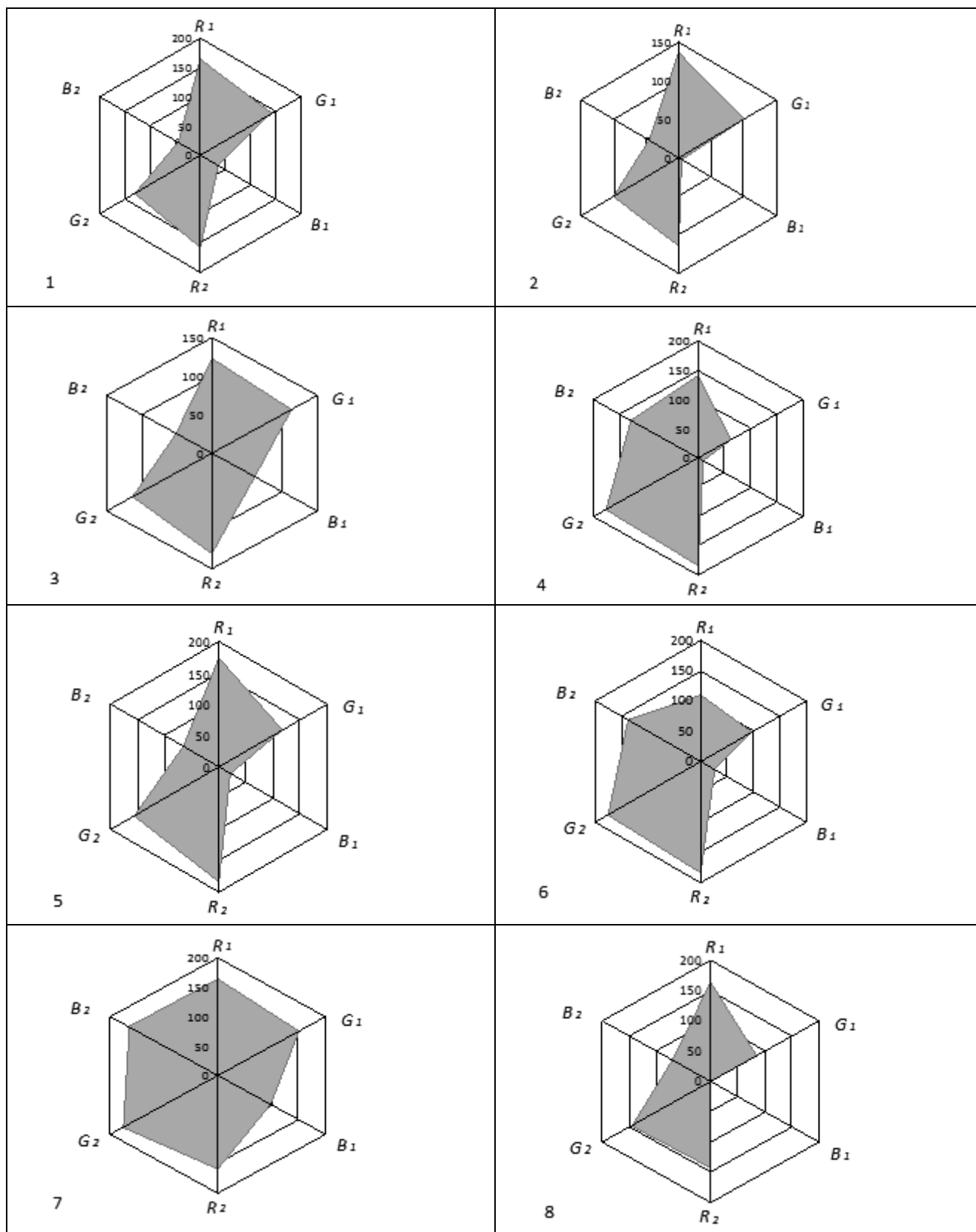


Рис. 5.43 ЛД различных фенольных соединений: 1) фенол, 2) *мета*-дигидроксибензол, 3) *пара*-дигидроксибензол, 4) *мета*-крезол, 5) *орто*-крезол, 6) *пара*-крезол, 7) *орто*-*трет*-бутилфенол, 8) *орто*-дигидроксибензол; $1.5 \leq C \leq 1.9$ г/л

В работе разработан способ определения содержания индивидуальных фенолов или суммарного содержания их смеси в водных растворах на основе анализа оцифрованных изображений растворов после проведения 2 цветных реакций [303,389]. В качестве хромогенных реакций использовали реакцию азосочетания фенолов с хромогенным агентом, полученным диазотированием *пара*-нитроанилина (реакция 1), и реакцию с FeCl_3 (реакция 2). Для получения аналитического сигнала использовали ЦФК.

Объектами исследования выбрали фенол, *орто*-, *мета*-, *пара*-крезолы, *орто*-, *мета*-, *пара*-дигидроксибензолы и *орто*-трет-бутилфенол. Обобщенные цветометрические данные представили, как в случае АК, в виде ЛД, на осях которой отложены F_i цветовых координат в модели RGB в последовательности $R_1, G_1, B_1, R_2, G_2, B_2$, где индекс 1 и 2 относятся к одной из цветных реакций. В табл. 5.35 приведены величины $F(R, G, B)$, полученные для 2 цветных реакций 8 фенолов, взятых приблизительно при одинаковых концентрациях. На рис. 5.43 построены ЛД, а в табл. 5.36 даны результаты расчетов геометрических параметров этих ЛД.

Как видно из рис. 5.43, ЛД образуют индивидуальный профиль («визуальный отпечаток»), характерный для каждого фенола, который количественно можно охарактеризовать геометрическими параметрами ЛД – площадью (S), периметром (P), соотношением корня квадратного из площади к периметру $[(\sqrt{S})/P]$, фрактальностью (D) и коэффициентом близости векторных массивов ε [367]. Площадь и периметр ЛД в случае одинаковой концентрации можно рассматривать как фактор, учитывающий реакционную способность и структуру соединения. Чем меньше эти параметры, тем темнее полученная окраска раствора, тем количественнее прошла цветная реакция, или сильнее хромофорный эффект, который будет зависеть от баланса мезомерного и индуктивного эффектов в окрашенном комплексе.

Так, если у дигидроксибензолов 2 группы $-\text{OH}$, они обе будут реагировать с хромогенным реагентом. Алкильные заместители, особенно с разветвленным углеродным скелетом, в *орто*-положении могут стерически затруднять цветную реакцию, даже группа $-\text{OH}$ в *орто*-положении, образуя водородную связь с соседней группой $-\text{OH}$, может препятствовать целевой реакции. Величины $(\sqrt{S})/P$, D и коэффициента ε в меньшей степени должны зависеть от концентрации аналита и в большей степени характеризовать индивидуальность профиля фигуры [346,388] (табл. 5.36).

Рассмотрим подробнее коэффициент близости векторных массивов ε . Распознавание образов – важная задача искусственного интеллекта. Одним из направлений для решения данного класса задач являются искусственные нейронные сети, состоящие из совокупности соединенных между собой нейронов. Основные типы искусственных нейронных сетей, применяемых в настоящее время, используют статическую модель нейрона.

Табл.5.35

Значения $F(R,G,B)$ для цветной реакции 1 и 2

Соединение	C , г/л	R_1	G_1	B_1	R_2	G_2	B_2
Фенол	0,186	164	142	36	158	131	45
<i>орто</i> -Крезол	0,171	174	118	22	184	158	65
<i>мета</i> -Крезол	0,160	141	62	10	184	175	128
<i>пара</i> -Крезол	0,148	110	97	26	184	175	137
<i>орто</i> -Дигироксибензол	0,168	164	85	0	143	146	71
<i>мета</i> -Дигироксибензол	0,166	136	101	5	114	101	45
<i>пара</i> -Дигироксибензол	0,183	123	113	61	130	113	50
<i>орто-трет</i> -Бутилфенол	0,161	164	151	98	159	176	166

Табл. 5.36

Параметры цветометрической ЛД для разных фенолов

Соединение	H	C , г/л	S	P	$(\sqrt{S})/P$	D	ε
<i>мета</i> -Дигироксибензол	0.80	0.1658	19050	623	0.222	1.67	0.260
<i>пара</i> -Дигироксибензол	0.56	0.1834	27250	657	0.251	1.78	0.215
<i>орто</i> -Дигироксибензол	0.91	0.1684	27940	740	0.226	1.81	0.248
<i>мета</i> -Крезол	2.00	0.1601	32370	775	0.232	1.66	0.430
<i>пара</i> -Крезол	2.13	0.1476	33010	778	0.234	1.27	0.302
Фенол	1.64	0.1862	36270	813	0.234	1.82	0
<i>орто</i> -Крезол	2.13	0.1706	39820	866	0.230	1.41	0.170
<i>орто-трет</i> -Бутилфенол	3.35	0.1609	53260	894	0.258	1.66	0.472

Несмотря на значительные успехи, вопросы эффективного обучения нейронных сетей и увеличения их быстродействия далеки от окончательного решения. Особенно это сказывается в задачах по распознаванию образов. Главной математической операцией, определяющей результат срабатывания отдельного нейрона, является вычисление скалярного произведения. Распознавание должно быть ин-

вариантно по отношению к положению тела в пространстве. На комплексной плоскости этому соответствуют преобразования векторов

$$y' = \lambda e^{ix} y + \eta. \quad (5.3)$$

При подготовке данных для распознавания образов выделяют контуры, соответствующие резким перепадам яркости и представляют их множеством n точек на плоскости с помощью набора комплексных чисел $a = \{a_i\}, i=1, 2, \dots, n$. Для сравнения образов a и b их необходимо привести к системе центра масс, а затем произвести нормировку:

$$\begin{aligned} a_i &\mapsto a_i - \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n a_j, \mapsto \frac{a_i}{\max_j |a_j|}, \\ b_i &\mapsto b_i - \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n b_j, \mapsto \frac{b_i}{\max_j |b_j|}. \end{aligned} \quad (5.4)$$

a – эталонный образ, b – образ для сравнения. После выполнения преобразования (5.4) они могут отличаться углом поворота χ_0 . Если коэффициенты эталонного вектора a рассматривать как комплексные веса входов когерентного нейрона, а коэффициенты точного образа b как значения сигналов на входах, то аргумент u передаточной функции примет вид:

$$u = \cos(\chi - \chi_0) \sum_{i=1}^n A_i B_i. \quad (5.5)$$

Величина u является действительной и достигает максимального значения при $\chi = \chi_0$. Для близких образов существует χ , при котором изображение с заданной точностью совпадает с эталонным. Когерентный нейрон обеспечивает прямую техническую реализацию распознавания образов.

Если данные представлены с помощью 6 различных параметров, сведенных в ЛД, то общий метод распознавания упрощается, поскольку оси диаграммы фиксированы. В этом случае вращение при идентификации исключается, а все данные кодируются одним шестимерным действительным вектором $a = (a_1, a_2, a_3, a_4, a_5, a_6)$. Сравнение с другим набором данных, представленным вектором $b = (b_1, b_2, b_3, b_4, b_5, b_6)$ осуществляется на основе скалярного произведения $(a, b) = \sum a_i b_i$. Если векторы a и b совпадают, то $(a - b, a - b) = 0$, а мерой погрешности может служить относительная величина, которая была обозначена как коэффициент близости векторных массивов:

$$\varepsilon = \sqrt{\frac{(a - b, a - b)}{(a, a)}}. \quad (5.6)$$

Таким образом, задача идентификации сводится к поиску эталонной диаграммы, характеризуемой вектором b , для которого вектор образца a дает наименьшую величину ε . В табл. 5.36 геометрические параметры ЛД отсортированы по величине гидрофобности фенолов H , которая равна логарифму распределения фенола между n -октанолом и водой. На рис. 5.44 представлена гистограмма, из которой виден достаточно четкий тренд – чем выше гидрофобность фенола, тем больше площадь и периметр ЛД. Минимальные размеры ЛД имеют дигидроксибензолы, сказывается наличие 2 гидроксильных групп, причем *орто*-дигидроксибензол больше похож на фенол, он дает менее темную окраску, что подтверждает предположение о понижении реакционной способности ОН-группы в *орто*-положении. ЛД *пара*- и *мета*-крезола слабо отличаются друг от друга, а вот *орто*-крезол и *орто*-*трет*-бутилфенол, действительно, дают наиболее бледное окрашивание растворов, что легко объяснимо стерическим эффектом заместителя.

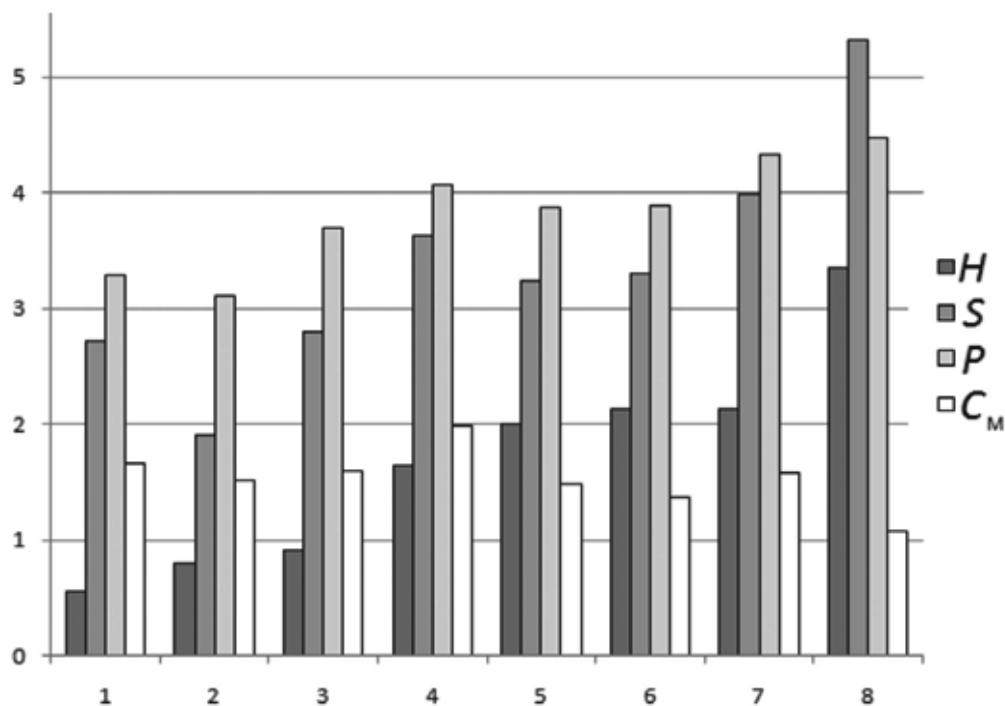


Рис. 5.44. Гистограмма, демонстрирующая изменения геометрических параметров ЛД ($S \times 10^{-4}$ и $P \times 0.5 \times 10^{-2}$) в зависимости от гидрофобности фенолов (H) при концентрациях C_m , ммоль/л: 1 – *пара*-дигидроксибензол; 2 – *мета*-дигидроксибензол; 3 – *орто*-дигидроксибензол; 4 – фенол; 5 – *мета*-крезол; 6 – *пара*-крезол; 7 – *орто*-крезол; 8 – *орто*-*трет*-бутилфенол

Сопоставление параметров $(\sqrt{S})/P$, D и ε для ЛД разных фенолов показало, что величина $(\sqrt{S})/P$ наименее чувствительна к природе аналита, форма фигур ЛД также не слишком сложна, чтобы эффективно применять фрактальность D . Более избирательной оказалась величина ε . В качестве эталонной фигуры выбрали ЛД фенола, поэтому для нее $\varepsilon=0$. Если исходить из того, что наибольшая визуальная похожесть проявляется в меньшем значении коэффициента ε , логично, что наибольшие отличия в цветных тестах проявляются между фенолом и *орто-трет*-бутилфенолом, у которого фенольный гидроксил испытывает максимальное стерическое экранирование объемным *орто*-заместителем. Таким образом, цветные реакции фенольных соединений из-за отличия в строении приводят не к идентичным, а различным параметрам цветности, и коэффициент ε количественно характеризует эти отличия. На рис. 5.45 приведены цветометрические ЛД, полученные для разных концентраций фенолов, $C=0.014-0.2$ г/л.

Рассмотрим возможность применения геометрических параметров ЛД для количественного определения содержания фенолов методом ЦМ по итогам регистрации параметров RGB двух цветных реакций. Найдено, что в диапазоне $C=0.014-0.2$ г/л имеет место практически линейное уменьшение площадей и периметров ЛД за счет тенденций $F_i(255,255,255) \rightarrow F_i(0,0,0)$. С увеличением концентрации в 10 раз и соответственным расширением диапазона зависимости $C=f(S)$ и $C=f(P)$ становятся нелинейными. Градуировочные уравнения $S=a+bC$ и $P=a+bC$ представлены в табл. 5.37. Предел обнаружения $C_{\min}=0.005-0.010$ г/л. Среднее время единичного анализа – 15 мин.

Для того чтобы проводить цветометрические определения фенолов на уровне ПДК необходима дополнительная стадия в пробоподготовке – концентрирование методами либо ЖЖЭ, либо ТФЭ [365]. Правильность цветометрического способа определения фенолов проверили методом «введено-найдено» (табл. 5.38).

Зачастую сточные воды фармацевтических производств, смывы, экстракты из различных материалов содержат смеси свободных фенолов, в которых варьируется соотношение определенного набора аналитов. В связи с этим проанализировали зависимость цветометрических характеристик от суммарной концентрации и соотношения отдельных компонентов для модельных смесей, состоящих из крезолов. Модельная смесь 1: *орто*-, *мета*- и *пара*-крезол в соотношении 1:1:1. Модельная смесь 2: *орто*-, *мета*- и *пара*-крезол в соотношении

1:1:4. Модельная смесь 3: *орто*-, *мета*- и *пара*-крезол в соотношении 1:4:1.

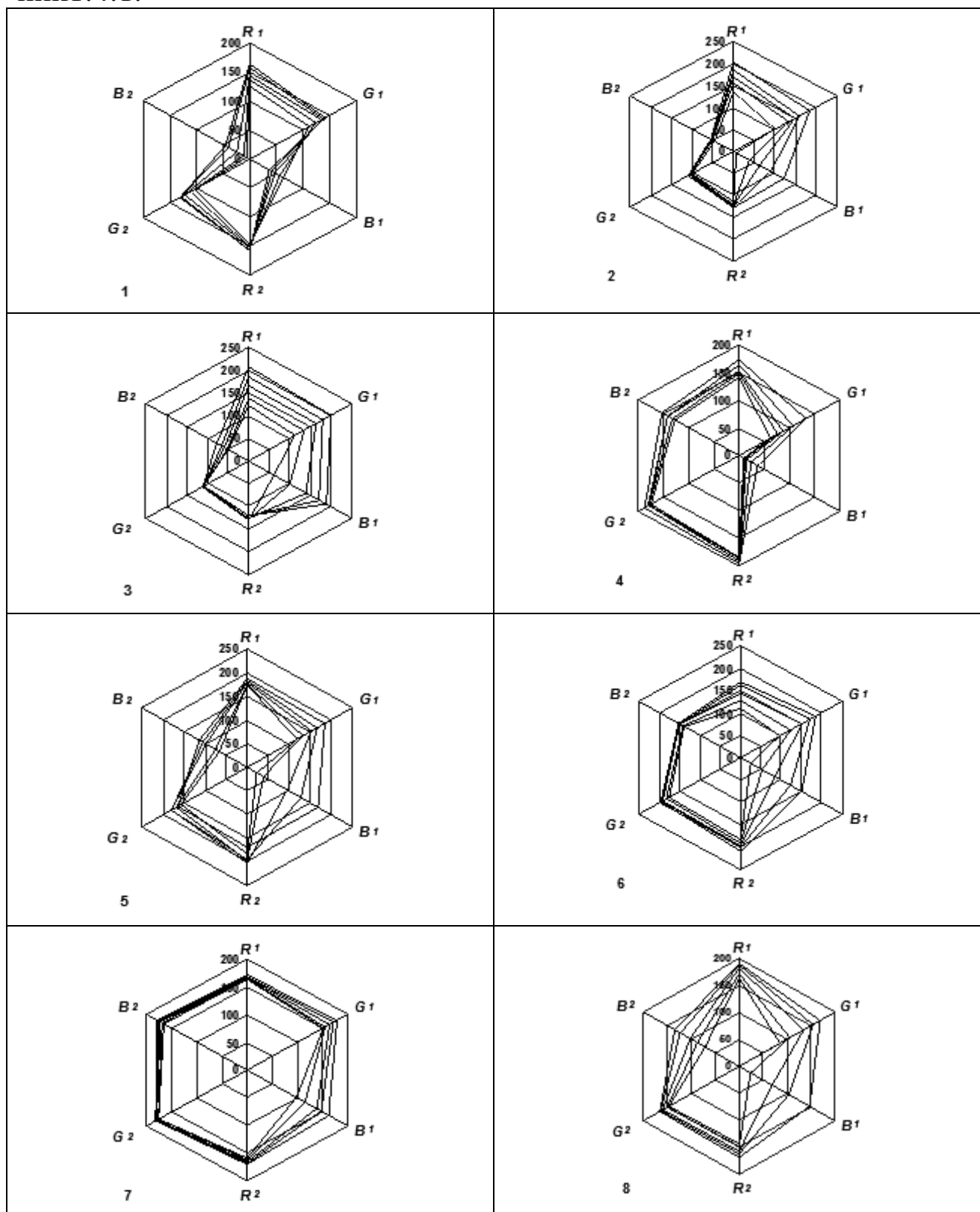


Рис. 5.45. Зависимость профиля ЛД от концентрации фенольных соединений: 1 – фенол, 2 – *мета*-дигироксибензол, 3 – *пара*-дигироксибензол, 4 – *мета*-крезол, 5 – *орто*-крезол, 6 – *пара*-крезол, 7 – *орто*-*трет*-бутилфенол, 8 – *орто*-дигироксибензол; диапазон $C=0.014-0.2$ г/л

Табл. 5.37

Градуировочные зависимости площади S и периметра P ЛД от концентрации C для различных фенольных соединений ($n=5$, $\alpha=0,05$)

Соединение	Уравнение	R
Фенол	$S=(-50060\pm3350)C+(27620\pm390)$	0.988
	$P=(-672\pm5)C+(811\pm40)$	0.990
<i>мета</i> -Дигироксибензол	$S=(-215468\pm12180)C+(54500\pm1260)$	0.987
	$P=(-1557\pm86)C+(913\pm10)$	0.987
<i>пара</i> -Дигироксибензол	$S=(-234700\pm3490)C+(69880\pm410)$	0.999
	$P=(-2084\pm32)C+(1034\pm4)$	0.999
<i>мета</i> -Крезол	$S=(-95240\pm10700)C+(48690\pm1250)$	0.953
	$P=(-833\pm71)C+(932\pm8)$	0.975
<i>орто</i> -Крезол	$S=(-208100\pm11600)C+(78660\pm1350)$	0.987
	$P=(-1008\pm64)C+(1060\pm7)$	0.984
<i>пара</i> -Крезол	$S=(-272150\pm4070)C+(82580\pm470)$	0.999
	$P=(-1796\pm18)C+(1110\pm5)$	0.999
<i>орто-трет</i> -Бутилфенол	$S=(-106300\pm2040)C+(72790\pm240)$	0.998
	$P=(-472\pm14)C+(1029\pm2)$	0.998
<i>орто</i> -Дигироксибензол	$S=(-239400\pm5870)C+(70650\pm680)$	0.997
	$P=(-1533\pm43)C+(1012\pm5)$	0.996

На рис. 5.46 представлены ЛД для этих смесей крезолов; диапазон суммарной $C=0.015-0.16$ г/л. В табл. 5.39 и 5.40 – результаты построения градуировок и проверки способа на правильность. Видно, что смесь 1, включающая повышенное содержание *орто*-крезола, несколько отличается от смесей 2 и 3 по параметрам градуировки в связи со структурными особенностями *орто*-крезола, вместе с тем коэффициент близости векторных массивов ϵ для $C=0.15$ г/л при попарном сравнении смесей находится в диапазоне 0.120-0.203, что говорит об их незначительном качественном различии. Для каждой смеси сохраняется высокая степень аппроксимации концентрационных зависимостей, построенных по величине площади или периметра ЛД, а значит предложенный способ пригоден для определения фенольного индекса в диапазоне $C=0.015-0.16$ г/л.

Цветометрический анализ парацетамола. Соединением фенольного типа, используемым в качестве лекарственного вещества, является (N – (4-гидроксифенил) ацетамид) – парацетамол. Для того

чтобы сопоставить цветометрическую методику с используемыми в фармакопейном анализе ВЭЖХ и фотометрическим анализом, провели параллельное определение этими методами парацетамола в суспензии «Парацетамол детский».

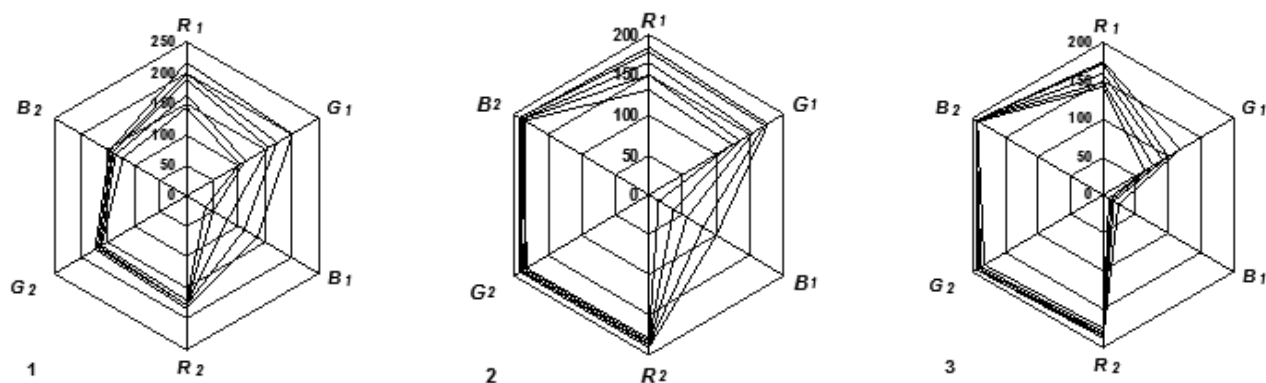


Рис 5.46. ЛД модельных смесей 1, 2, 3 при различных концентрациях

Табл. 5.38

Результаты определения концентраций фенолов с помощью ЦМ

Вещество	Введено, г/л	S	P
		найдено	найдено
<i>орто</i> -Крезол	0.080	0.082 ± 0.003	0.077 ± 0.002
<i>мета</i> -Крезол	0.085	0.091 ± 0.002	0.088 ± 0.001
<i>пара</i> -Дигироксибензол	0.091	0.092 ± 0.004	0.090 ± 0.003

Табл. 5.39

Градуировочные зависимости площади S и периметра ЛД от концентрации C для модельных смесей фенолов ($n=5$, $\alpha=0.95$)

модельная смесь	уравнение	R
1	$S = (-242580 \pm 5840)C + (72270 \pm 680)$	0.997
	$P = (-1607 \pm 32)C + (1030 \pm 4)$	0.998
2	$S = (-81550 \pm 1410)C + (47850 \pm 165)$	0.998
	$P = (-845 \pm 7)C + (930 \pm 4)$	0.999
3	$S = (-51150 \pm 2790)C + (37800 \pm 320)$	0.988
	$P = (-813 \pm 34)C + (830 \pm 5)$	0.993

Для извлечения парацетамола из суспензии был разработан усовершенствованный способ ЖЖЭ парацетамола из водного раствора ацетонитрилом, с последующей реэкстракцией путем высаливания [369].

При проведении фотоколориметрического и цветометрического анализа для окрашивания полученного экстракта использовали те же специфические реакции, что и для фенолов (с хлоридом железа (III) и с диазотированным *para*-нитроанилином). На рис. 5.47 изображены ЛД для растворов парацетамола после проведения 2-х цветных реакций. Площади ($S_{\text{ЛД}}$) и периметры ($P_{\text{ЛД}}$) ЛД находятся в линейной зависимости от концентрации (C), причем зависимость имеет степень аппроксимации, достаточную для линейной градуировки (рис. 5.48, табл. 5.41). В табл. 5.42 приведен сравнительный анализ использованных для определения парацетамола методик.

Табл. 5.40

Результаты определения суммарной концентрации смеси крезолов цветометрическим методом с использованием площади (S) и периметра (P) ЛД, полученных по результатам измерения параметров цветности двух цветных реакций

Модельная смесь	Введено, г/л	S	P
		найдено	найдено
1	0.10	0.10 ± 0.011	0.10 ± 0.007
2	0.10	0.13 ± 0.005	0.11 ± 0.010
3	0.10	0.08 ± 0.006	0.09 ± 0.008

Таблица 5.41

Аналитические зависимости геометрических размеров ЛД от концентрации парацетамола C ($n=5$, $\alpha=0.05$), $C=0.033-0.055$ г/л

Параметр ЛД	Уравнение	R
площадь	$S(C) = (-725925 \pm 11760)C + (115688 \pm 520)$	0.99
периметр	$P(C) = (-3091 \pm 80)C + (1312 \pm 10)$	0.99

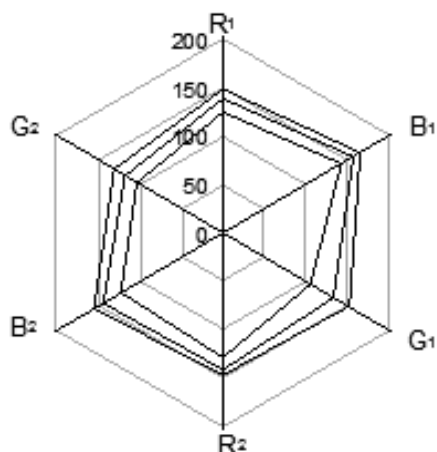


Рис. 5.47. ЛД цветности для растворов парацетамола после проведения специфической реакции 1 ($R_1G_1B_1$) и 2 ($R_2G_2B_2$) для C (г/л)=0.32-0.54

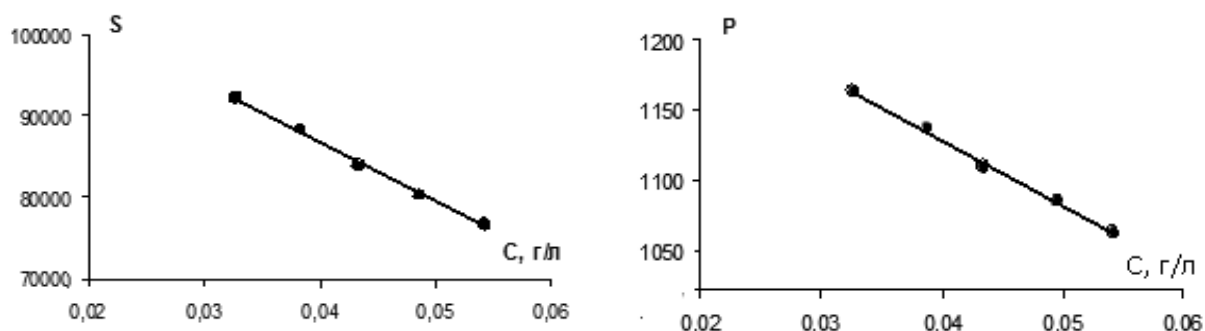


Рис. 5.48. Зависимости площади (S) и периметра (P) ЛД от концентрации парацетамола в растворе

Разработанный цветометрический способ определения концентрации парацетамола в водных растворах обладает рядом преимуществ по сравнению с фотоколориметрическим и ВЭЖХ, а именно, при сопоставимой точности определений, он реализуется на менее дорогом оборудовании, позволяет анализировать более концентрированные растворы, имеет большую информативность за счет увеличения количества регистрируемых аналитических сигналов и выполняется меньшим числом операций. Этот метод, уступая по точности фотоколориметрическому, безусловно, превосходит по достоверности и объективности визуальную методику, позволяет определять содержание аналита в более широком интервале концентраций.

В заключение главы отметим, что сравнение положения максимумов в спектрах поглощения с полученными компонентами цветности показало, что для окрашенных в желтый и желто-коричневый цвет аналитов наиболее пригодной для градуировок является синяя компонента цветности, так как растворы поглощают в фиолетовом и синем участке спектра. Для аналитов или их продуктов цветных реакций, окрашенных в красный и фиолетовый цвета, наименее яркой

является зеленая компонента G (максимумы поглощения при $\lambda=490-560$ нм, сине-зеленый участок спектра), и для получения градуировок больше подходит красная компонента R . Для аналитов или продуктов цветной реакции, окрашенных в сине-зеленый цвет, наилучшие градуировки получены для зеленой компоненты.

Таблица 5.42

Сравнительная характеристика используемых методов для определения парацетамола в водных растворах

Метод	Число операций	Преимущества	Недостатки
Фотоколориметрический	6	Экспрессность анализа, небольшой расход реагентов, высокая чувствительность	Неселективность, высокая требовательность к точности воспроизведения условий фотометрической реакции
ВЭЖХ	7	Экспрессность анализа, высокая чувствительность и селективность, хорошая воспроизводимость параллельных определений	Дорогостоящее оборудование, необходимость высокой квалификации оператора, большой расход органического растворителя марки «осч»
Цветометрический	4	Экономичность, возможность анализа более концентрированных растворов, повышение информативности за счет увеличения количества регистрируемых аналитических сигналов	Необходимы цифровые устройства (фото- и видеоаппаратура, сканер и др.), специальное программное обеспечение

Сопоставление методик регистрации изображения на ПС и ЦФК показало, что бокс для ЦФК позволяет регистрировать цветность в полевых условиях, автономно от лаборатории и компьютера. ПС с

насадкой работает только совместно с ПК, время единичного анализа больше на 3-5 минут сканер не требует предварительной настройки баланса белого, имеет точность, сравнимую с фотоколориметром. Преимуществом методик ЦМ по сравнению с фотоколориметрическими является низкая стоимость анализа, простота и экспрессность, возможность сохранения информации при регистрации результатов анализа в режиме on-line в электронном виде. Они могут быть использованы в рутинных анализах в малобюджетных лабораториях для контроля содержания БАВ и качества лекарственных средств, как прозрачной, так и непрозрачной, жидкой и твердой консистенции, для контроля качества воды и растительных масел, используемых в экстракции из растительного сырья, контроля завершения процесса экстракции. Диапазоны изменения параметров цветности F_i и интегрального изменения цвета S_F , полученные методом ЦМ пригодны как нормируемые показатели качества продукции в ТУ и ФС.

Глава 6. Применение микрофотографического способа регистрации эффектов набухания сорбционно-активных полимерных гранул в анализе растворов биологически активных веществ

На степень набухания полимерных материалов в растворах может оказывать влияние целый ряд факторов [154,321]: природа полимера и растворителя, гибкость полимерной цепи, молекулярная масса, поперечная связанность, кристаллическая структура полимера, температура и др. Для аналитической химии важным является то, что одним из факторов, влияющих на объемные эффекты, наблюдаемые при взаимодействии полимеров с растворами веществ, является химическая природа и концентрация растворенных в нем веществ. Если величина объемных эффектов может селективно и количественно зависеть от химической природы полимера и растворенного вещества, а также от его концентрации, тогда объемные эффекты можно использовать как аналитический сигнал.

Изучению возможности использования объемных эффектов набухания сорбционно-активных полимерных гранул в анализе растворов биологически активных веществ и разработке способа регистрации и обработки данных с применением цифровых технологий посвящены следующие работы [275,276,300,322-349].

Применение эффекта набухания в генерации аналитического сигнала связано с рядом проблем. Необходима, в первую очередь, на-

дежная регистрация изменения объема или поперечного размера гранулы, которая должна быть правильной геометрической формы – сферической или эллипсоидной. Гранулы полимера должны иметь однородную, без дефектов поверхность и структуру матрицы, равномерность сшивки и размеров пор. Целесообразно, чтобы процесс набухания быстро достигал равновесного состояния. Гранулы при регистрации изменения размеров при набухании не должны перемещаться [341,345].

Еще одна проблема, которую необходимо решить при использовании эффектов набухания – это обеспечение селективности изменения объема гранул в зависимости от природы аналита. При микроскопических измерениях определение размера гранул может быть сопряжено с ошибками 3 видов, а именно: ошибками увеличения пропорциональными размеру изображения; ошибками, вызванными неправильным определением границы изображения, а также отклонением формы гранулы от сферической. Ошибки увеличения обусловлены искажающей абберацией, возникающей из-за изменения радиуса изображения. Ошибки, возникающие из-за хроматической абберации, можно устранить, если использовать для освещения монохроматический свет. Для наблюдения за размером гранул с диаметром от 0.3 до 0.5 мм достаточен объектив с 10-кратным увеличением. Ошибка при определении объема гранул оказывается меньше, чем ошибка определения линейных размеров гранул, связанная с отклонением формы зерен от сферической [154]. Все это необходимо было принять во внимание при оптимизации методики регистрации объемных эффектов.

Объемные эффекты гранул полимеров и ионообменных смол в растворах давно привлекали к себе внимание исследователей. Для их регистрации использовали аналоговую и цифровую микрофотографию, макроизмерения в колонках, заполненных гранулами, изопиестический метод и дилатометрию [154,350-352]. Современные достижения в цифровой фотографии и программном обеспечении по обработке электронных изображений позволяют наиболее эффективно использовать именно цифровые технологии в измерении степени набухания полимерных частиц. Цифровые устройства позволяют не только регистрировать видеосигнал, но и транслировать его на персональный компьютер для последующей программной обработки полученных изображений. Помимо высокой производительности, экспрессивности, документальности, доступности и компактности ЦФК предоставляет возможность сохранения большого числа данных и

применима как в лаборатории, так и в полевых условиях.

Рудаковой [348] разработано и запатентовано оптическое мультисенсорное устройство для анализа жидких сред с использованием набухающих гранул с различной чувствительностью к аналиту. Такая мультисенсорная система априори должна предоставлять исследователю более надежную аналитическую информацию, чем единичный сенсор.

Методики анализа с использованием цифрового контроля над размером нескольких гранул в растворах аналита были испытаны на растворах электролитов и неэлектролитов, водных растворах АК, белков, некоторых лекарственных препаратов, водно-спиртовых растворов и спиртовых настойках БАВ.

6.1. Свойства полимерных материалов и методики их подготовки для измерения объемных эффектов

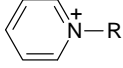
В качестве чувствительных элементов для мультисенсорной системы из набухающих гранул пригодны сферические гранулы полимерных сорбентов ионообменной и неионогенной природы (табл. 6.1).

Таблица 6.1.

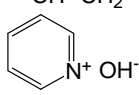
Физико-химические свойства ионогенных и неионогенных материалов, использованных в работе

Материал	Описание материала	Внешний вид	Функциональные группы	Рабочий диапазон pH	Ионная форма	Зернение, мм
С 120 E H ⁺	Полистирольный гелевый катионит сильнокислотный	сферические гранулы желто-коричн. цвета	-SO ₃ H	от 0-1 до 13-14	H ⁺	0.4-1.25
КУ-23 H ⁺	Полистирольный макропористый катионит сильнокислотный	сферические гранулы от желтого до темно-коричн. цвета	-SO ₃ H	от 1 до 14	H ⁺	0.315-1.25
СГ-1М H ⁺	Катионит карбоксильный слабокислотный, макропористый	непрозрачные белые сферические гранулы	-COOH, -C ₆ H ₄ -OH	от 6 до 9	H ⁺	0.8-2.0

Продолжение табл.6.1

КБ-4-10П Н ⁺	Катионит карбоксильный, полиакриловый слабои-слотный, макро-пористый	непрозрачные сферические гранулы бело-го цвета	-COOH	от 7 до 14	H ⁺	—
КБ-2-4 Н ⁺	катионит карбоксильный полиакриловый слабои-слотный, макро-пористый	прозрачные сферические гранулы бело-го с желтова-тым оттенком цвета	-COOH	от 4-6 до 14	H ⁺	0.3-1.0
КБ-2э7 Н ⁺	Полиакриловый макропористый катионит слабои-слотный	прозрачные сферические гранулы	-COOH	—	H ⁺	—
КБ-4П-2 Н ⁺	Катионит карбоксильный полиакриловый слабои-слотный	прозрачные сферические гранулы	-COOH	от 4-6 до 14	H ⁺	0.25-1.0
АВ-17 Cl ⁻	Полистирольный гелевый анионит высокоосновный	сферические гранулы жел-того цвета	$\text{—}\overset{+}{\text{N}}(\text{CH}_3)_3$	от 0 до 13-14	Cl ⁻	0.4-1.2
АВ-16 ГС OH ⁻	Анионит проме-жуточно-основный	сферические гранулы жел-то-корич. цве-та		от 0 до 8-9	OH ⁻	0.4-1.6
ПАА	Полиакриламид, 3 % сшивки N,N'-метилен-бисакриламидом	прозрачные сферические гранулы	—CONH ₂	от 1-2 до 10-11	—	—
ПВС	Поливиниловый спирт марки 18/11, 20 % сшив-ки эпихлор-гидрином	прозрачные сферические гранулы	>CH-OH	—	—	0.3 -3.0
MN Purolite	Сверхсшитый по-листирол	непрозрачные гранулы бело-го цвета	—	—	—	0.3-1.2
ВП 1 An	Винилпиридино-вый анионит сильноосновный	сферические гранулы жел-того цвета	$\text{—CH—CH}_2\text{—}$ 	1-7		0.4-1.2

Продолжение табл. 6.1

ВП 14 К	Винилпиридиновый амфолит	Сферические гранулы желтого цвета		3-8		0.4-1.2
WO-FATIT AK 40 tech	Целлюлозный анионит слабоосновный	Прозрачные сферические гранулы				0.4-1.2
WO-FATIT EA 60	Целлюлозный анионит сильноосновный	Полупрозрачные сферические гранулы	$\text{---N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$			0.4-1.2
WO-FATIT ES tech	Целлюлозный анионит сильноосновный	Прозрачные сферические гранулы				
TUL-SION A-23 Cl ⁻	Полистирольный гелевый, анионит сильноосновный	Сферические гранулы от белого до серовато-желтого цвета	Четвертичный аммоний			
TUL-SION A-2 X MP	Макропористый слабоосновный анионит, сополимер полистирола	Сферические гранулы от белого до серовато-желтого цвета	Третичный амин	0-9	Свободное основание	0.3 – 1.2
TUL-SION A-8 X MP	Макропористый слабоосновный анионит, сополимер полиакрила	Сферические гранулы от белого до серовато-желтого цвета				0.3 – 1.2
TUL-SION A-10 X MP	Макропористый слабоосновный анионит, поперечно-сшитый полиакрил	Сферические гранулы от белого до серовато-желтого цвета	Полиамин	0-9	Свободное основание	0.3 – 1.2
TUL-SION A-20 Gel	Гелевый анионит слабоосновный, сополимер полиакрила	Сферические гранулы от белого до желтого цвета	Третичный амин	0-9	Свободное основание	0.3 – 1.2
TUL-SION A-23	Гелевый анионит сильноосновный, сополимер полистирола	Сферические гранулы от белого до желтого цвета	Четвертичный аммоний	0-14	Cl ⁻	0.3 – 1.2

Продолжение табл. 6.1

TUL-SION A-23 P	Макропористый анионит сильно-основный	Сферические гранулы серовато цвета	Четвертичный аммоний	0-14	Cl ⁻	0.3 – 1.2
TUL-SION A-23 Gel UPS	Гелевый анионит слабоосновный, сополимер полистирола	Сферические зерна янтарного цвета	Четвертичный аммоний	0-14	Cl ⁻	0.3 – 1.2
TUL-SION T-42 MP	Катионит слабо-кислотный, макропористый	Сферические зерна янтарного цвета	-SO ₃ H	0-14	H ⁺	0.3 – 1.2
TUL-SION T-42	Катионит сильно-кислот., гелевый, сополимер полистирола и дивинилбензола	Сферические зерна янтарного цвета	-SO ₃ H	0-14	Na ⁺	0.3 – 1.2
TUL-SION T-46	Катионит сильно-кислот., сополимер полистирола	Сферические зерна янтарного цвета	Сульфоновая	0-14	H ⁺	0.3 – 1.2
TUL-SION T-52	Катионит сильно-кислотный, сополимер полистирола	Сферические гранулы от светло-желтого до темно-корич. цвета	Сульфоновая	0-14	H ⁺	0.3 – 1.2

6.2. Кондиционирование, очистка и получение различных ионных форм ионообменных материалов

Необходимую стабильность структуры, очистку и повышение однородности ионитов достигают кондиционированием. Для этой цели катиониты обрабатывали растворами 1-2 моль/л NaOH, водой, 1–2 моль/л HCl и снова водой, а аниониты – растворами 1-2 моль/л NaCl (или HCl той же концентрации); водой, 1-2 моль/л NaOH и снова водой. Для кондиционирования катионитов и анионитов, являющихся слабыми электролитами, вместо NaCl брали, соответственно, NaOH и HCl. Кондиционирование слабокислотных катионитов и слабоосновных анионитов, сильно изменяющих свой объем при переходе из одной ионной формы в другую, проводили на воронке с пористым

фильтром. О полноте отмывки судили по реакции фильтрата, определяемой с помощью индикаторов, или измерением рН. Перевод ионов в желаемую ионную форму осуществляли, пропуская 1–2 моль/л раствор необходимого реагента (HCl – для перевода катионитов в Н-форму, NaOH – для перевода анионитов в ОН-форму, хлоридов или других растворимых солей – для получения солевых форм), до постоянства его концентраций в фильтрате или же до отрицательной реакции на вытесняемый ион. Для слабокислотных катионитов и слабоосновных анионитов использовали растворы с меньшей концентрацией, чтобы избежать разрушения ионита. Фракционирование ионитов производили в набухшем состоянии с помощью стандартных сит для расцеивания с диаметром отверстий 1.0 и 0.34 мм.

6.3. Методики определения размеров гранул

Методика микрофотографического определения. Использовали установку, позволяющую контролировать изменение объема гранулы ионита с помощью микроскопа [348]. Она состоит из ячейки для гранул в исследуемом растворе, источника света в виде красного светодиода, позволяющего получать изображение гранулы с четким контуром, микроскопа BIOLAM, ЦФК Olympus SP-500 UZ для регистрации сигнала и передачи его на ПК для последующей обработки (рис. 6.1).

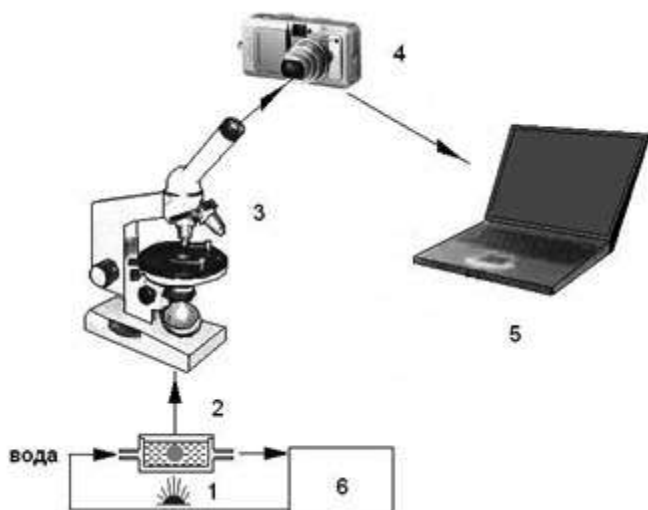


Рис. 6.1. Схема прибора для регистрации эффектов набухания гранул: 1 – источник света (светодиод); 2 – оптическая ячейка с гранулой; 3 – микроскоп; 4 – ЦФК; 5 – ПК; 6 – термостат

Для регистрации объема гранулы, ее помещали в пластиковый планшет, заполненный водой или раствором сравнения, закрытый стеклянной пластиной. Через промежуток времени, необходимый для достижения равновесного объема гранулы, проводили регистрацию набухшей гранулы. Из ячейки шприцем удаляли воду или раствор сравнения и дозатором заполняли ячейку анализируемым раствором.

После достижения равновесного состояния гранулы в анализируемом растворе вновь проводили регистрацию. Программная часть установки состояла из 2-х приложений: программы Cam2Com для получения электронного изображения от ЦФК и программы «Фотомерка» или Рixia для расчета размеров гранул [153,154].

Планшет термостатировали при заданной температуре с точностью ± 1 °С. Для получения мультисенсорного сигнала использовали 5-7 гранул размером 0.50-0.75 мм формы, близкой к сферической (по данным измерений на лазерном дифрактометре Fritsch Analysette 22 NanoTech Combi).

По полученным в формате *JPEG* цифровым изображениям набухших гранул определяли поперечный размер гранул и рассчитывали относительное изменение объема F гранул в анализируемом растворе по сравнению с чистым растворителем или раствором сравнения:

$$F = \frac{V - V_0}{V_0}, \quad (6.1)$$

где V – объем гранулы в растворе аналита, V_0 – объем гранулы в чистом растворителе или растворе сравнения. В связи с тем, что наряду с положительным эффектом набухания возможен отрицательный – контракция, с целью получения количественного обобщенного показателя использовали абсолютные значения изменения относительного объема гранул:

$$\alpha_{abs} = \left| \frac{V - V_0}{V_0} \right|. \quad (6.2)$$

Такой подход позволяет устранить разнонаправленность векторов изменения объема при положительном и отрицательном набухании.

Дилатометрическая методика определения. Деформации гранул определяли также дилатометрическим методом на установке для термомеханических и дилатометрических исследований полимеров УИП-70 (ЦКБ АН СССР)[345]. Диаметр гранулы перед экспериментом определяли с точностью 1 мкм микроскопом МИН-8. Образец гранулы помещали в специально выточенное сферическое углубление (радиус 1.0 мм, глубина 0.2 мм) в кварцевой пластине. Пластины помещали в измерительную камеру прибора. Изменение диаметра гранулы регистрировали потенциометром с точностью ± 0.5 мкм. После нанесения микрошприцем порции воды объемом ~ 0.02 - 0.03 мл на образец, камеру закрывали и при комнатной температуре в автомати-

ческом режиме записывали кривую изменения размера образца до полного прекращения увеличения диаметра гранулы в растворителе и достижения равновесного состояния. Объемную деформацию e_{sw} сферического образца при поглощении или десорбции растворителя рассчитывали по уравнению:

$$e_{sw} = (V_{sw} - V)/V = [(D_{sw}/D)^3 - 1]100, \quad (6.3)$$

где D , V – диаметр и объем сухой гранулы, D_{sw} , V_{sw} – диаметр и объем гранулы в процессе набухания или высушивания.

6.4. Особенности кинетики набухания ионогенных и неионогенных полимеров в водных и водно-спиртовых растворах

Для изучения возможностей применения эффекта набухания гранул в растворах в качестве аналитического сигнала необходимым условием является установление закономерностей формальной кинетики набухания, установление времени достижения равновесия и условий, позволяющих получать воспроизводимый результат.

Гранулы выбранных для исследования полимеров, выдержанные предварительно в ректификованном спирте (96 масс. %) в водно-спиртовых растворах набухают. Чем выше концентрация воды, тем сильнее эффект набухания. Для гранул, выдержанных в воде, наблюдается отрицательное набухание в водно-спиртовых растворах, тем более выраженное, чем выше массовая доля этанола. Этот эффект можно назвать контракцией, хотя под этим термином в химии полимеров обычно понимают уменьшение объема всей системы в целом, а не только фазы полимера. Общее уменьшение объема системы в данной работе не измеряли.

Наиболее сильный эффект набухания наблюдали для гранул полимеров неионогенного типа (ПАА с 3% сшивкой и ПВС с 20% сшивкой) – в 3.5-4 раза в воде, для них же характерны максимальные эффекты контракции – 70-80% в 96%-ном этаноле. Достаточно сильно выраженные объемные эффекты получены также для гранул сильных анионообменных смол – максимальное набухание примерно в 1.5 раза и контракция – до 25-30%. Для слабокислотных катионитов наблюдались слабые объемные эффекты. В табл. 6.2 приведены примеры данных о максимальных и минимальных значениях набухания этих гранул (относительные объемы $f=V/V_0$). Эксперимент проводили в условиях термостатирования при 25 °С.

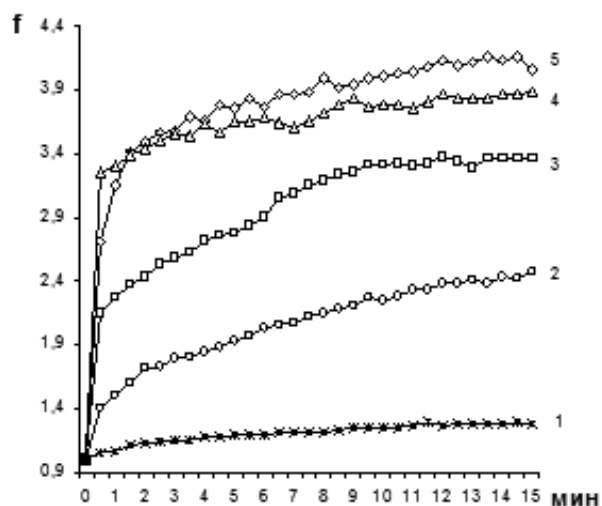
Таблица 6.2

Объемные эффекты гранул полимеров в водно-спиртовых растворах

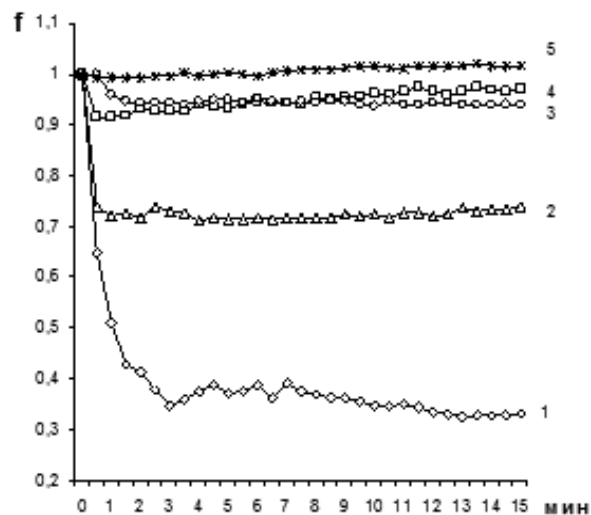
Марка	Тип полимера	f_{\max}	f_{\min}
AB 17 Cl ⁻	анионит сильноосновный	1.21	0.75
C 120 E H ⁺	катионит сильноокислотный	1.17	0.93
ПАА 3% сшивки	неионогенный	3.48	0.21
ПВС 20% сшивки	неионогенный	4.05	0.33
ВП 1 An	анионит сильноосновный	1.40	0.73
ВП 14 K	амфолит	1.43	0.66
WOFATIT AK 40 tech	анионит слабоосновный	1.07	0.99
WOFATIT EA 60	анионит сильноосновный	1.40	0.74
WOFATIT ES tech	анионит сильноосновный	1.66	0.67
TULSION A-2 XMP	анионит слабоосновный	1.13	0.94
TULSION A-8 XMP	анионит слабоосновный	1.20	0.85
TULSION A-23 Cl ⁻	анионит сильноосновный	1.25	0.80
TULSION A-23 P	анионит сильноосновный	1.28	0.79
TULSION T-42 Na ⁺	катионит сильноокислотный	1.38	0.72

На рис. 6.2-6.12 приведены кинетические кривые набухания гранул различных полимеров, полученные микрофотографическим и dilatометрическим способами. Кинетика набухания, как известно, определяется сродством жидкости к полимеру и скоростью диффузионных процессов. В пористых полимерах набухание ускоряется в результате капиллярного проникновения в них жидкости. Для некоторых полимеров воспроизводимо наблюдается временное превышение степени набухания над ее равновесным значением.

Установлено наличие заметных флуктуаций величины f квазипериодического и стохастического типа на стадии, близкой к равновесному состоянию. Наиболее вероятным объяснением этих флуктуаций является разброс экспериментальных точек, вызванный возможностью свободного перемещения гранул в декартовых координатах. Нельзя исключить принципиальную возможность вращательных перемещений в измерительной ячейке. Вертикальные перемещения могут реализовываться при изменении плотности гранул в процессе набухания. В отдельных случаях замечали даже всплытие или погружение гранул в растворах.

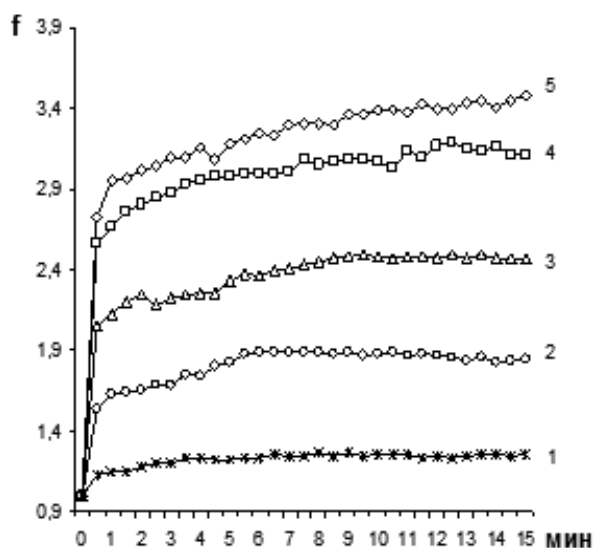


а)

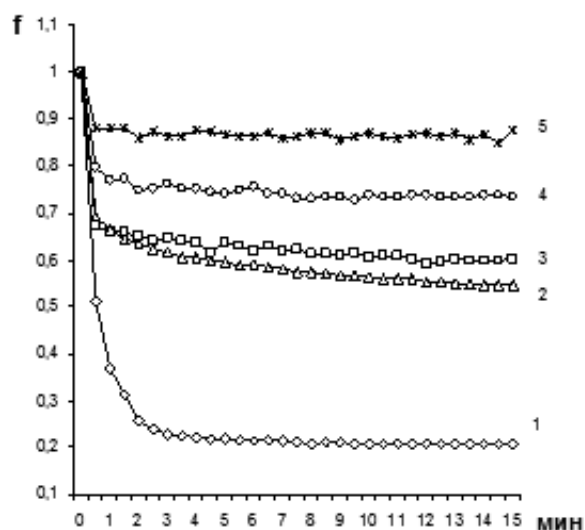


б)

Рис. 6.2. Кинетика изменения f для гранул ПВС, выдержанных а) в воде или б) в ректификованном спирте, в водно-спиртовых растворах различной концентрации а) 1 – 30; 2 – 60; 3 – 80; 4 – 95; 5 – 100 % об. воды, б) 1 – 4%; 2 – 30%; 3 – 60%; 4 – 80%; 5 – 95% об. воды.

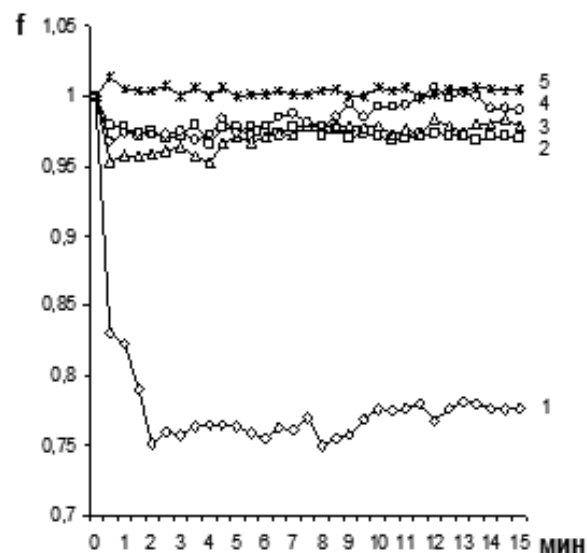
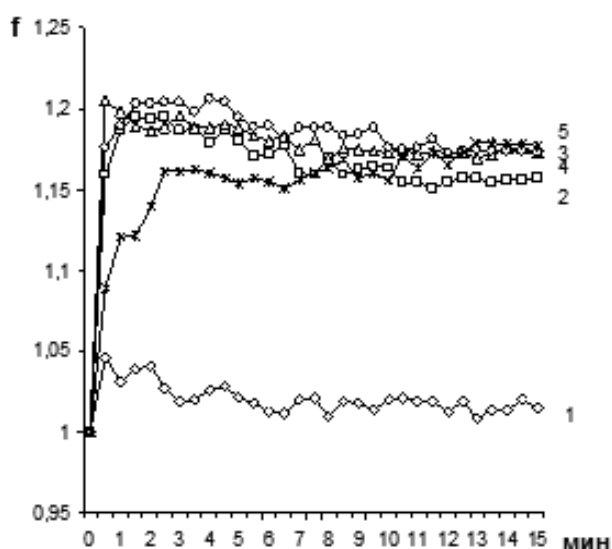


а)



б)

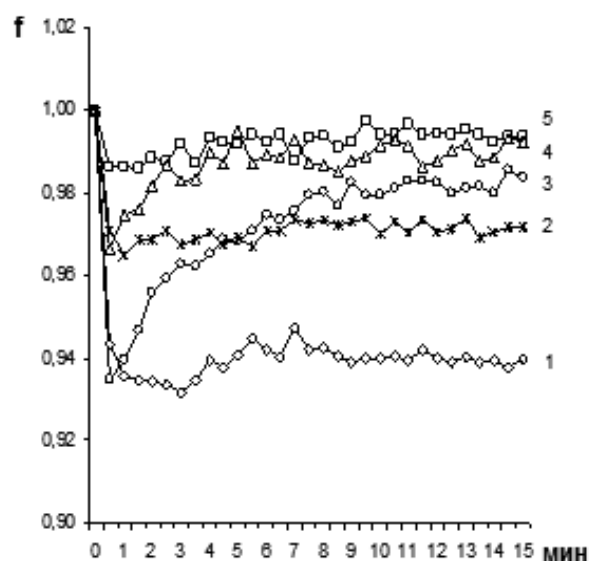
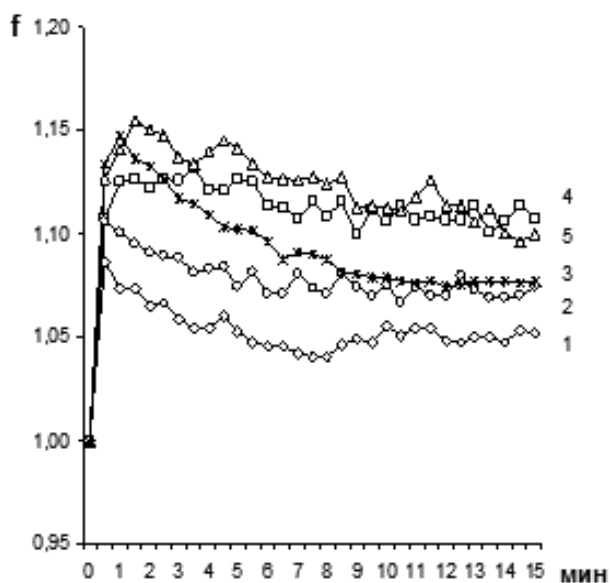
Рис. 6.3. Кинетика изменения f для гранул ПАА, выдержанных а) в воде или б) в ректификованном спирте, в водно-спиртовых растворах различной концентрации а) 1 – 30; 2 – 60; 3 – 80; 4 – 95; 5 – 100 % об. воды, б) 1 – 4%; 2 – 30%; 3 – 60%; 4 – 80%; 5 – 95% об. воды.



а)

б)

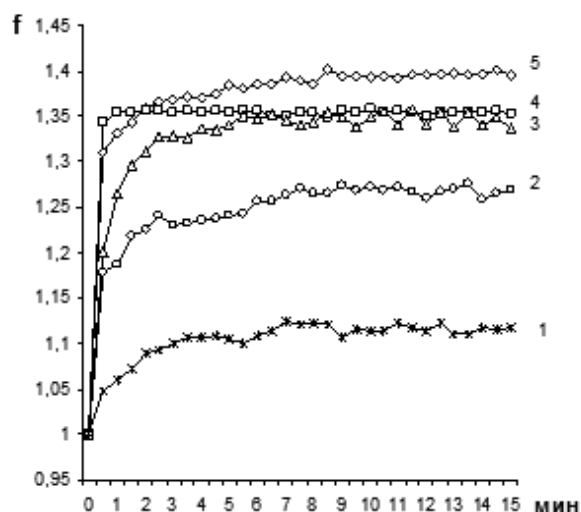
Рис. 6.4. Кинетика изменения f для гранул АВ 17 СГ, выдержанных а) в воде или б) в ректификованном спирте, в водно-спиртовых растворах различной концентрации а) 1 – 30; 2 – 60; 3 – 80; 4 – 95; 5 – 100 % об. воды, б) 1 – 4%; 2 – 30%; 3 – 60%; 4 – 80%; 5 – 95% об. воды.



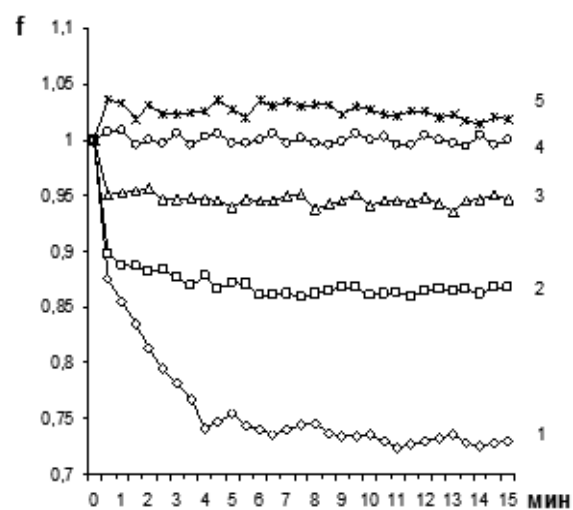
а)

б)

Рис. 6.5. Кинетика изменения f для гранул С 120 Е, выдержанных а) в воде или б) в ректификованном спирте, в водно-спиртовых растворах различной концентрации а) 1 – 30; 2 – 60; 3 – 80; 4 – 95; 5 – 100 % об. воды, б) 1 – 4%; 2 – 30%; 3 – 60%; 4 – 80%; 5 – 95% об. воды.

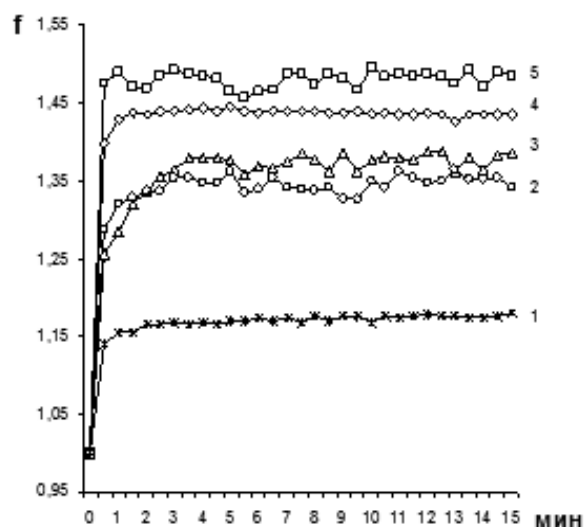


а)

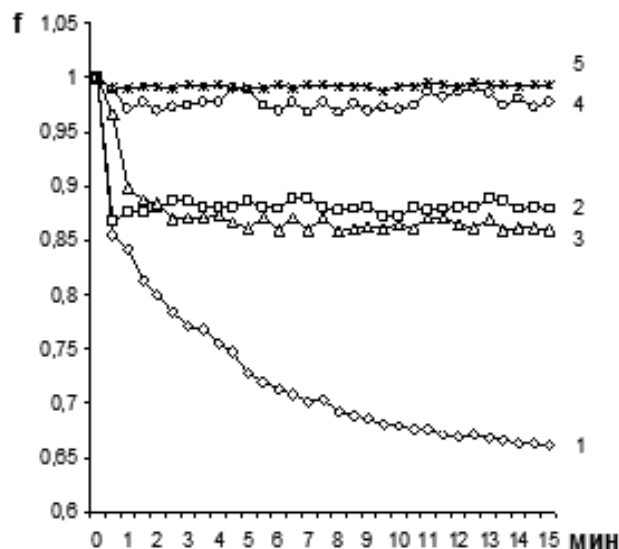


б)

Рис. 6.6. Кинетика изменения f для гранул ВП 1 Ап, выдержанных а) в воде или б) в ректификованном спирте, в водно-спиртовых растворах различной концентрации а) 1 – 30; 2 – 60; 3 – 80; 4 – 95; 5 – 100 % об. воды, б) 1 – 4%; 2 – 30%; 3 – 60%; 4 – 80%; 5 – 95% об. воды

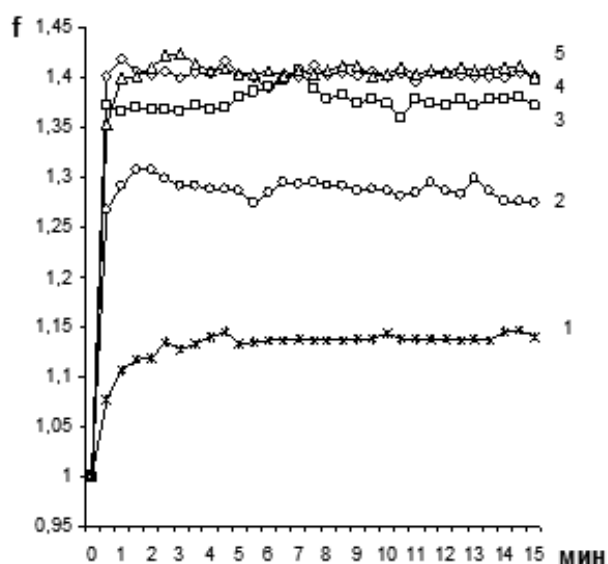


а)

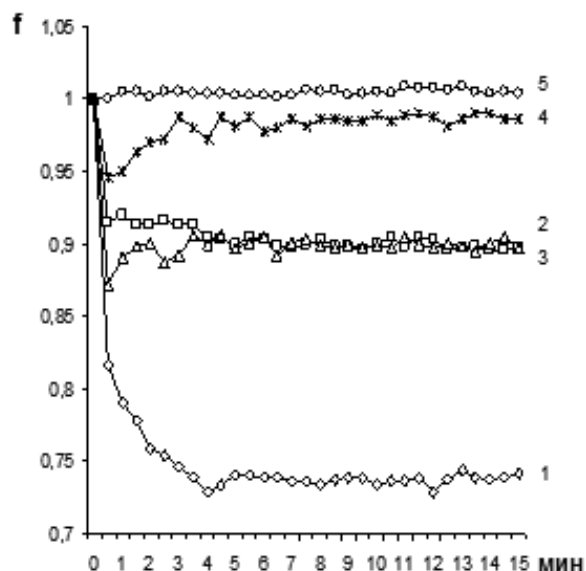


б)

Рис. 6.7. Кинетика изменения f для гранул ВП 14 К, выдержанных а) в воде или б) в ректификованном спирте, в водно-спиртовых растворах различной концентрации а) 1 – 30; 2 – 60; 3 – 80; 4 – 95; 5 – 100 % об. воды, б) 1 – 4%; 2 – 30%; 3 – 60%; 4 – 80%; 5 – 95% об. воды.

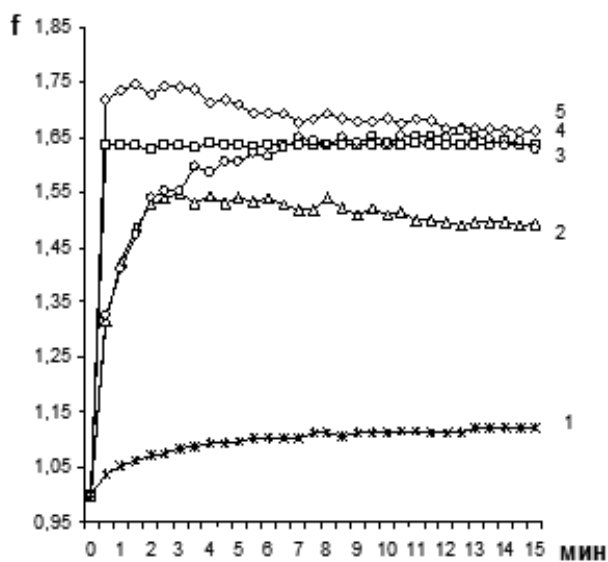


а)

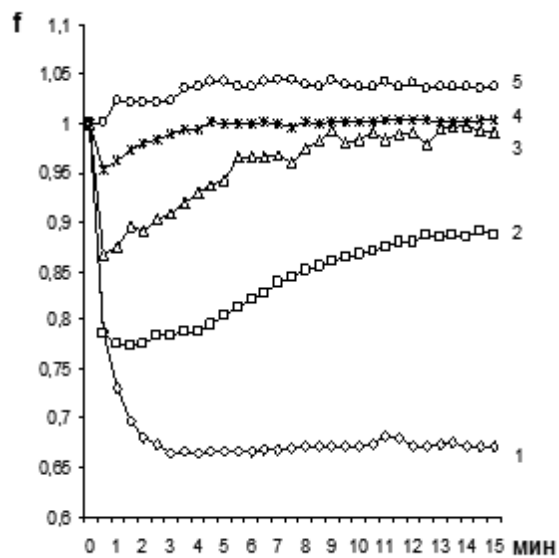


б)

Рис. 6.8. Кинетика изменения f для гранул WOFATIT EA 60, выдержанных а) в воде или б) в ректификованном спирте, в водно-спиртовых растворах различной концентрации а) 1 – 30; 2 – 60; 3 – 80; 4 – 95; 5 – 100 % об. воды, б) 1 – 4%; 2 – 30%; 3 – 60%; 4 – 80%; 5 – 95% об. воды.

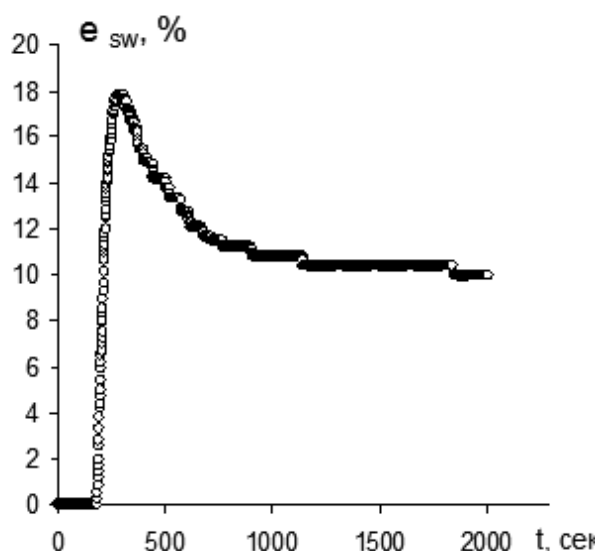


а)

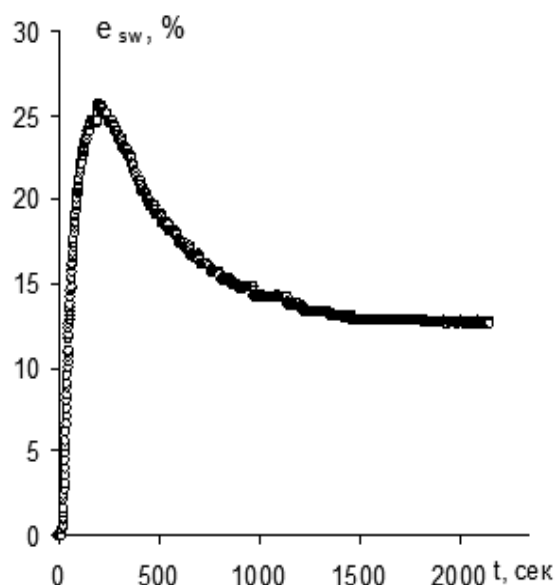


б)

Рис. 6.9. Кинетика изменения f для гранул WOFATIT ES tech., выдержанных а) в воде или б) в ректификованном спирте, в водно-спиртовых растворах различной концентрации а) 1 – 30; 2 – 60; 3 – 80; 4 – 95; 5 – 100 % об. воды, б) 1 – 4%; 2 – 30%; 3 – 60%; 4 – 80%; 5 – 95% об. воды.

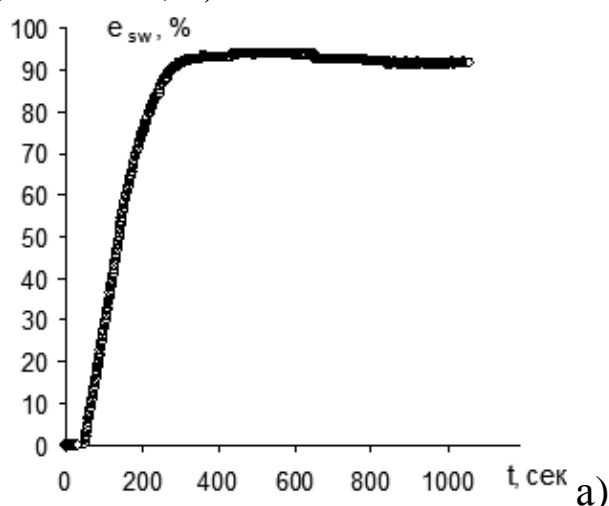


а)

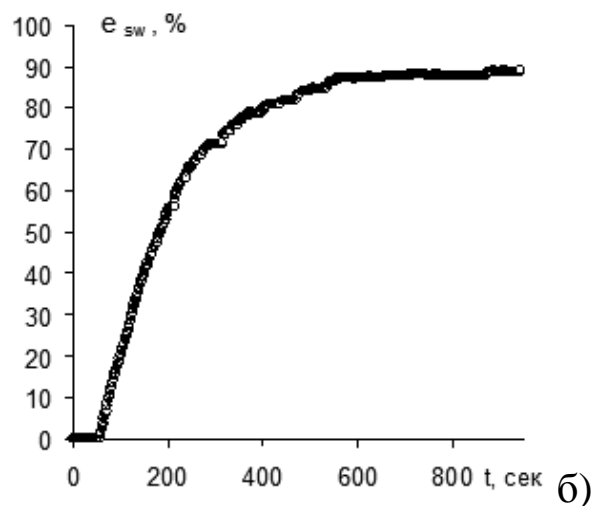


б)

Рис. 6.10. Кинетические кривые набухания полимерных гранул:
а) С 120 Е, б) АВ 17



а)



б)

Рис. 6.11. Кинетические кривые набухания полимерных гранул:
а) WOFATIT ES tech, б) ВП 14 К

Микрофотографии гранул показывают, что они могут иметь дефекты поверхности в виде углублений, вмятин, кратерообразных структур, выпуклостей, трещин, иметь эллипсоидное строение и т.п. Такие гранулы могут давать нестабильные результаты измерений объемных эффектов.

Вместе с тем, как показала выполненная нами микровидеосъемка процесса набухания, гранулы в условиях эксперимента, как правило, не испытывают интенсивных вращательных и других перемещений, но процесс набухания иногда происходит не монотонно, ступен-

чато, при этом гранулы, прозрачные в воде, мутнеют при помещении в спиртовые смеси, а мутные гранулы, выдержанные в спирте, напротив, приобретают в воде прозрачность, с градиентом от поверхности внутрь зерна.

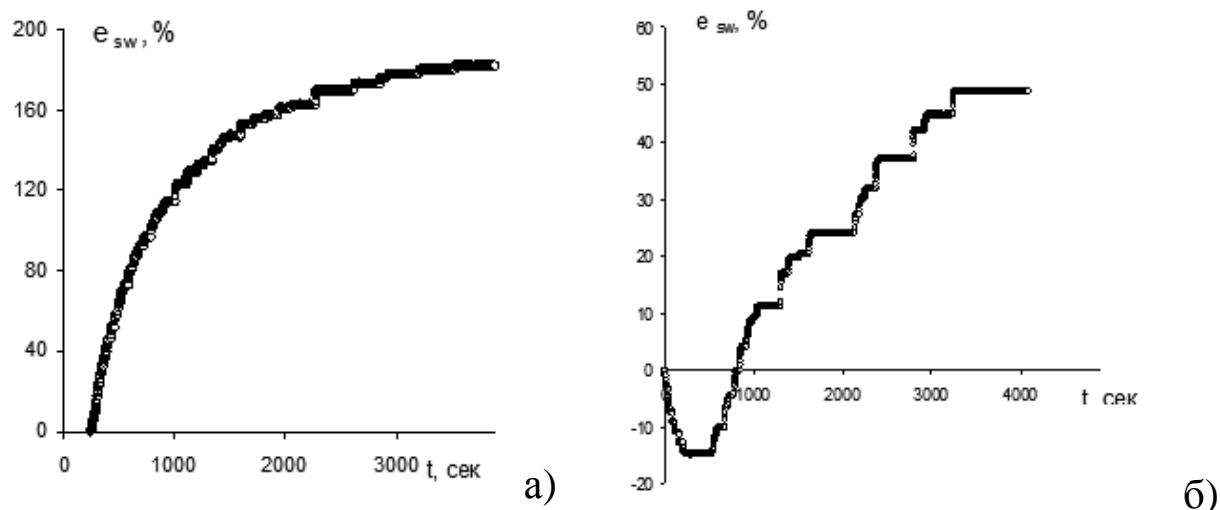


Рис. 6.12. Кинетические кривые набухания гранул: а) ПАА, б) ПВС

На рис. 6.13 и 6.14 приведены примеры микрофотографий гранул.

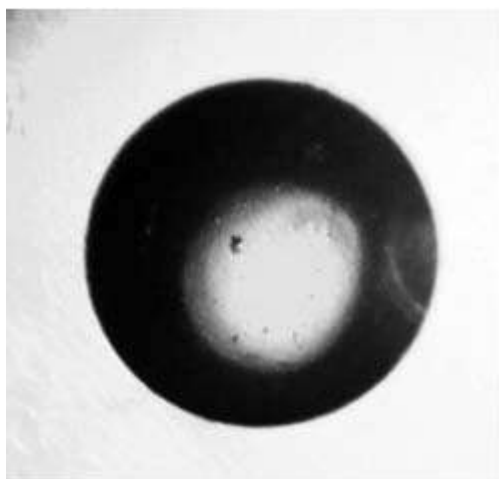


Рис. 6.13. Микрофотография набухшей в воде гранулы WOFATIT ES tech

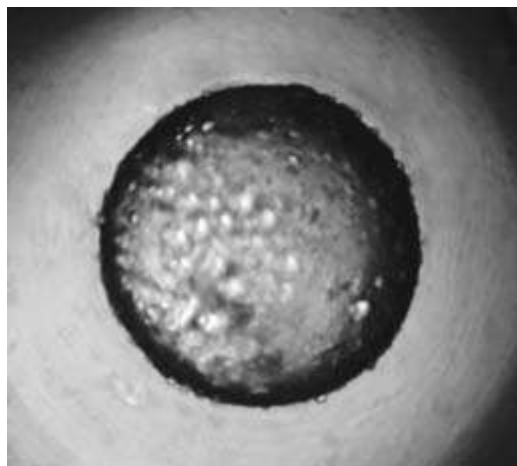


Рис. 6.14. Микрофотография набухшей в воде гранулы ПАА

Выявленным недостатком микрофотографического метода в кинетических исследованиях является наличие «слепой зоны», т.е. участок кривой набухания в 1-ю минуту при внесении гранулы из исходного в анализируемый раствор по технике эксперимента не фиксируется. Этого недостатка лишен дилатометрический метод. В целом, дилатометрическое наблюдение за изменением размеров гранул дает

аналогичные кинетические зависимости, что и микрофотографические измерения. Однако в них отсутствует «колебательный» характер кривых на участке, близком к равновесному. Вместе с тем, немонотонность, ступенчатость процесса набухания, которую нельзя объяснить случайными погрешностями измерений размеров гранул, мы четко наблюдали при дилатометрических измерениях (рис. 6.12), особенно ступенчатость набухания проявляется для ПВС. Это явление, по всей видимости, связано с особенностями процессов образования и разрыва водородных связей между слоями полимера и жидкой фазой, с качеством получения полимерных гранул.

Преимуществом микрофотографического метода является техническая возможность одновременно фиксировать равновесные эффекты набухания в испытуемых растворах для гранул нескольких разных полимеров, что позволяет получать мультисенсорный сигнал, обладающий селективностью к составу раствора, в котором происходит набухание.

С точки зрения прикладных задач использования эффекта набухания гранул в качестве аналитического сигнала с целью уменьшения случайных погрешностей целесообразно иметь возможность фиксации гранул. Важными факторами, которые необходимо учитывать при выборе гранул для количественных измерений объемных эффектов, являются факторы, влияющие на качество гранул в процессе их изготовления и эксплуатации, а именно, максимально близкая к сфере форма гранул, минимальное количество дефектов на поверхности и в структуре полимера, равномерность сшивки и размеров пор, степень полимеризации.

6.5. Влияние температуры на характер набухания полимерных гранул в воде и этаноле

Влияние температуры на набухание гранул сорбционно-активных неионогенных и ионогенных полимеров в воде и этаноле, безусловно, представляет интерес в связи с изучением возможности применения эффекта набухания гранул в качестве аналитического сигнала. Актуальными являются вопросы, насколько сильно изменяется степень набухания в диапазоне температур, близких к комнатной (20-30 °C), имеется ли необходимость термостатирования анализируемых микрофотографическим методом растворов, в которых в качестве чувствительного элемента применяют набухающую гранулу.

Известно, что в ряде случаев гранулы в этом диапазоне температур практически не чувствительны к ее повышению, в других случаях, наоборот наблюдают высокую термочувствительность [350-357]. Например, при изучении набухания катионитов в воде в интервале 20-100 °С найдено, что степень набухания смолы КУ-1 практически не зависит от температуры, а КБ-4П-2 (H⁺-форма) в интервале температуры 20-100 °С имеет небольшую тенденцию к уменьшению, но это уменьшение незначительно. Степень набухания смолы КУ-2 во всех формах при нагревании от 20 до 35 °С увеличивается, а при более высоких температурах немного снижается. Для некоторых слабосшитых гидрогелей регистрируется очень высокая термочувствительность [357].

Микрофотографический метод в настоящее время широко применяют для изучения эффектов набухания ионогенных и неионогенных полимерных материалов. Для этих целей наиболее эффективным инструментарием являются микроскопы Diaphot 200/300 (Nikon) или аналогичные им приборы [357], однако, нам хотелось показать, что возможно успешное применение и более простых конструкций, смонтированных на базе отечественных оптических микроскопов, совмещенных с ЦФК и персональным компьютером [348].

На рис. 6.15-6.18 представлены результаты экспериментальных измерений относительного объема f_t для 8 полимерных гранулированных материалов разного типа предварительно выдержанных в воде и ректификованном этаноле. Как видно из графиков, в диапазоне температур, близких к комнатной (25±5 °С), изменение температуры не оказывает заметного влияния на объемные эффекты ионообменных сорбентов. Для большинства ионообменных сорбентов изменение величины относительного объема в этом интервале температур не превышает 1-5 % и составляет 5-10% при повышении температуры до 70 °С. Для полимеров неионогенного типа (ПАА и ПВС) характерно увеличение относительного объема до 25 % в воде и до 70 % в ректификованном этаноле в интервале температур 20-70 °С. В области температур 25±5 °С Δf может достигать до 10%.

Следует отметить нелинейное изменение относительных объемов при набухании гранул в зависимости от температуры, при этом наблюдаются как положительные, так и отрицательные экстремумы, а также ступенчатый характер температурных кривых. Бросается в глаза и различное проявление эффектов набухания гранул в воде и этаноле.

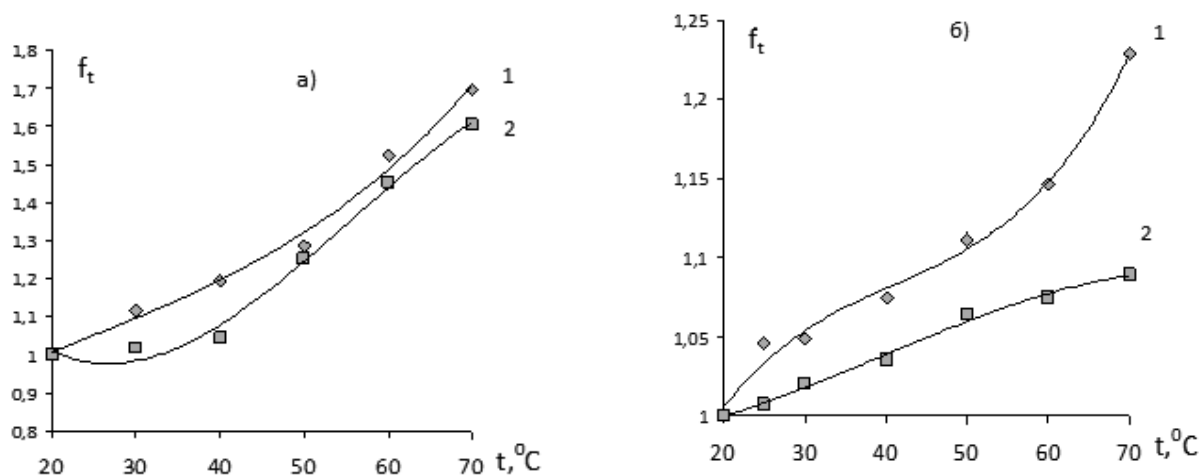
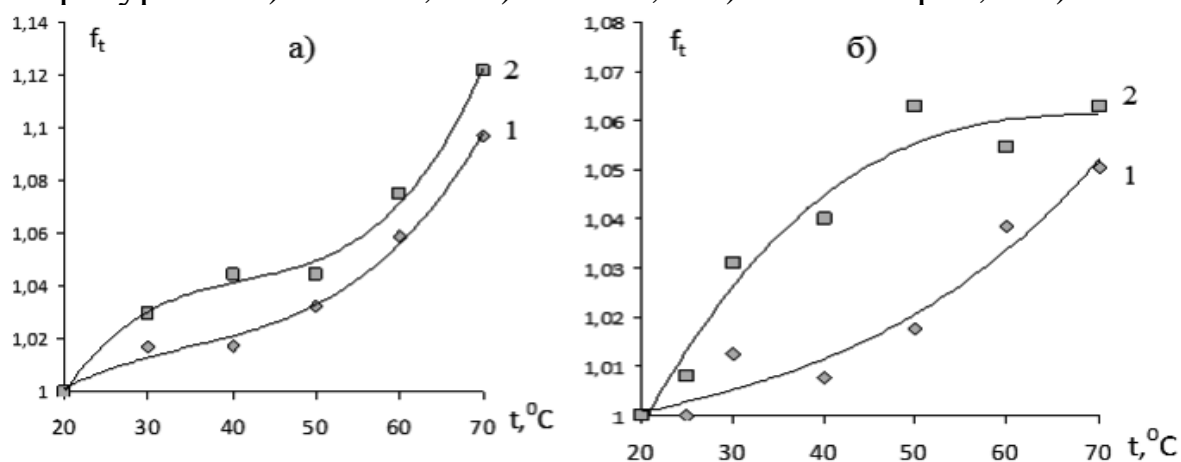


Рис. 6.15. Зависимость объема гранул неионогенных сорбентов от температуры: 1) ПАА; 2) ПВС; а) в спирте; б) в во-



де.

Рис. 6.16. Зависимость объема гранул ионогенных сорбентов от температуры: 1) ВП 1Ан; 2) ВП 14К; а) в ректификованном спирте; б) в воде

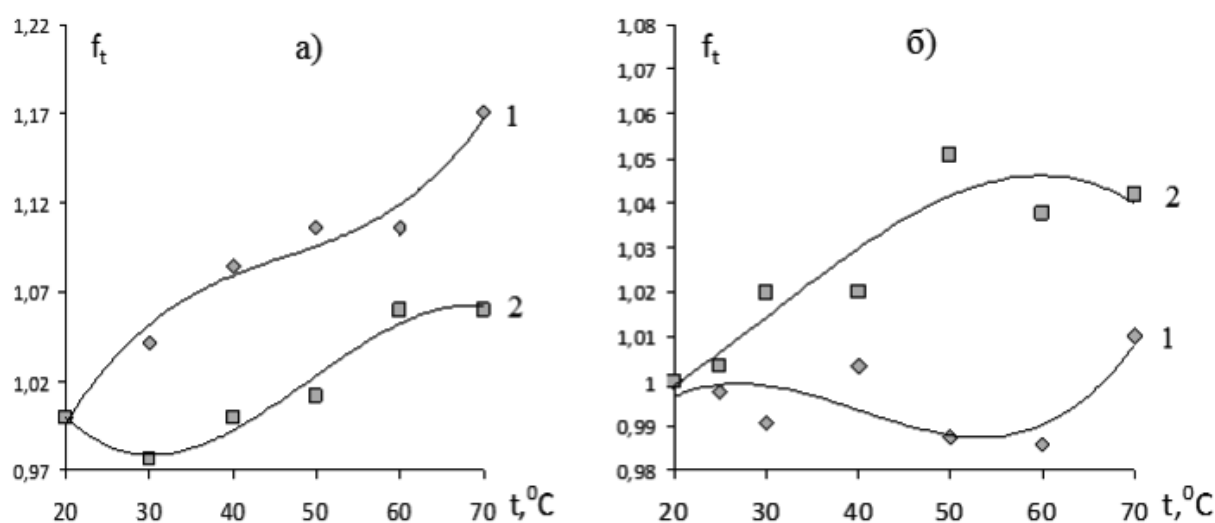


Рис. 6.17. Зависимость объема гранул ионогенных сорбентов от температуры: 1) WOFATIT ES tech; 2) WOFATIT EA 60; а) в ректификованном спирте; б) в воде

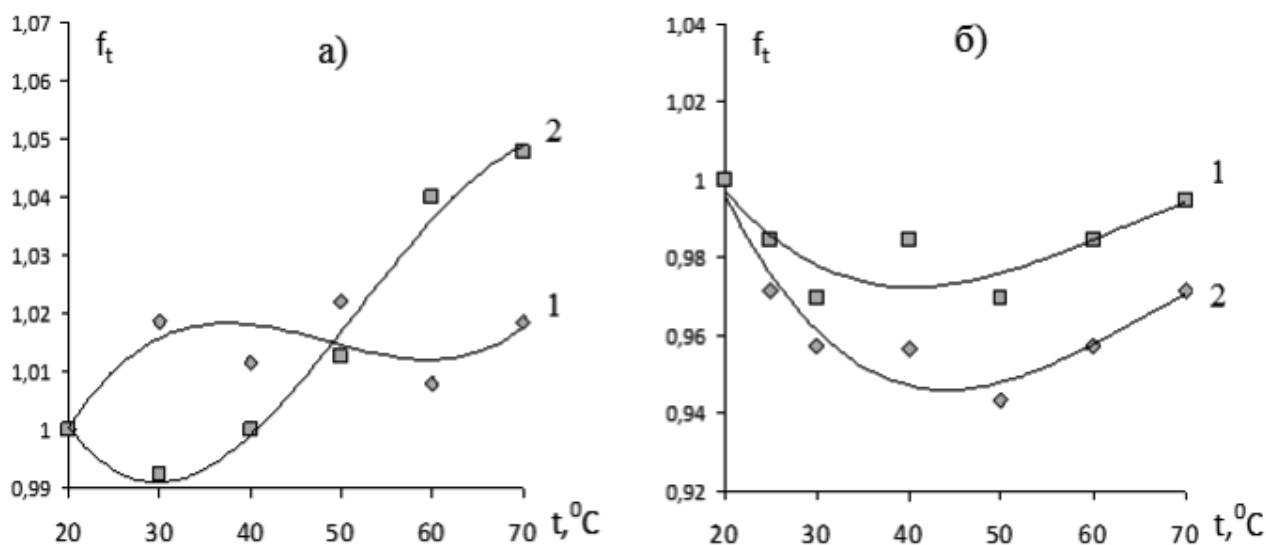


Рис.6.18. Зависимость объема гранул ионогенных сорбентов от температуры: 1) С 120 Е H^+ ; 2) АВ 17 Cl^- ; а) в ректификованном спирте; б) в воде

Рассмотрим причины, вызывающие такое сложное поведение полимерных гранул в растворах. Характер набухания гранул отражает природу, в том числе химическую и физическую, поперечного связывания в гелях (наличие меж- и/или внутримолекулярных водородных связей, π - π -взаимодействий, гидрофобных, Ван-дер-Ваальсовых, электростатических взаимодействий)[350-357]. Набухание – не просто процесс проникновения малых молекул растворителя в фазу полимера и заполнение пустот в нем; оно обязательно связано с изменением структуры полимера, приводящем к заметному изменению объема образца. Так, набухание в растворах гидрогелей приписывают разрыву водородных связей между карбоксильными или гидроксильными группами полимерных цепей. Нечувствительность к изменению температуры наводит на мысль, что существующие водородные связи слишком сильны, чтобы вызвать изменение объема гранул. Нагревание может приводить к дополнительному структурированию, конформационным переходам. Эти явления сопровождаются либо сжатием, либо ступенчатым характером изменения размера гранул. Небольшое снижение объемного эффекта набухания ионитов при повышении температуры можно объяснить дегидратацией противоионов, которая вызывает уменьшение разности осмотических давлений между ионитом и раствором.

Для поведения набухших ионитов при нагревании не последнюю роль играют электростатические взаимодействия. В случае слабосшитых полимерных гелей, сжатие, как правило, вызвано усилением роли притяжения между звеньями полимерной сетки за счет гидрофобных взаимодействий или водородных связей, что приводит к вытеснению растворителя из геля в наружный раствор. Об этом процессе говорят как о фазовом переходе между фазами с различной конформацией субцепей геля и концентрацией сетчатого полимера, одна из которых соответствует набухшему гелю, а другая – сколлапсированному гелю.

Таким образом, ответ полимеров на изменение температуры среды, в конечном итоге обусловлен изменением баланса тех или иных гидрофобных и гидрофильных взаимодействий. С точки зрения применимости эффекта набухания гранул в качестве аналитического сигнала необходимо заключить, что оптические ячейки, в которых размещены набухающие гранулы, рекомендуется термостатировать с точностью $\pm 1^\circ\text{C}$.

6.6. Применение эффекта набухания ионогенных полимерных гранул в количественном определении аминокислот и лизоцима в водных и водно-солевых (изотонических) растворах

Известно, что слабокислотные карбоксильные катиониты могут поглощать основные АК (нейтральные и дикарбоновые при этом не поглощаются) [358]. Кроме того, такие катиониты обладают значительной буферной способностью в пределах рН, подходящих для разделения, селективно поглощают некоторые АК [359,360]. Сульфокатиониты в Н-форме поглощают все АК. АК кислого характера поглощаются на сильноосновных ОН-анионитах типа АВ-17, АВ-16 и слабоосновных АН-2Ф и ЭДЭ-10. Моноаминомонокарбоновые кислоты и пептиды сорбируются со значительной емкостью на катионитах в Н-форме и плохо на катионитах в солевой форме [359,360]. При этом сорбированные АК находятся в форме катионов на ионите. АК, пептиды и белки способны сорбироваться катионитами из растворов повышенной кислотности, где они находятся в форме катионов.

Формальная кинетика объемных эффектов в растворах аминокислот. Был изучен характер изменения относительного объема гранул f от времени различных ионогенных и неионогенных полимеров в

водных растворах глицина ($C=5$ г/л) при разных рН (рис. 6.19-6.22). Для рассмотренных гранул степень изменения относительного объема наименьшая в растворах Gly^{\pm} , кроме MN Purolite (табл. 6.3).

Таблица 6.3.

Величина f в растворах глицина (Gly), $C=5$ г/л

Ионная форма АК	Полимеры			
	СГ-1м H^+ -форма	ПАА	ПВС	MN Purolite
Gly^+	0.55	0.68	1.03	0.98
Gly^{\pm}	0.99	0.77	1.01	1.04
Gly^-	1.24	0.82	1.02	1.02

Состояние гранул близкое к равновесному достигается за 10-25 мин в большинстве случаев, при этом степень набухания неионогенных полимеров, как и ожидалось, зависит от концентрации раствора (рис. 6.21).

Для гранул ПАА в растворах Gly^- время, необходимое для достижения квазиравновесного состояния, составляет около 5-10 мин.

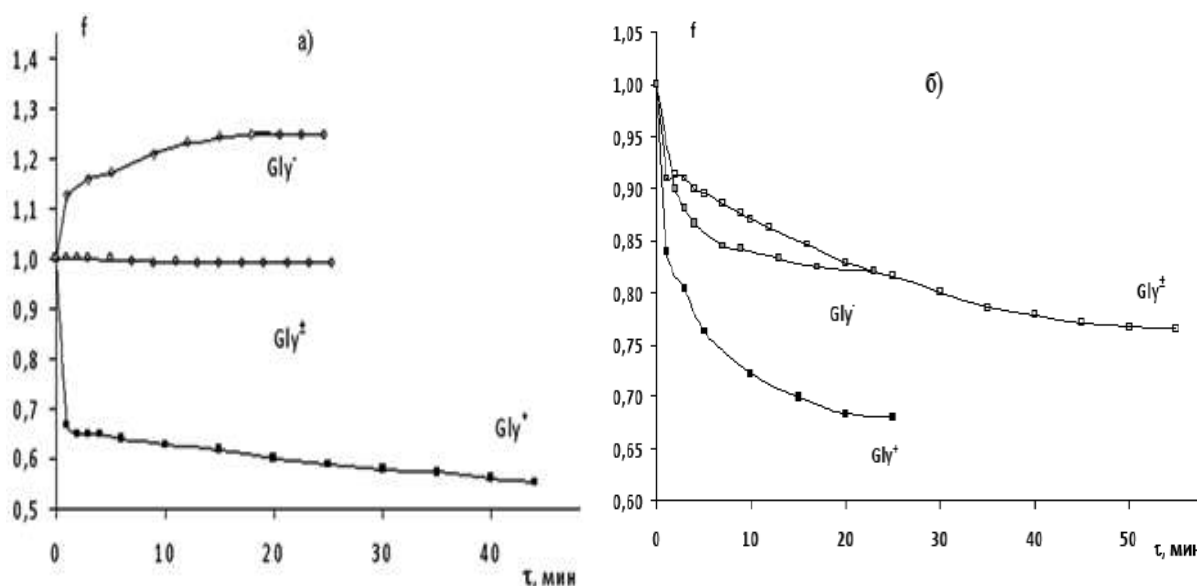


Рис. 6.19. Зависимость f гранул от времени для водных растворов глицина: а) СГ-1м H^+ -форма, б) ПАА

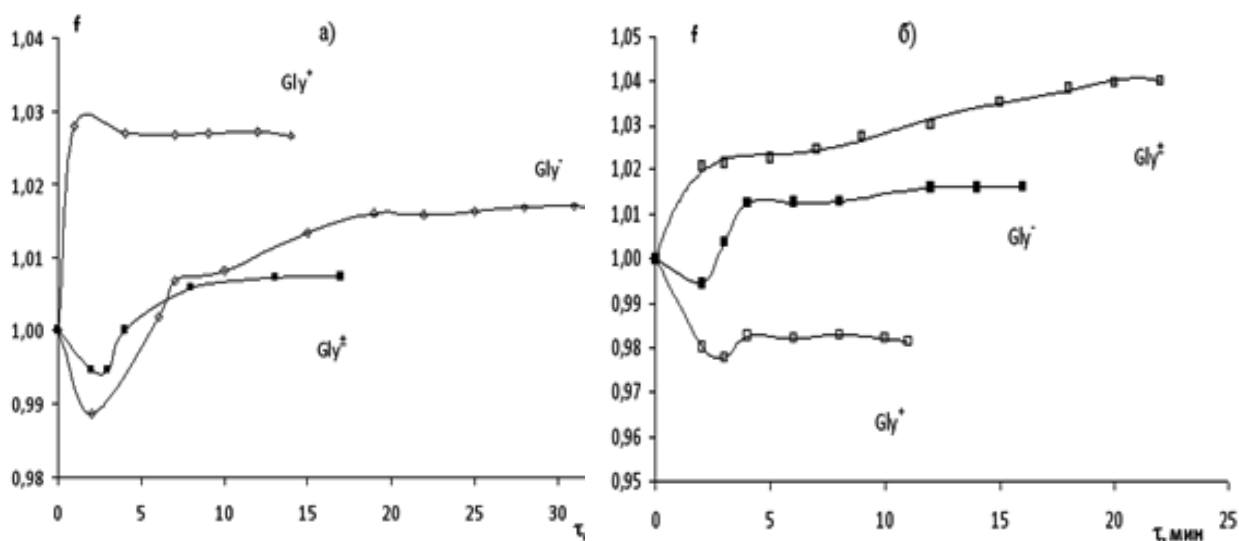


Рис. 6.20. Зависимость f гранул неионогенных полимеров от времени для водных растворов глицина: а) ПВС, б) MN Purolite

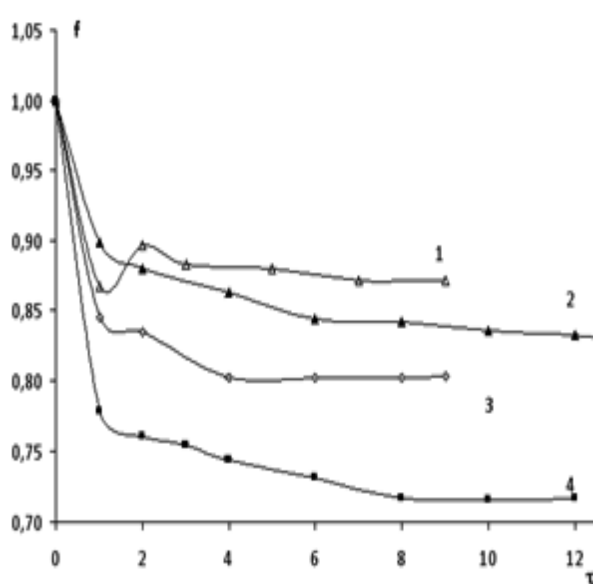


Рис. 6.21. Зависимость f гранул ПАА от времени для водных растворов Gly^- с разными концентрациями, г/л: 1 – 2, 2 – 5, 3 – 10, 4 – 20

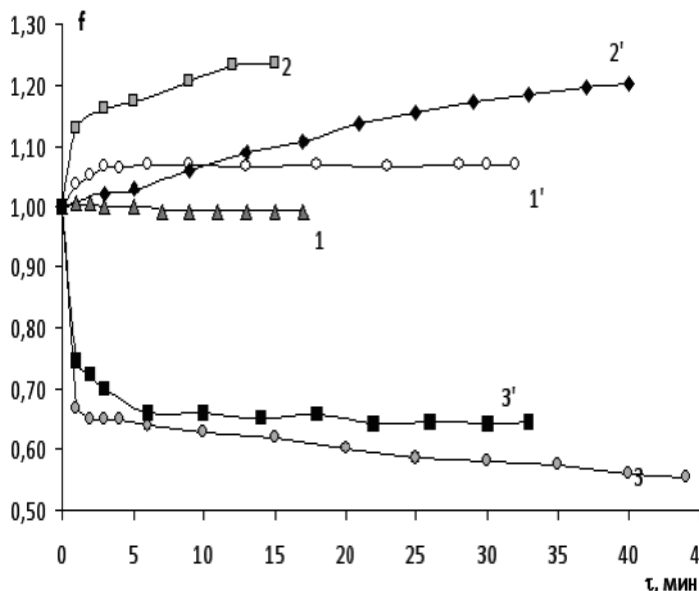


Рис. 6.22. Зависимость f гранул СГ-1м в H^+ -форме от времени для растворов АК: 1, 1' – Gly^+ и Phe^+ , 2, 2' – Gly^- и Phe^- , 3, 3' – Gly^+ и Phe^+

Таким образом, для рассмотренных полимеров максимальная величина f гранул наблюдается для карбоксильных катионитов в растворах АК в форме катионов, при этом время достижения состояния, близкого к равновесному, составляет 30-40 мин. Для гранул ПАА и С 120 Е в H^+ -форме время, необходимое для достижения квазиравно-

весного состояния меньше в растворах Gly (около 15-20 мин) и несколько больше в растворах Phe (20-35 мин).

Зависимость объемных эффектов от концентрации и природы растворенной аминокислоты. Рассмотрим набухание одного ионогенного полимера в растворах разных АК разных концентраций.

Найдено [275,276], что с увеличением концентраций равновесных растворов АК коэффициент f для сульфокатионита С 120 Е в H^+ -форме уменьшается на 5-10 % (рис. 6.24), т.е. происходит отрицательное набухание (контракция) смолы ионообменника вследствие разности осмотического давления внутри фазы ионита и во внешнем растворе. Влияние концентрации растворов на контракцию катионита в данном случае адекватно описывается линейной функцией $f=a+bC$ (табл. 6.4).

Значения f для разных полимеров в растворе одной и той же АК различны и по-разному зависят от концентрации. Следовательно, гранулы каждого из сорбентов можно рассматривать как частично селективные чувствительные элементы сенсоров в оптической системе.

Были исследованы изменения объемных свойств различных ионогенных и неионогенных полимеров в водных растворах Gly^- (рис. 6.25). Получены градуировочные зависимости значений f от концентрации аналита для каждого полимера (табл. 6.5).

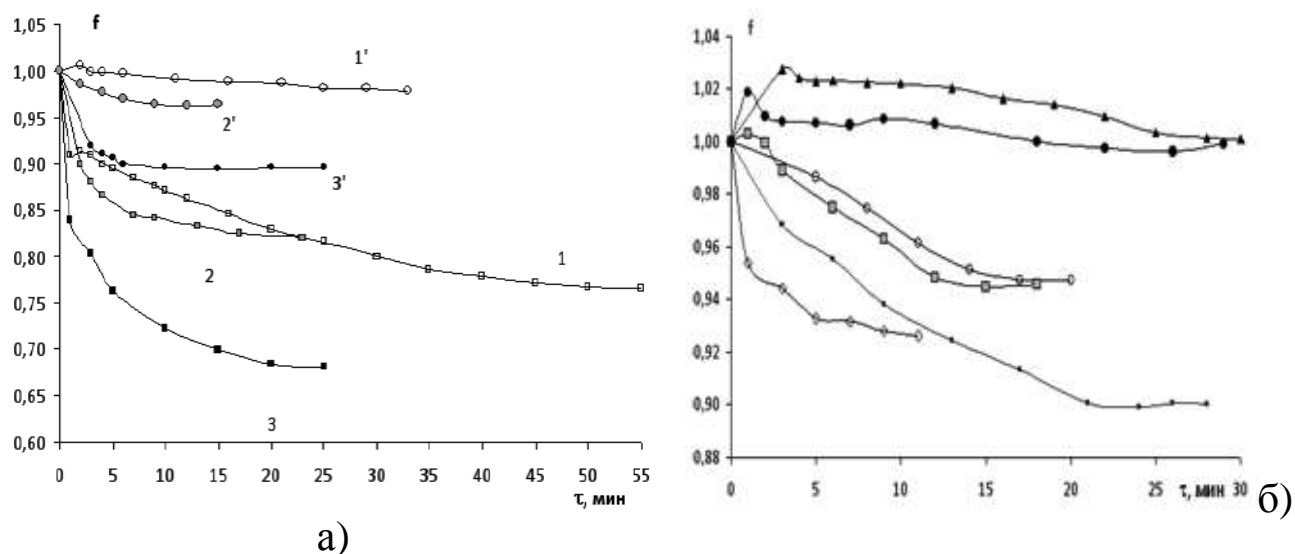


Рис. 6.23. Зависимость f от времени различных сорбентов для водных растворов АК: а) ПАА, б) С 120 Е в H^+ -форме, где 1, 1' – Gly^+ и Phe^+ , 2, 2' – Gly^- и Phe^- , 3, 3' – Gly^+ и Phe^+

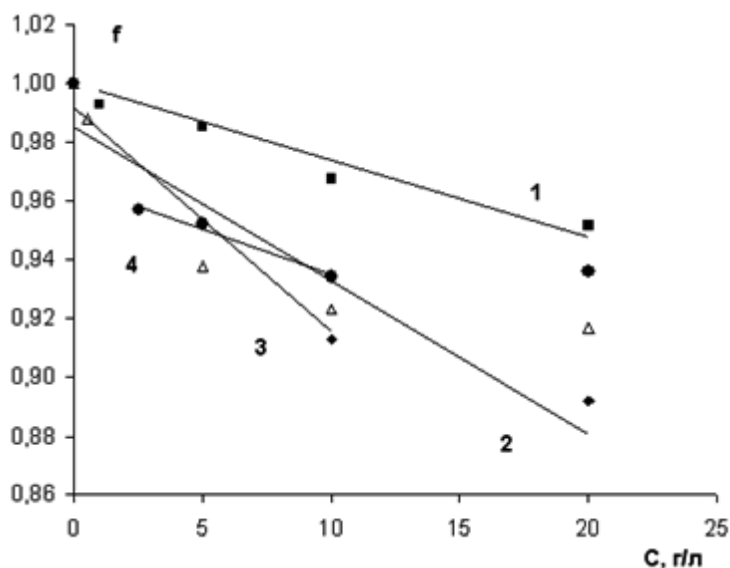


Рис. 6.24. Зависимость относительного объема f гранулы катионита С 120 Е в H^+ -форме от концентрации равновесных водных растворов: 1 – Phe^{\pm} , 2 – $\alpha-Ala^{\pm}$, 3 – Gly^{\pm} , 4 – $\beta-Ala^{\pm}$

Таблица 6.4

Зависимость относительного объема f гранулы катионита С 120 Е в H^+ -форме от концентрации АК

Аминокислота	Линейный диапазон, г/л	Уравнение	R^2
Gly^{\pm}	0-10	$f=(0.99\pm0.01)-(0.008\pm0.002)C$	0.909
$\alpha-Ala^{\pm}$	0-20	$f=(0.98\pm0.02)-(0.005\pm0.001)C$	0.885
$\beta-Ala^{\pm}$	2.5-10	$f=(0.97\pm0.01)-(0.0030\pm0.0004)C$	0.981
Phe^{\pm}	0-20	$f=(1.00\pm0.01)-(0.0030\pm0.0003)C$	0.969

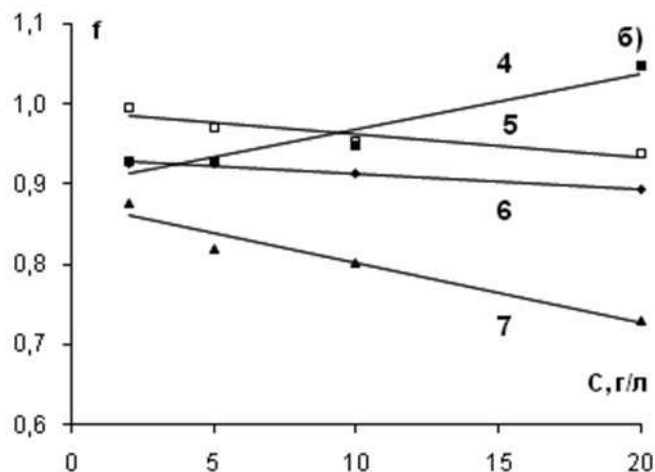
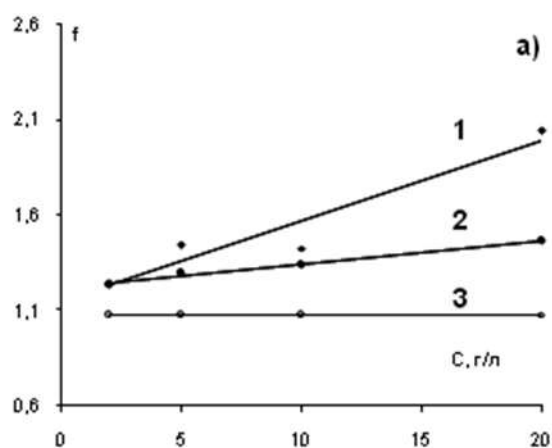


Рис. 6.25. Зависимость относительного объема f гранул различных сорбентов от концентрации C водных растворов глицина: а) 1 – КБ 2-4 H^+ , 2 – СГ-1м H^+ , 3 – АВ-17 Cl; б) 4 – MN Purolite, 5 – ПВС, 6 – С 120 Е H^+ , 7 – ПАА

Таблица 6.5

Функции, описывающие влияние концентрации C растворов глицина на относительный объем f ионогенных и неионогенных сорбентов

Полимер	Линейный диапазон C , г/л	Градуировочное уравнение	R^2
СГ-1м H^+	2–20	$f=(1.21\pm0.01)+(0.013\pm0.001)C$	0.989
КБ-2-4 H^+	2–20	$f=(1.15\pm0.10)+(0.042\pm0.009)C$	0.918
С 120 Е H^+	2–20	$f=(0.93\pm0.01)-(0.0019\pm0.0002)C$	0.989
АВ-17 Cl	2–20	$f=(1.07\pm0.01)+(0.0004\pm0.0001)C$	0.899
ПАА	2–20	$f=(0.87\pm0.02)-(0.008\pm0.001)C$	0.942
ПВС	5–20	$f=(0.98\pm0.01)-(0.0021\pm0.0004)C$	0.966
MN Puro-lite	2–20	$f=(0.90\pm0.02)+(0.007\pm0.001)C$	0.928

В табл. 6.6 приведены значения относительного объема гранул ионогенных и неионогенных полимеров в водных растворах Gly и Phe с одинаковой концентрацией, $C=5$ г/л.

Таким образом, выполненные исследования показали, что относительный объем гранул f в растворах АК зависит от ее природы, от ионной формы, в которой АК находятся в растворах, и от концентрации.

Таблица 6.6

Влияние АК на относительный объем гранул в водных растворах

АК	Полимеры				
	СГ-1м H^+ -форма	С 120 Е H^+ -форма	ПАА	ПВС	MN Puro-lite
Gly ⁺	0.552	0.946	0.681	1.027	0.982
Phe ⁺	0.644	1.000	0.964	1.025	1.027
Gly [±]	0.991	0.947	0.766	1.007	1.040
Phe [±]	1.068	1.000	0.979	1.017	1.012
Gly ⁻	1.236	0.926	0.820	1.016	1.016
Phe ⁻	1.201	0.900	0.896	1.069	1.040

Нами были изучены эффекты набухания 12 различных сорбентов в растворах 5 АК – глицина, α- и β-аланина, изолейцина, фенила-

ланина и глицилглицина, в диапазоне концентраций от 2 до 20 г/л и проведен кластерный анализ значений f в программе Unscrambler 9.8. Кластерный анализ относится к методам, позволяющим представить многомерные данные в 2 измерениях, что облегчает задачи исследователя при дальнейшем анализе данных. Точки группируются на основе их близости и подобия в кластеры.

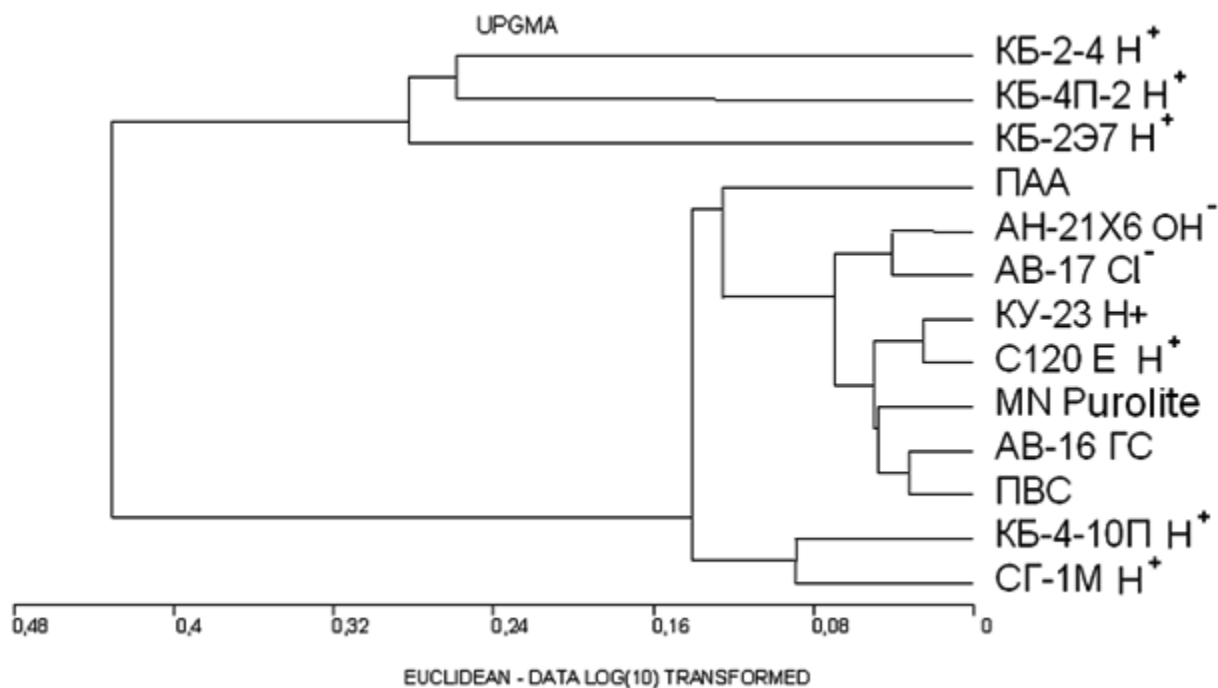


Рис. 6.26. Дендрограмма для выбора сорбентов при анализе АК

На рис. 6.26 приведена дендрограмма, демонстрирующая сходство и различия гранул соответствующих полимеров по эффектам набухания в растворах данной выборки АК. Данные, полученные для коэффициентов f в растворах веществ с концентрацией 5 г/л, были предварительно прологарифмированы. Расстояние между кластерами (группами данных) в многомерном пространстве оценивали, вычисляя евклидовы расстояния. В результате кластерного анализа для дальнейших исследований были отобраны гранулы 8 ионогенных и неионогенных полимеров – С 120 Е, АВ-17, СГ-1М, KB-2Э7, KB-2-4, MN Purolite, ПАА, ПВС, отличающиеся определенной селективностью к строению аналита. При близком поведении в процессах набухания предпочтение отдавали сорбенту, имеющему лучшее качество гранул (отсутствие дефектов, более узкий фракционный состав, лучшее приближение к сферичности частиц).

Применение эффекта набухания ионогенных полимерных гранул в количественном определении лизоцима в изотонических растворах.

Изучено набухание сульфокатионита в растворах лизоцима с концентрациями от 5 до 30 г/л, где растворителем служил 0.9 % раствор NaCl. Предварительно исследовали время установления равновесного объема f для гранул С 120 Е в модельных растворах. Установлено, что гранулы, перенесенные из одного раствора (или воды) в другой приходят в состояние, близкое к равновесию, через 10-12 мин (рис. 6.27).

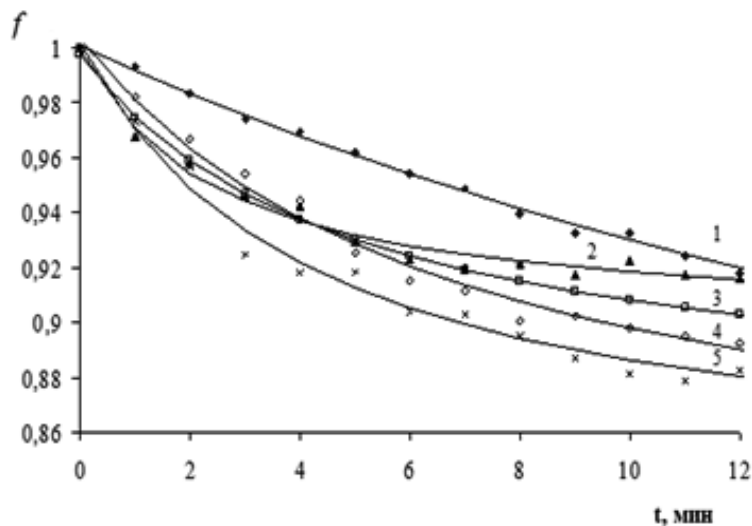


Рис. 6.27. Зависимость f гранул С 120 Е H^+ от времени в растворах лизоцима разной концентрации, г/л: 1 – 5, 2 – 10, 3 – 15, 4 – 20, 5 – 30

Статистическая обработка данных показала, что наибольший коэффициент корреляции при построении градуировочного графика получен для значений f гранул, находящихся в контакте с раствором в течение 11 мин. Зависимость f гранулы катионита С 120 Е (H^+ -форма) от концентрации раствора лизоцима можно представить в виде линейной функции $f = (0.93 \pm 0.01) - (0.0028 \pm 0.0002)C$, $R^2 = 0.977$ (рис. 6.28).

Контроль оценки правильности результатов измерений по градуировочной зависимости проводили по методике «введено-найденно». Был приготовлен раствор лизоцима с точно известной концентрацией, равной 7.0 г/л. Полученная концентрация по градуировочному уравнению составила 10.9 г/л [275, 276].

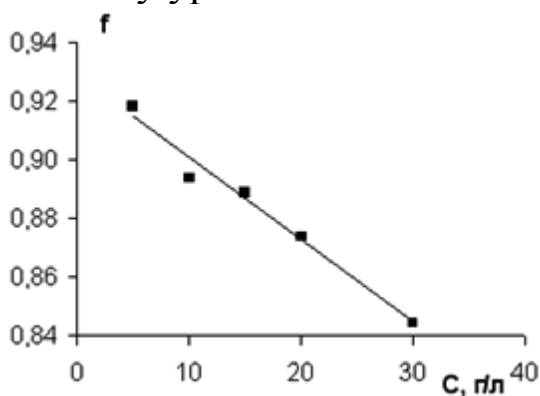


Рис. 6.28. Зависимость f гранулы катионита С 120 Е (H^+ -форма) от концентрации равновесных модельных растворов

Таким образом, даже по регистрации эффекта набухания единичной гранулы можно с минимальным расходом реактивов контролировать содержание АК и пептидов в растворах с точностью сопоставимой, например, с точностью ТСХ. Была выдвинута рабочая гипотеза, что если регистрировать набухание не одной, а нескольких гранул, отличающихся селективностью друг от друга по отношению к аналиту, можно получить мультисенсорную систему, которая может давать более точный и надежный результат выполнения измерений.

6.7. Микрофотографическая мультисенсорная система, основанная на эффектах набухания нескольких сорбционно-активных полимерных гранул в анализируемых растворах

Идея использовать для анализа несколько разнородных полимерных гранул обусловлена тем, что теоретически возможны случаи «вырожденного состояния», когда реакция одного сорбента на разные объекты или разные концентрации может оказаться одинаковой; то есть значения аналитического сигнала для разных систем могут совпасть. Это «вырождение» может быть снято, если брать в рассмотрение реакцию не одного сорбента, а набора гранул полимерных материалов с разной селективной чувствительностью. Суммарный аналитический сигнал в этом случае дает индивидуально неповторимый «образ» анализируемого объекта.

Для визуализации суммарного сигнала могут быть использованы хеометрические приемы – применение МГК, кластерный анализ и др. Наиболее простой вариант – использовать для этой цели уже апробированные в составлении КК и в цветометрическом способе анализа растворов БАВ лепестковые диаграммы.

Как показано Золотовым [361], новой парадигмой аналитического контроля является переход от дорогостоящего покомпонентного анализа к оценке интегральных показателей в рутинном химическом анализе, в диагностике материалов, в проверке аутентичности, обнаружении фальсификатов. Для мультисенсорных систем применению интегральных показателей вообще нет альтернативы.

При наличии селективности набухания гранул полимеров в растворах различных аналитов, их можно рассматривать как твердотельные химические сенсоры, пригодные для создания мультисенсорного устройства. Представлялось интересным изучить возможности мультисенсорного микрофотографического способа контроля в водных и

водно-органических растворах БАВ и лекарственных веществ с использованием в качестве аналитического сигнала объемов нескольких набухающих гранул полимеров.

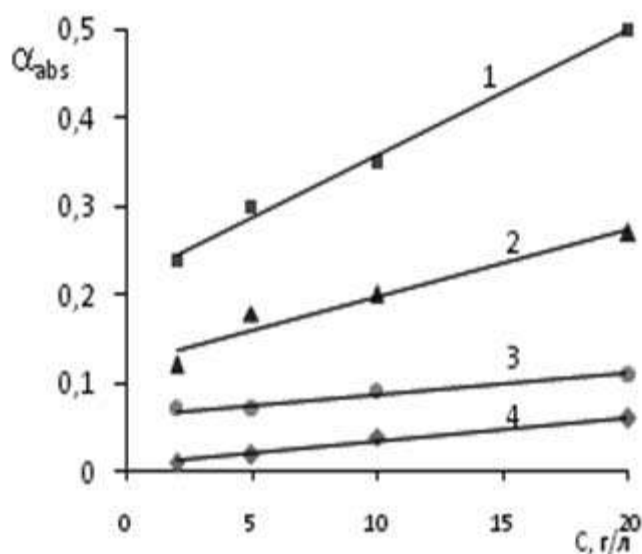


Рис. 6.29. Зависимость α_{abs} от концентрации глицина для гранул: 1 – СГ-1м Н⁺; 2 – ПАА 3; 3 – С 120 Е Н⁺; 4 – ПВС 20

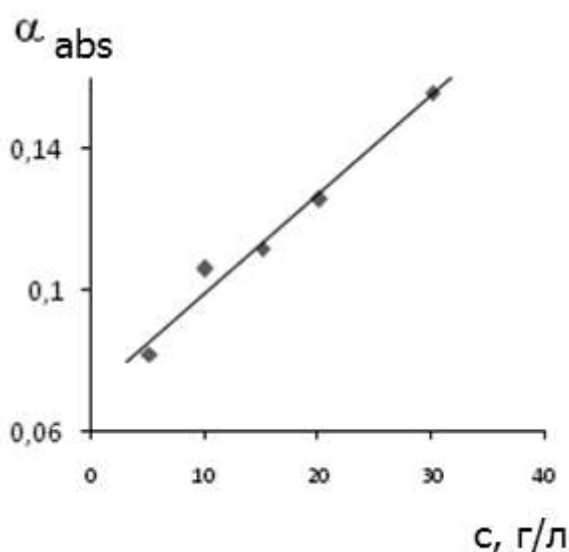


Рис. 6.30. Зависимость α_{abs} от концентрации лизоцима для гранул С 120 Е (Н⁺-форма)

В качестве интегрального показателя для интерпретации набора аналитических сигналов от нескольких гранул использовали геометрические параметры ЛД (площадь или периметр), построенных в полярных координатах в оболочках ПО MS Excel или Mathcad, в которых количество осей соответствует числу сенсоров, использованных в анализе.

Как показано в предыдущей главе, способ визуализации мультисенсорной информации с помощью ЛД уже нашел применение в аналитической практике, в частности, в химической сенсорике. Для та-

кого обобщенного показателя применяют термин «визуальный отпечаток», «профилеграмма», «образ» и т.п.

Идентификация образцов по визуальным отпечаткам выполняется чаще всего экспертным путем на качественном уровне. Вместе с тем расчет геометрических размеров ЛД легко автоматизируется, а значит, параметры ЛД можно сравнивать количественно, как показано в ИК-спектроскопических и цветометрических исследованиях.

Буквально с первых опытов возникла проблема – одни гранулы могут иметь положительный эффект набухания, другие – отрицательный. В результате разнонаправленного влияния концентрации аналита на разные гранулы периметр или площадь ЛД может изменяться неаддитивно.

В связи с этим предложено вместо f , рассчитанных по уравнению (6.1), использовать абсолютные значения изменения относительного объема гранул α_{abs} , рассчитанные по уравнению (6.2). На осях ЛД_n отражали α_{abs} чувствительных элементов (индекс n – число сенсоров). ЛД_n являются по своей сути вторичным электронным изображением обобщенного аналитического сигнала. С увеличением концентрации аналита значения α_{abs} закономерно возрастают (рис. 6.29 и 6.30). Площади и периметры рассчитывали по уравнениям (6.4) и (6.5):

$$S_j = \sum_{n=1}^c \left(\frac{1}{2} \alpha_{j,n} \cdot \alpha_{j,n+1} \cdot \sin \Delta\phi \right), \quad (6.4)$$

$$P_j = \sum_{n=1}^c \sqrt{(\alpha_{j,n})^2 (\alpha_{j,n+1})^2 - 2 \cdot \alpha_{j,n} \cdot \alpha_{j,n+1} \cdot \cos \Delta\phi}, \quad (6.5)$$

где j – индекс сорбента, n – индекс концентрации, а $\Delta\phi$ – углы между соседними радиусами на лепестковой диаграмме.

Установлено, что между значением α_{abs} и концентрацией в модельных растворах индивидуального аналита существуют количественные зависимости $\alpha_{abs}=f(C_x)$ или $\ln(\alpha_{abs})=f[\ln(C_x)]$. Уже это факт позволяет в отдельных случаях успешно использовать моносенсорную систему (гранулу одного типа) в химическом анализе.

В качестве обобщенного показателя предложены ЛД, построенные по многомерным данным, содержащим значения α_{abs} для гранул 8-12 полимеров. ЛД, по осям которых отложены значения α_{abs} для

8 разных полимеров, для водных растворов глицина, α -аланина, β -аланина, фенилаланина и изолейцина (рис. 6.31) с одинаковой концентрацией имеют характерный профиль с разной площадью.

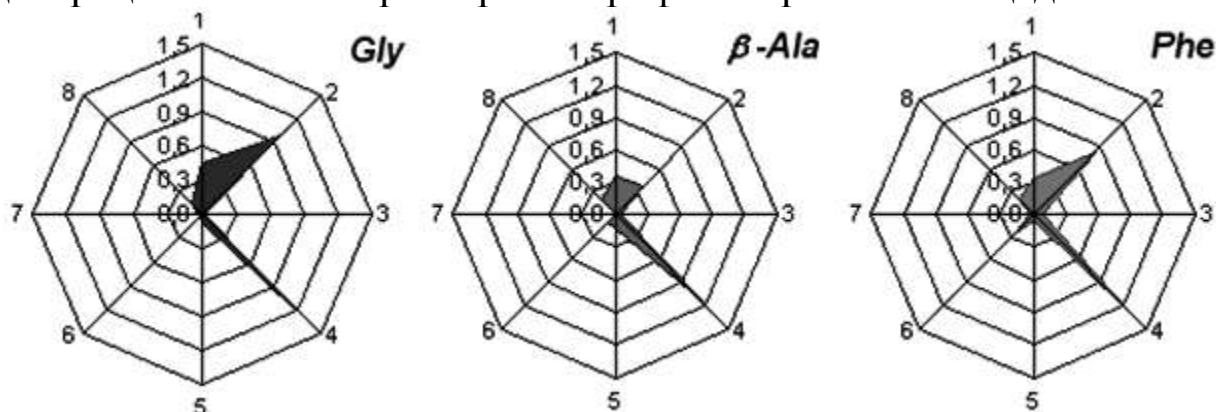


Рис. 6.31. ЛД₈ для водных растворов АК, $C=20$ г/л. Сигналы чувствительных элементов сенсоров, равные α_{abs} соответствующих сорбентов: 1 – СГ-1М Н⁺; 2 – КБ-2-4 Н⁺; 3 – С 120 Е Н⁺; 4 – КБ-2э7 Н⁺; 5 – АВ-17 Cl⁻; 6 – ПВС; 7 – MN Purolite; 8 –ПАА

Анализ диаграммы для глицина показывает, что наблюдаются заметные объемные эффекты для 3 сенсоров. Неселективные сорбенты также участвуют в создании общего профиля ЛД, кроме того они могут быть чувствительны к другим веществам.

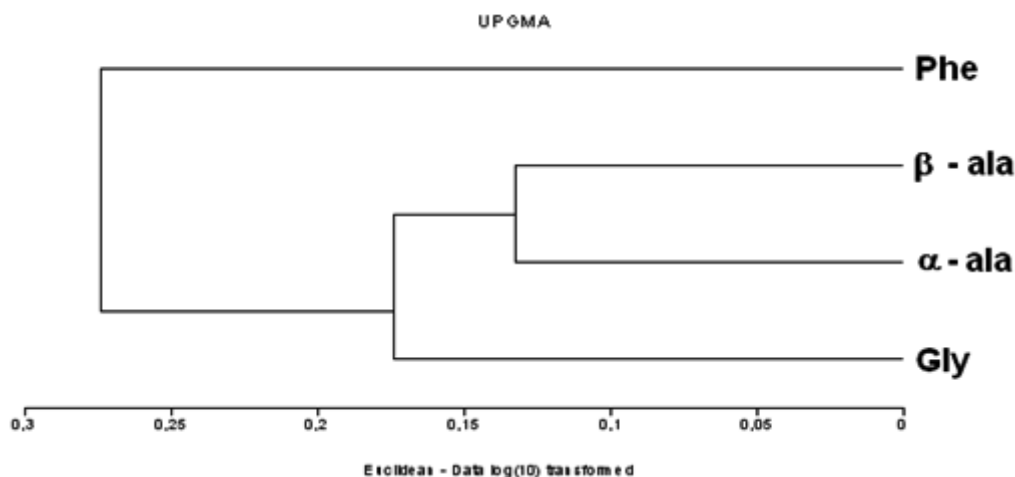


Рис. 6.32. Дендрограмма, полученная в результате кластерного анализа массива данных α_{abs} ионогенных и неионогенных полимеров в растворах АК

К полученному многомерному массиву значений α_{abs} гранул ионогенных и неионогенных полимерных гранул в растворах глицина,

β -аланина, аланина и фенилаланина с одинаковой концентрацией ($C=5$ г/л) применили кластерный анализ.

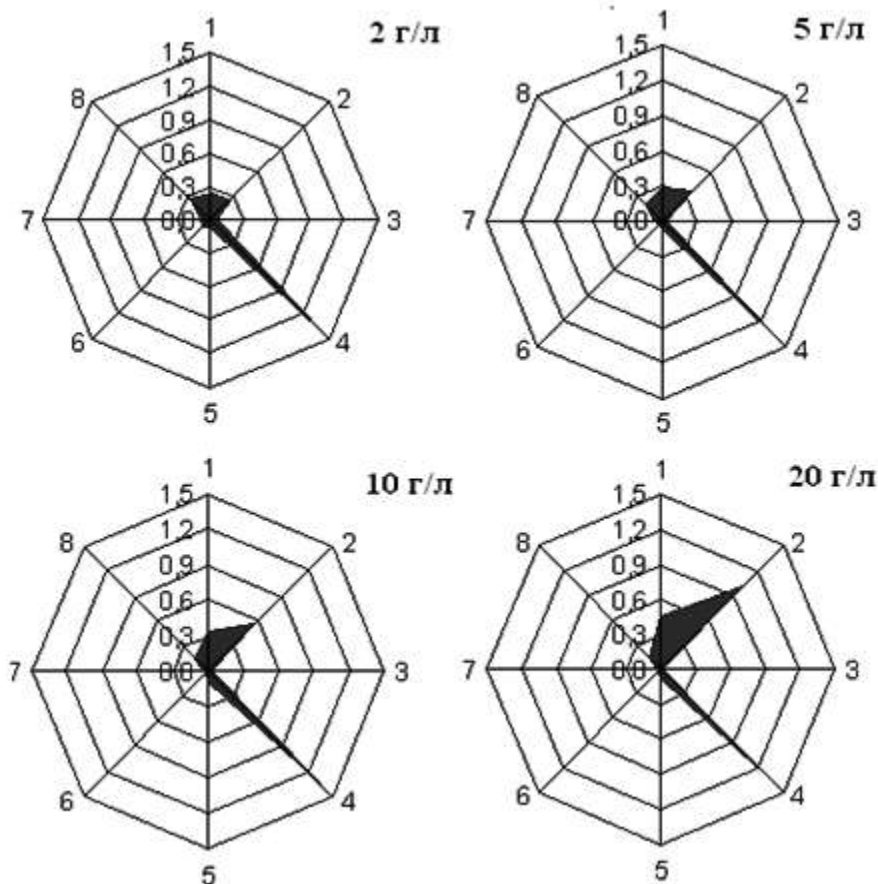


Рис. 6.33. ЛД для водных растворов глицина. Сигналы чувствительных элементов, равные α_{abs} сорбентов: 1 – СГ-1М H^+ ; 2 – КБ-2-4 H^+ ; 3 – С 120 Е H^+ ; 4 – КБ-2э7 H^+ ; 5 – АВ-17 Cl^- ; 6 – ПВХ; 7 – MN Purolite; 8 – ПАА

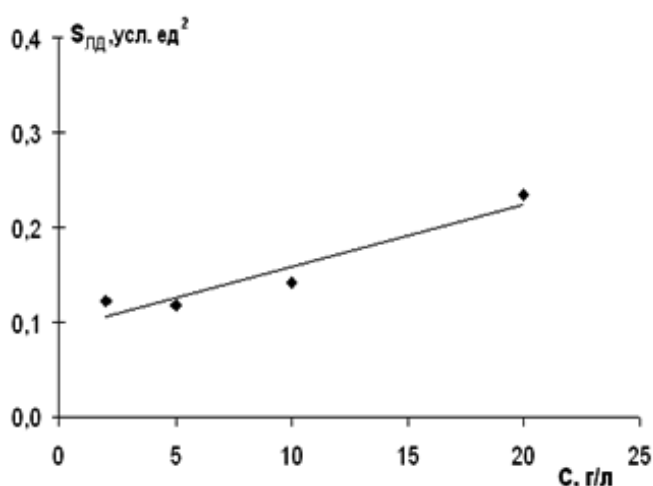


Рис. 6.34. Градуировочный график зависимости площади ЛД₈ от концентрации глицина в растворе.
 $S=(0.007\pm0.001)C+(0.092\pm0.016)$, $R^2=0.919$

Как видно из рис. 6.32, на дендрограмме уверенно различимы глицин и фенилаланин, но рассматриваемая мультисенсорная система

не позволяет идентифицировать изомеры α - и β -аланина. Система идентифицирует α - и β -аланина как одно вещество.

Хронометраж показал, что для получения обобщенного сигнала в виде ЛД₈ необходимо от 25 до 45 мин.

Если рассматривать ЛД растворов одной АК с разной концентрацией (рис. 6.33), то можно визуально увидеть увеличение площади и периметра ЛД при увеличении концентрации. Расчеты показывают, что $S_{\text{ЛД}}$ и $P_{\text{ЛД}}$ для диаграмм, по осям которых отложены значения α_{abs} , линейно зависят от концентрации, что позволяет применять эти зависимости как градуировочные функции (рис. 6.34). Геометрия ЛД позволяет идентифицировать анализируемое вещество и количественно охарактеризовать его содержание.

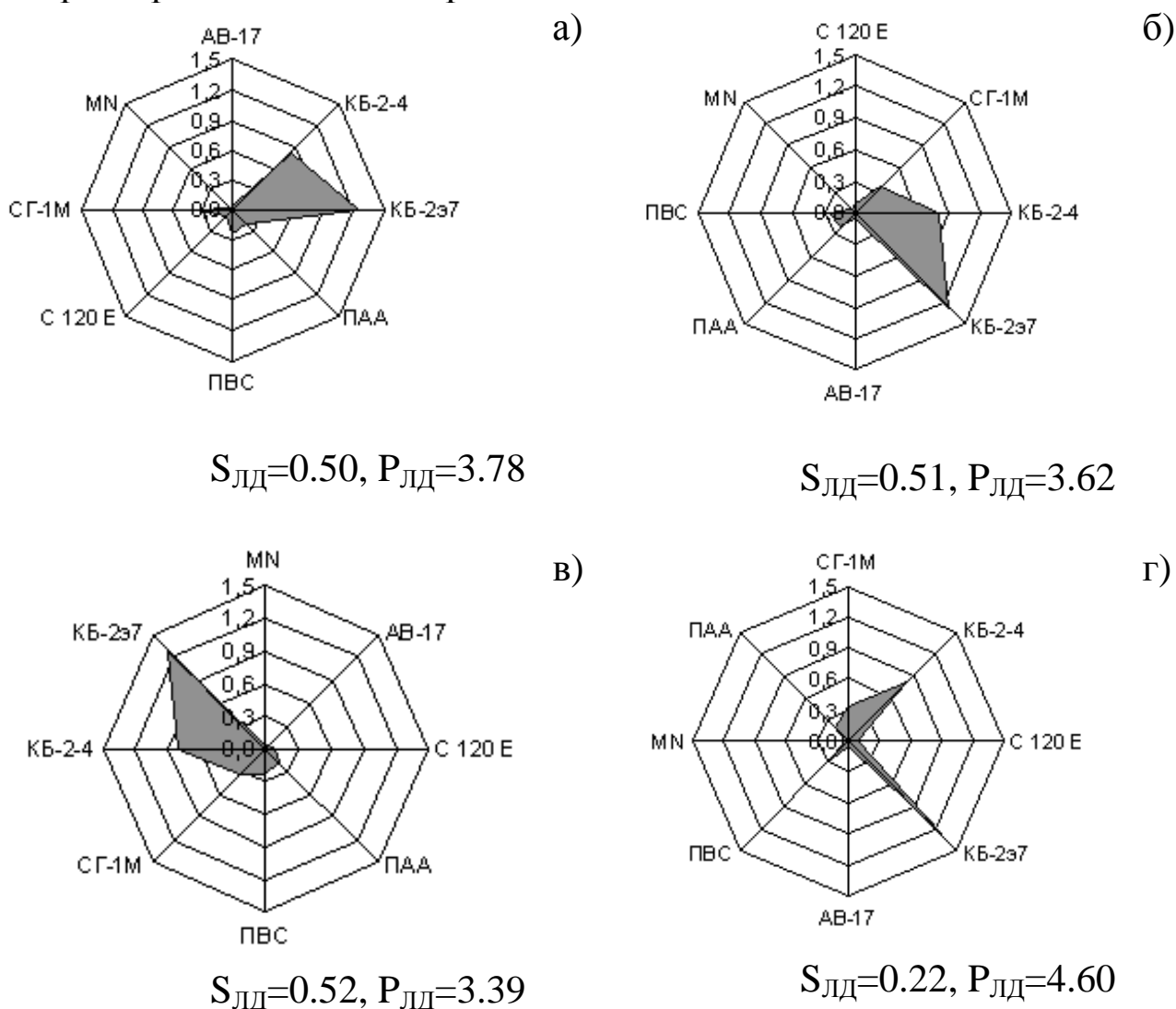


Рис. 6.35. ЛД₈ для водных растворов Phe, $C=20$ г/л. Последовательность представления данных на осях: а) в алфавитном порядке, б) по типу сорбента, в) по возрастанию значений α_{abs} , г) по типу сорбента и значениям α_{abs}

В то же время следует помнить, что на геометрию ЛД влияет выбор последовательности расположения значений α_{abs} гранул полимеров на осях (рис. 6.35). Последовательность представления данных на осях можно выбирать: по возрастанию значений α_{abs} , в алфавитном порядке названий гранул сорбентов, по типу сорбента (катиониты и аниониты, неионогенные полимеры). Для анализа АК в растворах использовали последовательность осей, при которой учитывали тип гранул и чередовали большие и малые величины α_{abs} . Такое представление данных дает максимальный периметр при минимальной площади диаграммы (рис. 6.35г).

Удобной формой выражения данных для идентификации отдельных АК (рис. 6.36), и их смесей (рис. 6.37) являются нормализованные КК в виде ЛД, учитывающие ошибку определения. На рис. 6.36 в КК для глицина внесены данные для других АК. Видно, что ни одна АК не соответствует по эффектам набухания глицину. Та же ситуация имеет место, если в КК для α -Ala внести данные для Phe или смесей α -Ala и Phe (рис. 6.37).

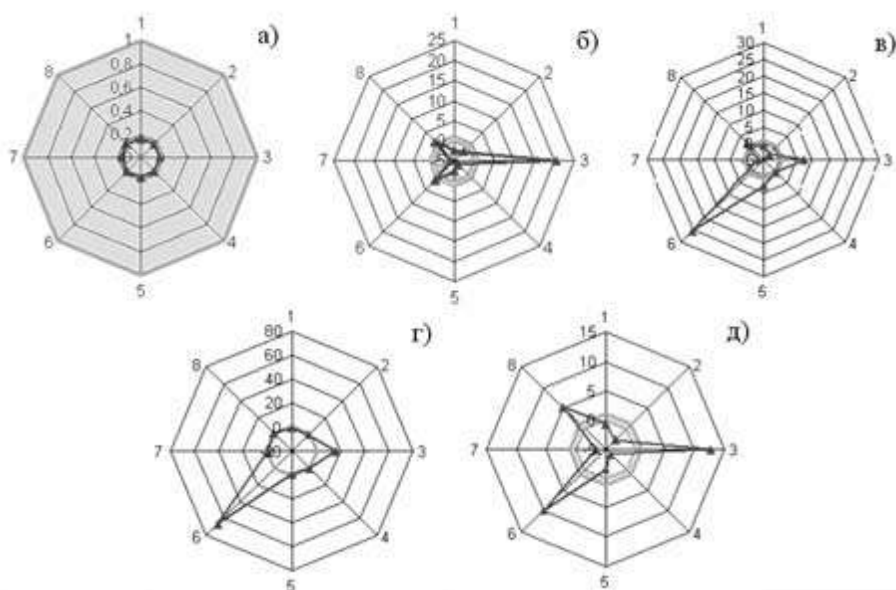


Рис. 6.36. ЛД₈ для идентификации АК ($C=20$ г/л) в водных растворах: а) Gly (реперное вещество), б) α -Ala, в) β -Ala, г) Phe, д) iLe. На осях отложены α_{abs} сорбентов: 1 – СГ-1М Н⁺; 2 – КБ-2-4 Н⁺; 3 – С 120 Е Н⁺; 4 – КБ-2э7 Н⁺; 5 – АВ-17 Cl⁻; 6 – ПВС; 7 – MN Purolite; 8–ПАА

Для получения аналитического сигнала, в котором исключена возможность «вырожденного состояния» – проявления одинаковой чувствительности одного сенсора по отношению к растворам разных аналитов, по-видимому, достаточно использовать систему из 5 гранул

полимеров различной природы и, соответственно различной селективности. Например, для построения изображений, соответствующих растворам глицина, β -аланина и α -фенилаланина с концентрацией 20 г/л, были определены эффекты для 5 гранул различных сорбентов. ЛД₅ образуют индивидуальный профиль, характерный для каждого объекта (рис. 6.38). Для растворов АК в диапазоне 2-20 г/мл установлено, что площади S ЛД₅ находятся в линейной зависимости от концентрации (C). Например, для глицина получена зависимость $S=(0.007\pm0.001)C+(0.092\pm0.014)$, для которой $R^2=0.92$.

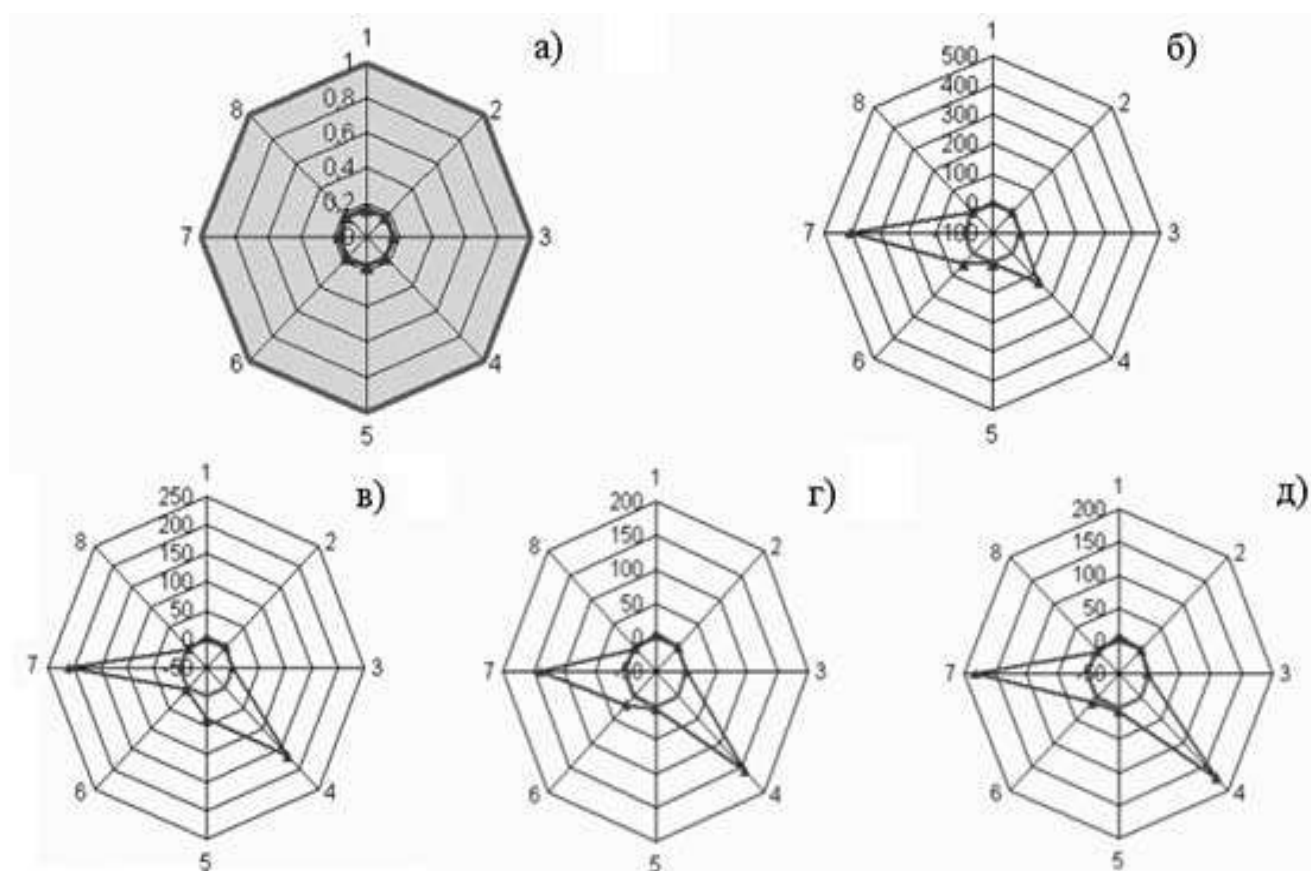
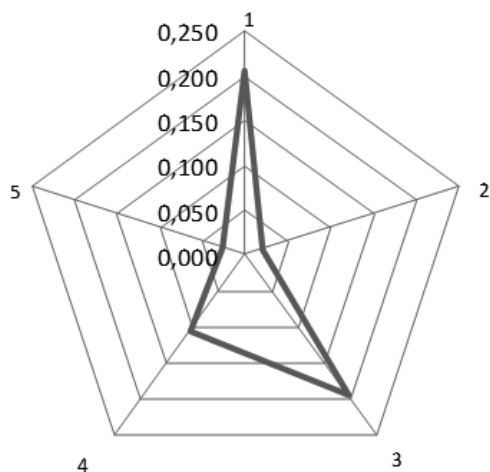
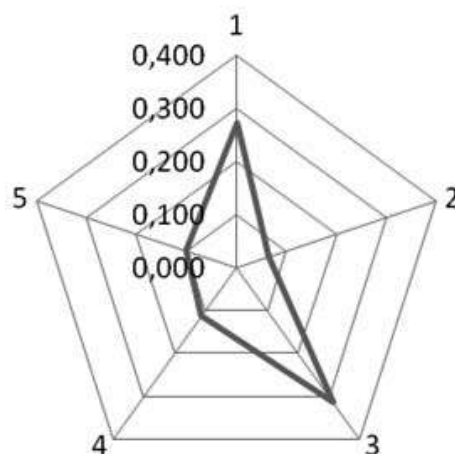


Рис. 6.37. ЛД₈ для смеси α -Ala и Phe в водных растворах, общая $C=20$ г/л: а) α -Ala (реперное вещество), б) Phe, в) α -Ala и Phe, 1:1, г) α -Ala и Phe, 9:1, д) α -Ala и Phe, 1:9. На осях отложены α_{abs} сорбентов: 1 – СГ-1М Н⁺; 2 – КБ-2-4 Н⁺; 3 – С 120 Е Н⁺; 4 – КБ-2э7 Н⁺; 5 – АВ-17 Cl; 6 – ПВС; 7 – MN Purolite; 8 – ПАА

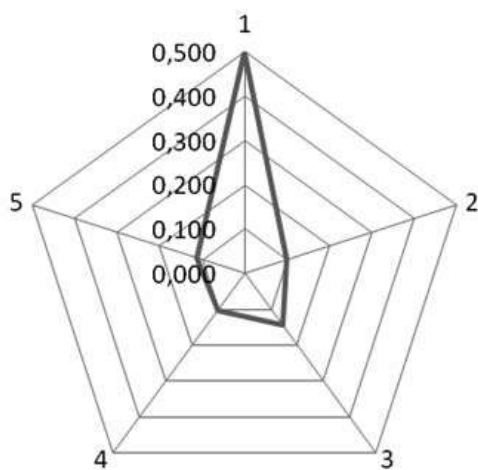
Установлено, что для построения концентрационных зависимостей можно использовать не только площадь, но и величину периметра ($P_{\text{ЛД}}$) получаемых ЛД. Относительная погрешность определения концентрации аминокислот в водных растворах предложенным способом составляла 7- 15%.



а)



б)



в)

Рис. 6.38. ЛД₅ для растворов: а) глицина; б) α -аланина; в) α -фенилаланина. 1 – СГ-1м Н⁺; 2 – ПВС 20; 3 – GFF 2; 4 – С 120 Е Н⁺; 5 – АВ 17 СГ; $C=20$ г/л

Таким образом, ЛД, представляющие собой графическое цифровое изображение результатов обработки видеосигнала от нескольких чувствительных элементов (гранул) можно рассматривать как интегральный (обобщенный) показатель, который можно эффективно применять при контроле растворов АК и пептидов. Безусловно, для построения ЛД применима не только программа MS Excel, но другие пакеты прикладных программ, например, MatLab, Mathcad, Mathematica, Maple.

6.8. Применение эффекта набухания в определении состава водно-этанольных смесей

В медицине и фармакогнозии часто применяют водно-этанольные экстракты из растительного сырья, лекарственные средства в виде водно-спиртовых растворов. Для анализа состава водно-этанольных смесей испытали описанную выше оптическую мультисенсорную систему. В качестве чувствительных элементов были выбраны сферические гранулы ВП An ВП 14 К, С 120 Е, АВ-17, ПАА (3 % сшивки), ПВС (20 % сшивки), WOFATIT EA 60 и WOFATIT ES tech (табл. 6.7).

Таблица 6.7

Объемные эффекты гранул из ионогенных и неионогенных полимеров в воде

Марка	Тип полимера	Время установления максимального набухания в воде, мин	Максимальное относительное набухание гранул в воде
АВ 17 СГ	анионит сильноосновный	1	1.02
С 120 Е	катионит сильноокислотный	5	1.05
ПАА 3 % сшивки	неионогенный	10	3.48
ПВС 20 % сшивки	неионогенный	9.5	4.05
ВП 1 An	анионит сильноосновный	5	1.40
ВП 14 К	амфолит	2	1.43
WOFATIT EA 60	анионит сильноосновный	1	1.40
WOFATIT ES tech	анионит сильноосновный	1	1.66

Между значением α_{abs} и концентрацией воды в модельных растворах установлены количественные зависимости $\alpha_{abs}=f(C_x)$ или $\ln(\alpha_{abs})=f[\ln(C_x)]$ [331,346,347]. Так, на рис. 6.39 представлена зависи-

мость абсолютного изменения объема гранулы из ПВС-20 в водно-этанольных растворах, которая позволяет контролировать содержание воды в водно-спиртовых смесях в широком диапазоне концентраций (30-100%). Очевидно, что если каждый сенсор в отдельности дает количественный сигнал на концентрацию аналита, то и обобщенный (суммарный) сигнал в виде площади или периметра ЛД так же может быть количественным.

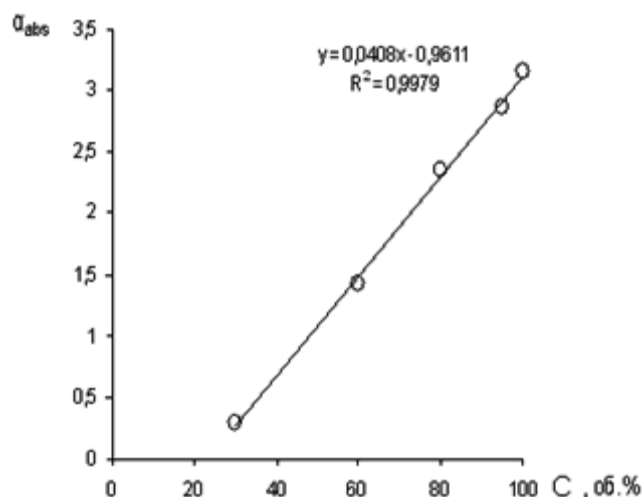


Рис. 6.39. Зависимость $\alpha_{abs}=f(C_x)$ для ПВС в водно-спиртовых растворах, на оси абсцисс приведена концентрация воды, C об. %.

На рис. 6.40 представлены ЛД для водно-спиртовых растворов с различной концентрацией воды и зависимость площади диаграммы от концентрации воды $\ln(S)=f[\ln(C_x)]$. На рис. 6.41 приведены аналогичные данные для водно-ацетонитрильных смесей.

Градуировочные зависимости по площади и периметру ЛД (рис. 6.42) могут быть адекватно описаны степенной функцией вида:

$$y = ax^b, \quad (6.6)$$

где a , b – эмпирические коэффициенты. Степень аппроксимации $R^2 > 0,99$. В табл. 6.8 приведены значения найденных эмпирических коэффициентов градуировочных кривых для системы вода – этанол (100-4 об. % воды).

Таблица 6.8

Значения эмпирических коэффициентов a , b уравнения (6.6) и степени аппроксимации градуировочных кривых для системы вода – этанол

Площадь ЛД ₈			Периметр ЛД ₈		
a	b	R^2	a	b	R^2
$(1.61 \pm 0.77) \times 10^{-6}$	3.19 ± 0.10	0.999	$(5.89 \pm 1.51) \times 10^{-3}$	1.59 ± 0.06	0.998

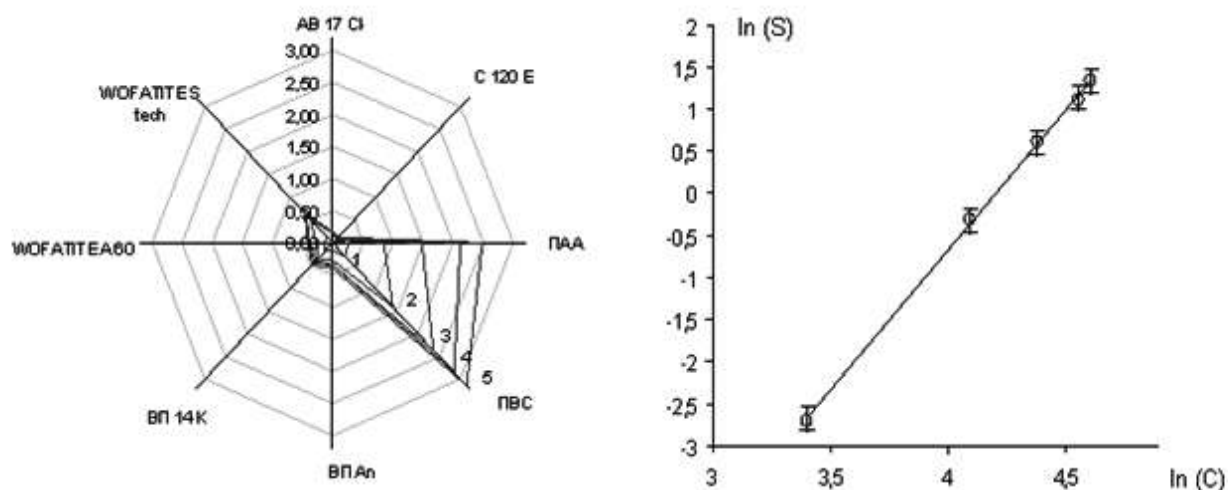


Рис. 6.40. ЛД для различных концентраций воды в растворах этанола (1 – 30; 2 – 60; 3 – 80; 4 – 95; 5 – 100% об. воды), и соответствующая градуировочная зависимость $\ln(S)=3.34 \cdot \ln(C_x)-14.02$, $R^2=0.999$

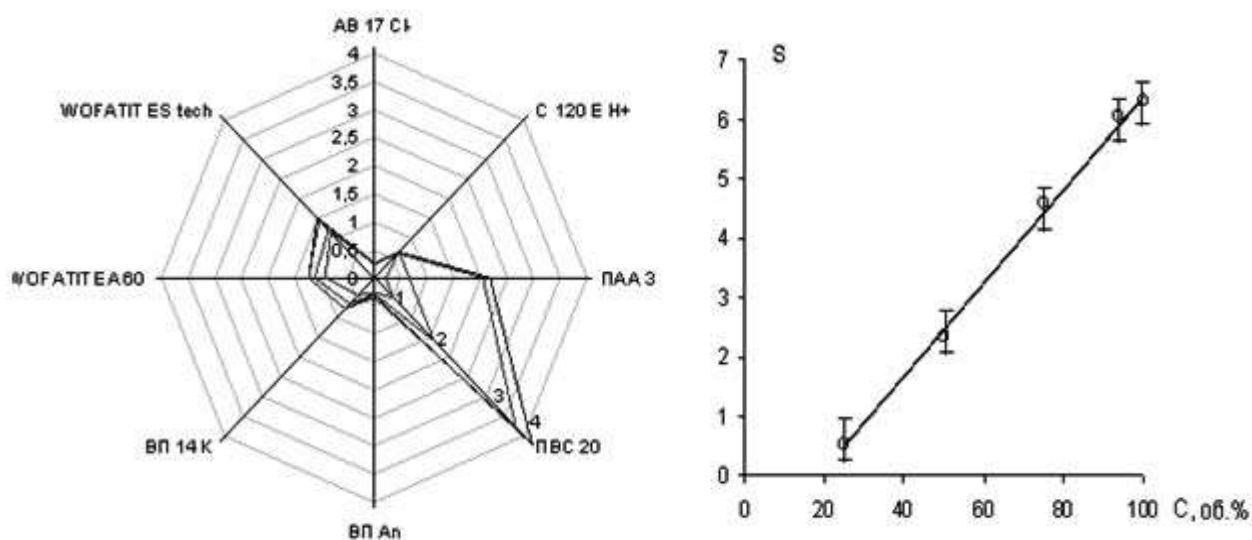


Рис. 6.41. ЛД для различных концентраций воды в растворах ацетонитрила (1 – 25; 2 – 50; 3 – 75; 4 – 100 % об. воды) и градуировочная зависимость площадей диаграммы от концентрации воды $S=0.08 \cdot C_x-1.46$, $R^2=0.997$

Для количественных характеристик геометрической формы ЛД апробированы также фрактальность D и отношение квадратного корня площади диаграммы к ее периметру. Величина отношения $(S^{0.5})/P$ для водно-спиртовых смесей варьирует при изменении концентрации воды в диапазоне 0.21-0.25, а фрактальности $D=1.30-1.69$, то для водно-ацетонитрильных смесей $(S^{0.5})/P=0.31-0.35$, а $D=1.47-1.77$.

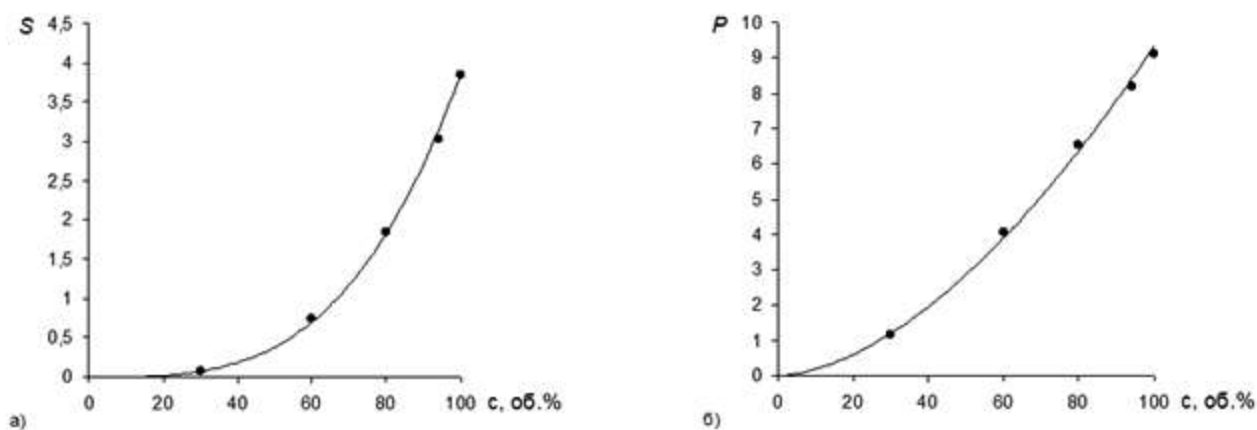


Рис.6.42. Градуировочные зависимости параметров диаграммы от концентрации воды в водных растворах этанола: а) площадь, б) периметр ЛД

Таким образом, на примере водно-спиртовых растворов показано, что микрофотографические измерения объемных эффектов сферических гранул полимерных материалов могут служить количественным аналитическим сигналом как в случае с применением единичных гранул, так и в виде мультисенсорной системы, состоящей из нескольких гранул (5-8).

6.9. Применение микрофотографической мультисенсорной системы в контроле содержания лекарственных веществ в водных и водно-спиртовых растворах

Оптическая мультисенсорная система была применена для измерений объемных эффектов в водно-спиртовых экстрактах из растительного сырья, используемых в качестве лекарственных средств и БАД.

Как видно по рис. 6.43, для каждого экстракта, приобретенного в розничной аптечной сети, характерен индивидуальный «визуальный отпечаток» или «образ» ЛД. В табл. 6.9 приведены количественные геометрические характеристики ЛД (P , S , $(\sqrt{S})/P$ и D). Фрактальность D рассчитана при помощи программы Fractall 2. Эти данные наглядно показывают существенные количественные различия и позволяют утверждать, что профиль ЛД может служить обобщенным идентификационным критерием.

Аналогичные выводы сделаны нами при изучении эффектов набухания гранул нескольких типов сорбентов в водных инъекционных формах ряда лекарственных средств. Для анализа водных растворов винпоцетина, новокаина, но-шпы, парацетама с концентрацией 0.5% были выбраны в качестве чувствительных гранул следующие полимеры: СГ-1М Н⁺; ПАА; С 120 Е Н⁺; КУ-23 Н⁺; КБ-2э7 Н⁺; КБ-4П-2 Н⁺; КБ-2-4 Н⁺; АВ-16 ГС ОН⁻. На рис. 6.44. приведены результаты измерений мультисенсорного сигнала в виде ЛД с 8-ю осями.

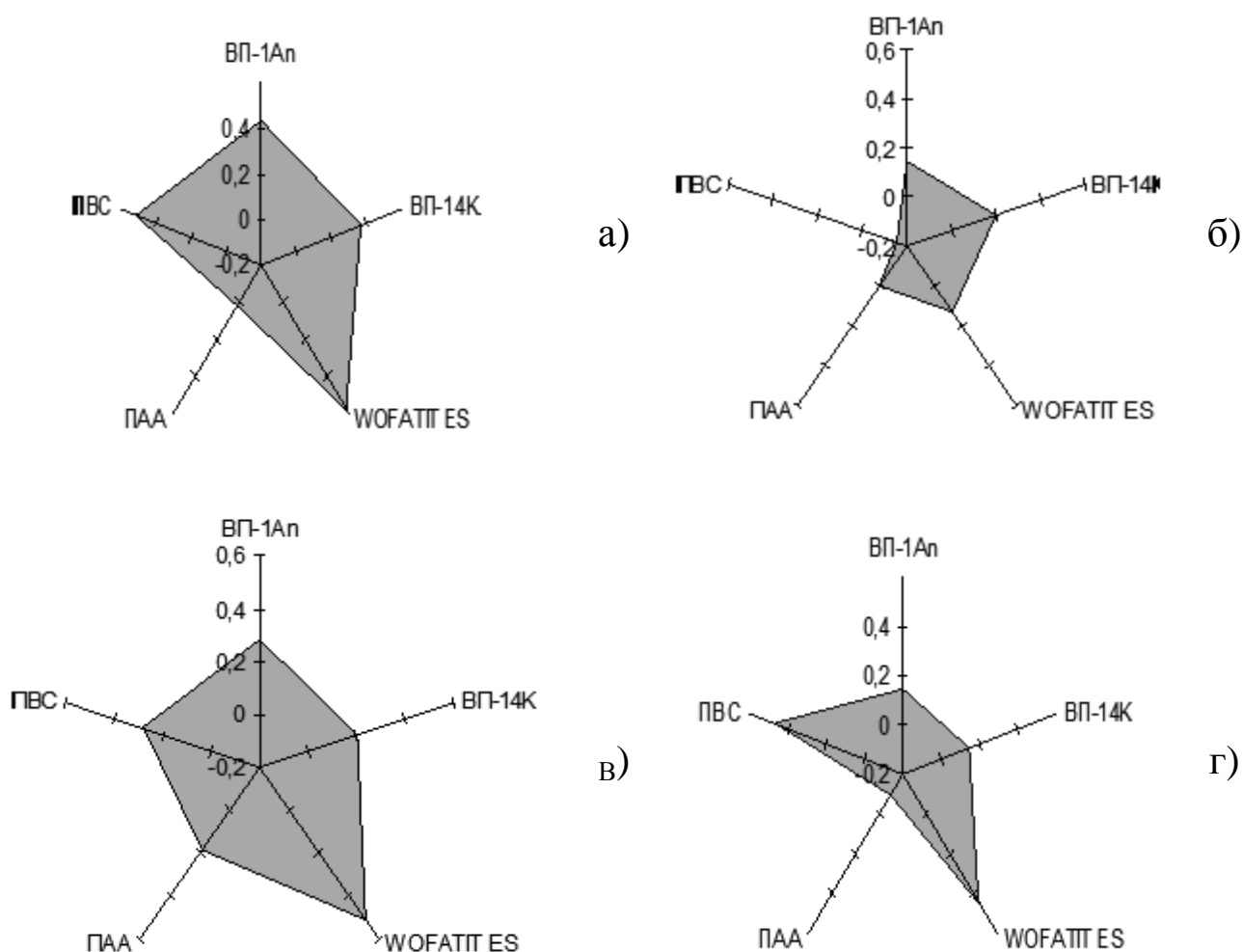


Рис. 6.43. ЛД для спиртовых настоек а) валерианы, б) календулы, в) боярышника, г) пустырника (70% об. этанола)

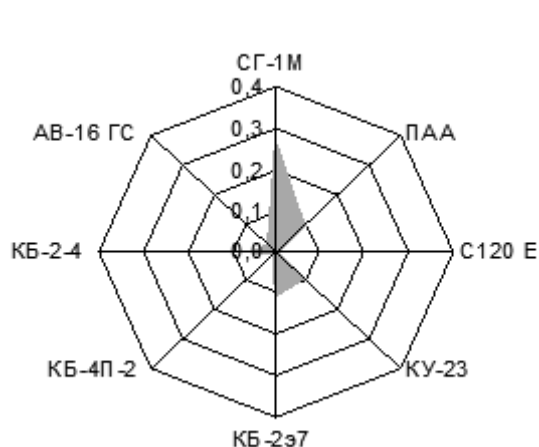
На рис. 6.45 представлены ЛД₁₂ для разных лекарственных средств. Для измерений исходные лекарственные формы приводили к одинаковым концентрациям (0.5 и 2%) лекарственного средства. По рис. 6.45 видно, что ЛД разных лекарственных препаратов различны,

то есть, по профилю ЛД можно проводить идентификацию лекарственных средств в растворах.

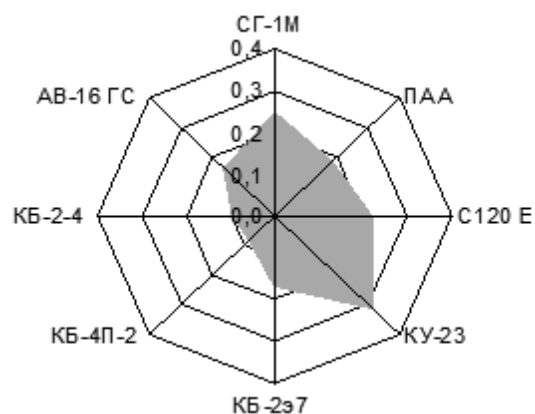
Таблица 6.9

Геометрические характеристики ЛД для спиртовых настоек
из растительного сырья

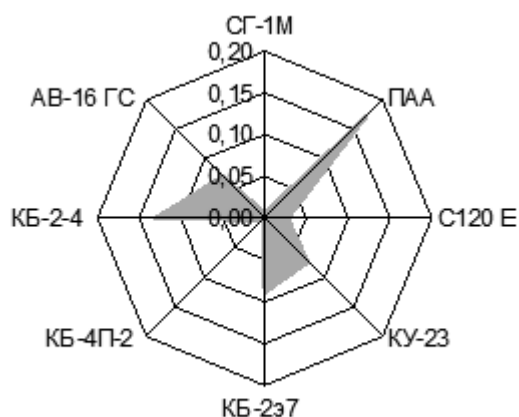
Наименование настойки	S	P	$(\sqrt{S})/P$	D
настойка валерианы	10.6	9.2	0.35	1.09
настойка календулы	2.8	4.4	0.37	1.29
настойка боярышника	14.8	12.0	0.32	1.05
настойка пустырника	4.1	6.0	0.33	1.50



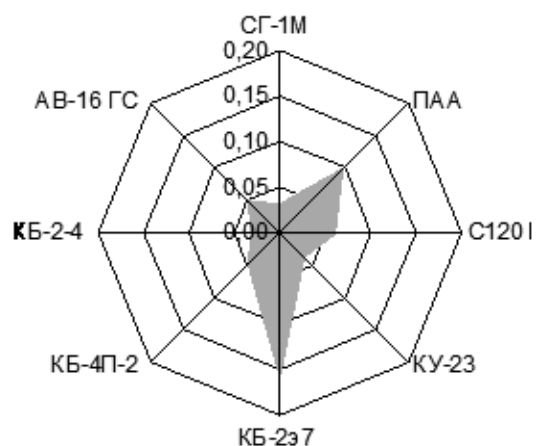
а)



б)



в)



г)

Рис. 6.44 Лепестковые диаграммы для растворов (0.5%) а) винпоцетина, б) новокаина, в) но-шпы, г) пирацетама

Результаты, полученные для выбранных лекарственных средств, обрабатывали с помощью кластерного анализа и МГК. Кластерный анализ не позволил уверенно различить данные лекарственные препараты (рис. 6.46). В то время как МГК позволил это сделать (рис. 6.47). В МГК вычисление главных компонент сводится к вычислению собственных векторов и собственных значений ковариационной матрицы исходных данных. После линейного преобразования из описания исключаются некоторые компоненты, что увеличивает среднюю ошибку описания, поэтому в первую очередь исключаются компоненты, обладающие минимальной дисперсией. Иными словами, остаются компоненты, объясняющие максимальное количество вариативности данных[362].

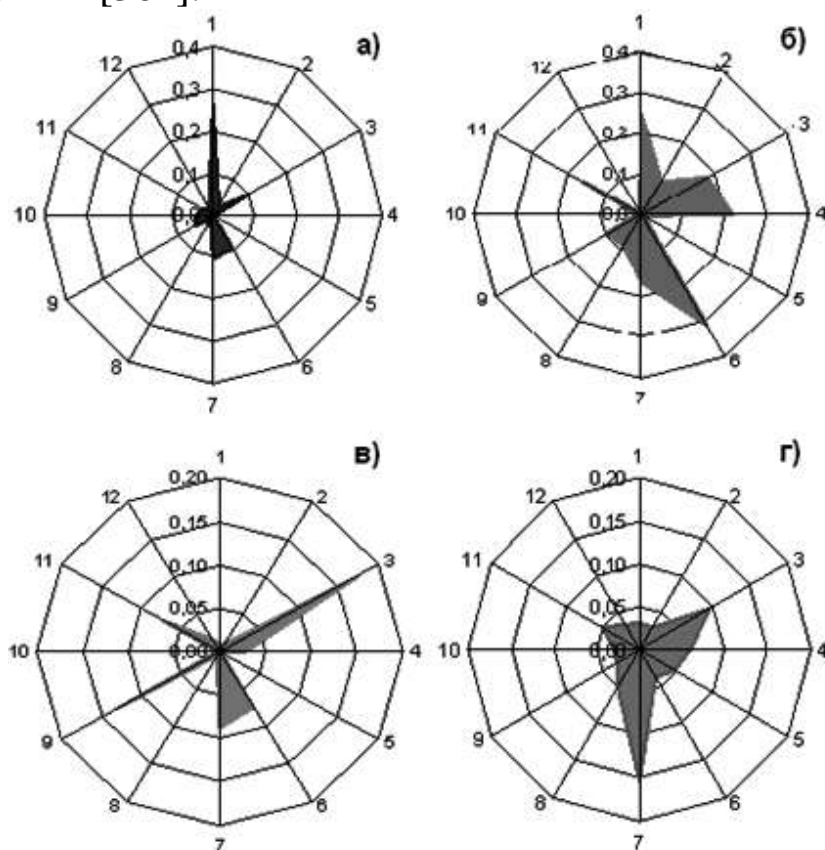


Рис. 6.45. ЛД₁₂ для лекарственных средств, $C=0.5\%$: а) винпоцетин, б) новокаин, в) но-шпа, г) пирацетам. Сигналы чувствительных элементов, равные α_{abs} сорбентов: 1 – СГ-1М Н⁺; 2 – ПВС; 3 – ПАА; 4 – С 120 Е Н⁺; 5 – АВ-17 СГ; 6 – КУ-23 Н⁺; 7 – КБ-2э7 Н⁺; 8 – КБ-4П-2 Н⁺; 9 – КБ-2-4 Н⁺; 10 – КБ-4-10П Н⁺; 11 – АВ-16 ГС ОН⁻; 12 – MN Purolite

Некоторые лекарственные формы применяют с различным содержанием действующего вещества, поэтому провели измерения для новокаина с разным содержанием субстанции. На рис. 6.48 представлены ЛД₈, полученные для инъекционных растворов новокаина 0.25,

0.5 и 2.0 %. Расчет площади и периметра профиля для этих ЛД₈ показал, что эти зависимости от концентрации линейны в изученном диапазоне, поэтому их можно использовать как градуировочные уравнения. Получены следующие градуировочные зависимости:
 $P_{\text{ЛД}} = (1.19 \pm 0.04) + (0.14 \pm 0.03)C$, $R^2 = 0.955$ и
 $S_{\text{ЛД}} = (0.025 \pm 0.006) + (0.013 \pm 0.005)C$, $R^2 = 0.884$.

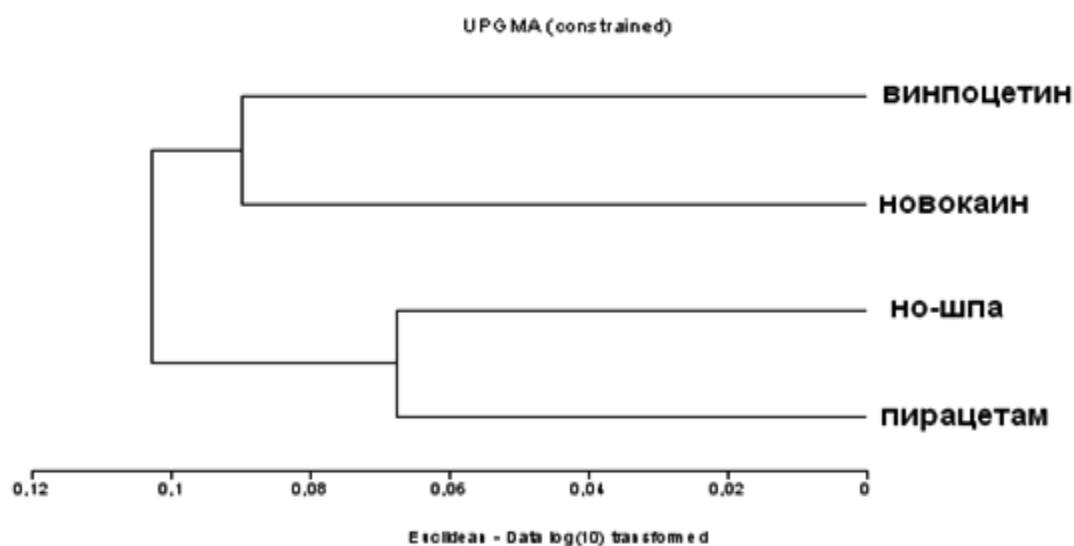


Рис. 6.46. Дендрограмма для распознавания лекарственных средств, $C=0.5\%$

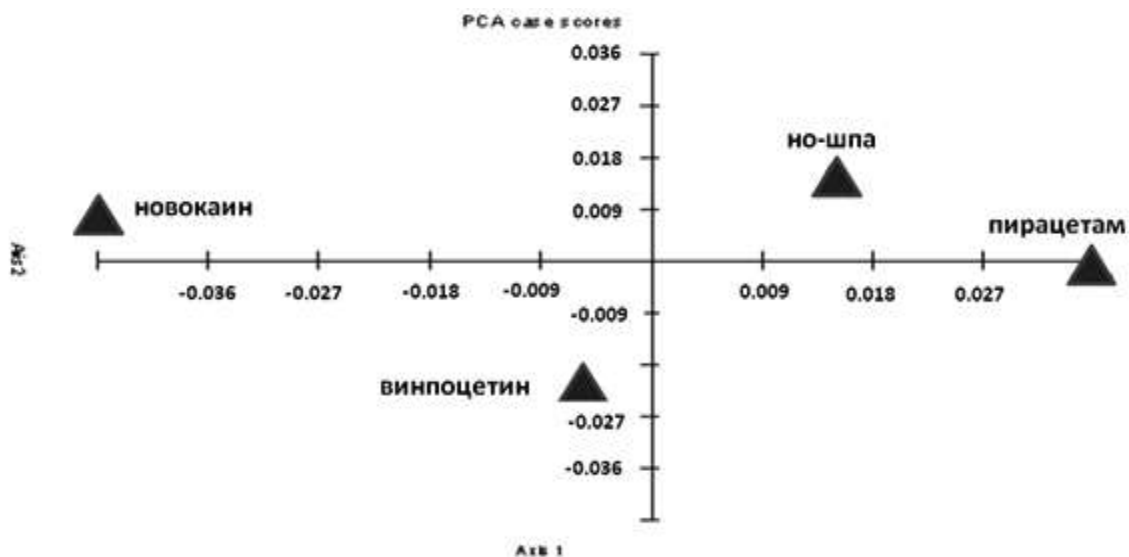


Рис. 6.47. Результаты применения МГК для распознавания лекарственных средств, $C=0.5\%$

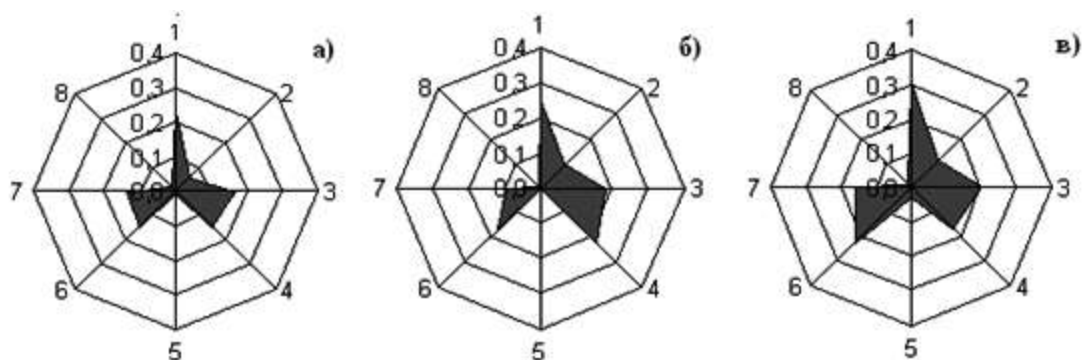


Рис.6. 48. ЛД₈ растворов лекарственных форм новокаина 0.25% (а), 0.5% (б), 2.0% (в). 1 – СГ-1М Н⁺, 2 – ПВС, 3 – ПАА, 4 – С 120 Е Н⁺, 5 – АВ-17 СГ, 6 – КБ-2э7 Н⁺, 7 – КБ-2-4 Н⁺, 8 – MN Purolite

Лекарственные препараты в форме инъекционных растворов имеют сложный состав, представляют собой многокомпонентные смеси, состоящие из основного (действующего) вещества и вспомогательных (стабилизаторы, антиоксиданты и т.д.). Изменение степени набухания ионогенных и неионогенных полимеров имеет интегральный характер, т.е. на нее оказывают влияние все компоненты раствора. Вследствие этого интересным является изучение того, как могут влиять на интегральные (обобщенные) показатели вспомогательные компоненты лекарственных форм. ЛД₈ для растворов субстанции новокаина с концентрациями 0.25, 0.5 и 2.0% (рис. 6.49) сопоставили с ЛД₈ растворов его лекарственных форм (рис. 6.50).

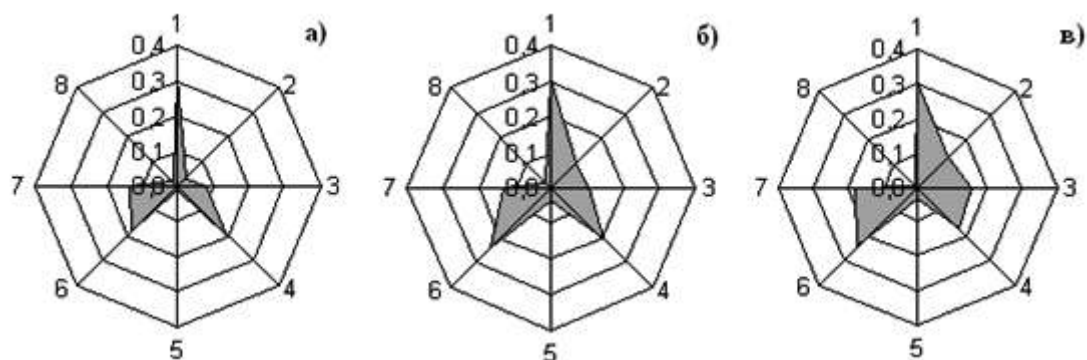


Рис. 6.49. ЛД₈ растворов субстанции новокаина, %: а) 0.25, б) 0.5, в) 2.0. 1 – СГ-1М Н⁺, 2 – ПВС, 3 – ПАА, 4 – С 120 Е Н⁺, 5 – АВ-17 СГ, 6 – КБ-2э7 Н⁺, 7 – КБ-2-4 Н⁺, 8 – MN Purolite

Сопоставление показало, что профили ЛД₈ модельных растворов новокаина отличаются от профилей ЛД₈ для его лекарственной формы. При наложении этих профилей становится видно (рис. 6.50), что один из сорбентов (ПАА) чувствителен к содержащимся добав-

кам. На α_{abs} 1-го и 6-го сорбентов также оказывает влияние не только основное вещество лекарственной формы, но и вспомогательные вещества.

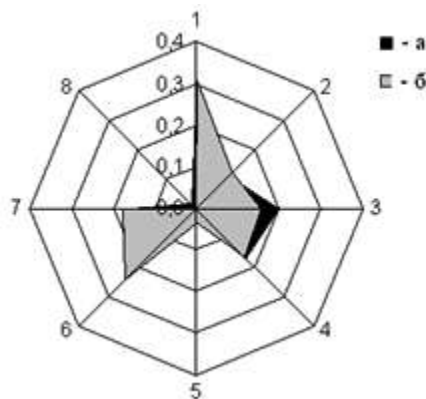


Рис. 6.50. ЛД для лекарственной формы новокаина 2.0% (а) и модельного раствора 2.0 % (б), где: 1 – СГ-1М Н⁺, 2 – ПВС, 3 – ПАА, 4 – С 120 Е Н⁺, 5 – АВ-17 СГ, 6 – КБ-2э7 Н⁺, 7 – КБ-2-4 Н⁺, 8 – MN Purolite

Таким образом, предложенный мультисенсорный оптический способ идентификации растворов БАВ является перспективным для разработки методик тест-контроля аутентичности и качества фармацевтической продукции, БАД, БАВ, биологически активных добавок, технических жидкостей и растворов, лекарственного сырья. В этом способе в качестве обобщенного идентификационного критерия могут быть использованы геометрические параметры диаграмм, построенных в полярных координатах.

Выбирая или синтезируя полимеры с заданными свойствами, селективными по отношению к разным компонентам анализируемых объектов, можно составлять мультисенсорные системы для самых разнообразных объектов анализа в различных областях.

Рассмотренный метод отличается простотой пробоподготовки, низким расходом реактивов, при этом могут быть использованы относительно дешевые и доступные цифровые устройства регистрации видеосигнала: ЦФК или видеокамера. Мультисенсорная система, созданная на основе цифрового устройства, совмещенного с оптическим микроскопом, регистрирующим объемные эффекты гранул неионогенных полимеров и ионообменных смол, может быть использована в фармацевтическом анализе и фармакогнозии.

Показано, что лепестковые диаграммы могут быть использованы как обобщенный показатель в визуализации мультисенсорного

сигнала, в его качественной и количественной интерпретации. Геометрия ЛД может служить для качественной идентификации, а площадь и периметр могут быть использованы для построения обобщенных градуировочных зависимостей, т.е., метрологические исследования показали, что обобщенный показатель в форме лепестковых диаграмм пригоден для количественного анализа. В бюджетных лабораториях или цехах малых предприятий для экспрессной идентификации или цехового контроля качества (тест-контроля) таких сложных многокомпонентных смесей, как водные, водно-спиртовые и водно-органические экстракты из растительного или животного сырья, где не требуется покомпонентного анализа, рассматриваемая нами мультисенсорная система может быть полезной.

Информативными в анализе измерений, полученных с помощью оптической мультисенсорной системы являются хемометрические способы обработки данных – кластерный анализ и метод главных компонент.

Для усовершенствования методик анализа с применением данного типа мультисенсорной системы, требуются технические решения для автоматизации регистрации цифрового изображения нескольких гранул одной ЦФК, или применение одновременно нескольких миниатюрных камер, что в настоящее время не представляет большой проблемы. Поскольку лимитирующей стадией в этом методе является установление квазиравновесного состояния объема гранул, представляется необходимым поиск материалов, приходящих в равновесное состояние за более короткое время. Этот эффект можно получить и за счет уменьшения размеров гранул. Теоретический интерес представляют материалы, имеющие объемные эффекты $f \geq 10-300$. В этом случае можно изготовить простые измерительные приборы, основанные на объемных эффектах, подобные «градуснику», где наблюдение ведется визуально с использованием шкалы.

Таким образом, измерение объемных эффектов набухания полимеров и ионитов в растворах при современном развитии цифровых технологий приобрело «второе дыхание», т.к. появилась возможность регистрации электронного изображения (видеосигнала) цифровыми устройствами с последующей обработкой на ПК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сироджов К.Х. Разработка экспертной системы для определения оптимальной тактики лечения шокового периода политравмы : дисс. ... канд. мед. наук. – Душанбе, 2004. – 157 с.
2. Гражданкин А.И. Разработка экспертной системы оценки техногенного риска и оптимизации мер безопасности на опасных производственных объектах : дисс. ... канд. техн. наук. – М., 2001. – 233 с.
3. Абызгильдина С.Ш. База знаний экспертной системы в области промышленной безопасности : дисс. ... канд. техн. наук. – Уфа, 2006. – 193 с.
4. Рудаков О. Б. Экспертная система для жидкостной хроматографии: принципы построения и применение в химическом анализе : дисс. ... д-ра хим. наук. – Воронеж, 2004. – 412 с.
5. Карпов А.Г. Информационно-экспертная система для комплексной диагностики твердотельных нано- и микроструктур : дисс. ... д-ра техн. наук. – Санкт-Петербург, 2006. – 325 с.
6. Меркулов Д. В. Автоматизация радиоволнового неразрушающего контроля качества строительных материалов и изделий средствами экспертной системы : дис. ... канд. техн. наук. – Воронеж, 2004. – 240 с.
7. Суржиков Е.А. Экспертная система по оценке химического оборудования в условиях конкурсного отбора : дис. ... канд. техн. наук. – М., 2004. – 167 с.
8. Davis W. S., David C. Y. The Information System Consultant's Handbook. Systems Analysis and Design. – CRC Press: 1998. – 800 с.
9. Когаловский, М.Р. Энциклопедия технологий баз данных / М.Р. Когаловский. – М.: Финансы и статистика, 2002. – 800 с.
10. Вершинин, В.И. Дерендяев Б.Г., Лебедев К.С. Компьютерная идентификация органических соединений.– М.: Академкнига, 2002. – 197 с.
11. Вершинин, В.И. Методология компьютерной идентификации веществ с применением информационно-поисковых систем // Журнал аналитич. химии. – 2000. – Т. 55. – № 5. – С. 468-476.

12. Вершинин В.И. Информационно-поисковая система "Спектр-2" для компьютерной идентификации полиаренов. – В кн. "Применение математических методов и ЭВМ в аналитической химии". – М.: Наука, 1989. – С. 123-130.
13. Мешалкин В.П. Экспертные системы в химической технологии. – М.: Химия, 1995. – 367 с.
14. Частиков А.П. Гаврилова Т.А., Белов Д.Л. Разработка экспертных систем. Среда CLIPS.– СПб.: БХВ-Петербург, 2003. – 608 с.
15. Сотник, С. Л. Курс лекций по предмету "Основы проектирования систем с искусственным интеллектом" [Электронный ресурс] / Днепродзержинск, 2000. – Режим доступа: (http://old.ulstu.ru/people/SOSNIN/umk/Basis_of_Artificial_Intelligence/mirrors/lecai/htm/lectures.htm). Проверено 09.01.2013
16. Экспертные системы [Электронный ресурс] / Режим доступа: (<http://www.aiportal.ru/articles/>). Проверено 10.01.2013
17. Lindsay, R.K., Buchanan B. G., Feigenbaum E. A., Lederberg J. DENDRAL: A Case Study of the First Expert System for Scientific Hypothesis Formation//Artificial Intelligence. – 1993. – V. 61. – № 2. – P. 209-261.
18. Крисевич, В.С. Кузьмич Л.А., Шиф А.М. Экспертные системы для персональных компьютеров: методы, средства, реализации: справоч. пособие. – Минск: Вышэйшая школа, 1990. – 197 с.
19. Искусственный интеллект: В 3-х кн. Кн.1. Программные и аппаратные средства: Справочник / под ред. В.Н. Захарова, В.Ф. Хорошевского. – М.: Радио и связь, 1990. – 368 с.
20. Искусственный интеллект: В 3-х кн. Кн.2. Модели и методы: Справочник / под ред. Д.А. Поспелова – М.: Радио и связь, 1990. – С. 7-13.
21. Искусственный интеллект: В 3-х кн. Кн.3. Программные и аппаратные средства: Справочник / под ред. В.Н. Захарова, В.Ф. Хорошевского. – М.: Радио и связь, 1990. – 368 с.
22. Искусственный интеллект: Применение в интегрированных производственных системах / под ред. Э. Кьюсиака. – Пер. с англ. – М.: Машиностроение, 1991. – 544 с.
23. Тейз А.П., Гибомон Ж.-Л. Логический подход к искусственному интеллекту: от классической логики к логическому программированию.– М.: Мир, 1990. – 432 с.

24. Лорьер Ж.-Л. Системы искусственного интеллекта. – М.: Мир, 1991. – 568 с.
25. Нильсон Н. Принципы искусственного интеллекта. – М.: Радио и связь, 1985. – 376 с.
26. Попов Э.В. Экспертные системы. – М.: Наука, 1987. – 288 с.
27. Поспелов Д.А. Логико-лингвистические модели в системах управления. – М.: Энергоатомиздат, 1981. – 232 с.
28. Поспелов Д.А. Моделирование рассуждений. Опыт анализа мыслительных актов. – М.: Радио и связь, 1989. – 184 с.
29. Построение экспертных систем : Пер. с англ. / Под ред. Ф.Хейеса-Рота, Д.Уотермана, Д.Лената. – М.: Мир, 1987. – 441 с.
30. Уинстон П. Искусственный интеллект. – М.: Мир, 1980. – 520 с.
31. Уотерман Д. Руководство по экспертным системам. – М.: Мир, 1989. – 388 с.
32. Форсайт Р. Экспертные системы, принципы работы и примеры. – М.: Радио и связь, 1987. – 222 с.
33. Хейес-Рот, Ф., Уотерман Д., Ленат Д. Построение экспертных систем. – М.: Мир, 1987. – 442 с.
34. Элти, Дж., Кумбе М. Экспертные системы: концепции и примеры. – М.: Финансы и статистика, 1987. – 192 с.
35. Эндрю А. Искусственный интеллект. – М.: Мир, 1985. – 264 с.
36. Искусственный интеллект: применение в химии/ Под ред. Т. Пирса, Б. Хони. – М. : Мир, 1988. – 430 с.
37. Кафаров В.В. Мешалкин В.П. Принципы разработки интеллектуальных систем в химической технологии// ДАН СССР. 1989. Т. 306. № 2.С. 409-413.
38. Искусственный интеллект. Кн. 1. Системы обращения и экспертные системы: Справочник / Под ред. Э.В. Попова. – М. : Радио и связь, 1990. 464 с.
39. Гаврилова, Т. А., Хорошевский В.Ф. Базы знаний интеллектуальных систем.– СПб.: Питер, 2000. 340 с.
40. Субботін С.О. Подання й обробка знань у системах штучного інтелекту та підтримки прийняття рішень : Навчальний посібник. – Запоріжжя: ЗНТУ, 2008. – 341 с.
41. Джарратано Д., Райли Г. Экспертные системы: принципы разработки и программирование.– М.: Вильямс, 2006. – 1152 с.
42. Джексон, П. Введение в экспертные системы. Introduction to Expert Systems / П. Джексон. – 3-е изд. – М.: Вильямс, 2001. – 624 с.

43. Братко, И. Алгоритмы искусственного интеллекта на языке PROLOG. Prolog Programming For Artificial Intelligence. – М.: Вильямс, 2004. – 640 с.
44. Ontological Engineer's Handbook. Version 0.7 [Электронный ресурс] / Режим доступа: (<http://www.cyc.com/doc/handbook/oe/oe-handbook-toc-opencyc.html>). Проверено 10.08.2012.
45. WolframAlphaTM computational knowledge engine [Электронный ресурс] / Режим доступа: (<http://www.wolframalpha.com>). Проверено 10.01.2013.
46. Юсупов Р.А., Абзалов Р.Ф., Мовчан Н.И., Сопин В.Ф. Программное обеспечение в аналитической химии. Ч.I. Алгоритм экспертной системы оценок измерений в аналитических методах. Химия и компьютерное моделирование [Электронный ресурс] // Бутлеровские сообщения. – 1999. – № 2. Режим доступа: (http://chem.kstu.ru/butlerov_comm/vol1/cda1/data/jchem&cs/russian/n2/ex1v1/refv1.htm#1). Проверено 10.08.2012.
47. Gray N. A. B. Applications of artificial intelligence for organic chemistry: Analysis of C-13 spectra// Artificial Intelligence. – 1984. – V. 22. – № 1. – P. 1-21.
48. Homo&Pro Robotics [Электронный ресурс] / Режим доступа: (<http://www.homerobotics.ru/index.asp>). Проверено 10.01.2011.
49. Molnár-Institute for applied chromatography [Электронный ресурс] / Режим доступа : (<http://www.molnar-institute.com>). Проверено 10.01.2013.
50. Molnár I. , Rieger H.-J., Monks K.E. Aspects of the “Design Space” in High Pressure Liquid Chromatography Method Development// J. Chromatogr. A – 2010. – № 1217. – P. 3193-3200.
51. McLaughlin K., Krisko R.M., Koenigbauer M.J., Lunte C.E. Application of a column selection system and DryLab software for high-performance liquid chromatography method development// J.Chromatogr. A. 2006. № 1122. P. 186-193.
52. Hoang T.H., Cuerrier D., McClintock S., Di Maso M. Computer-Assisted Method Development and Optimization in High-Performance Liquid Chromatography// J. Chromatogr. A. – 2003. – № 991. – P. 281.
53. ChromSword [Электронный ресурс] / Режим доступа : (<http://www.chromsword.com>). Проверено 10.01.2012.

54. Hewitt E.F., Lukulay P. Implementation of a rapid and automated high performance liquid chromatography method development strategy for pharmaceutical drug candidates / E.F. Hewitt, // Journal of Chromatography A. – 2006. – № 1107. – P. 79-87.
55. Kang Ping Xiao, Yuan Xiong, Fang Zhu Liu, Rustum Abu M. Efficient method development strategy for challenging separation of pharmaceutical molecules using advanced chromatographic technologies// Journal of Chromatography A. – 2007. – № 1163. – P. 145-156.
56. ChromMerge [Электронный ресурс] / Режим доступа: (<http://www.chrommerge.com>). Проверено 10.01.2012.
57. HPLC ColumnManager [Электронный ресурс] / Режим доступа : (http://www.limathon.com/ADSL_Colman/Column%20Manager.HTM). Проверено 10.01.2012.
58. Рудаков, О.Б. Спутник хроматографа. Методы жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков, И.А. Востров, С.В. Федоров, А.А. Филиппов, В.Ф. Селеменев, А.А. Приданцев – Воронеж: Водолей, 2004. – 528 с.
59. Краснов А.Е., Воробьева А.В., Кузнецова Ю.Г., Красников С.А., Краснова Н.А., Анискин Д.Ю. Основы спектральной компьютерной квалитметрии жидких сред. – М.: Юриспруденция, 2006. – 264 с.
60. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons [Электронный ресурс] / Режим доступа: (http://www.medicinescomplete.com/mc/marketing/current/pdfs/MC_clarke.pdf). Проверено 10.01.2012.
61. AHFS Drug Information [Электронный ресурс] / Режим доступа: (http://www.medicinescomplete.com/mc/marketing/current/pdfs/MC_ahfs.pdf). Проверено 10.01.2012.
62. Stability-Indicating HPLC An Methods for Drug Analysis [Электронный ресурс] / Режим доступа: (http://www.medicinescomplete.com/mc/marketing/current/pdfs/MC_hplc.pdf). Проверено 10.01.2012.
63. Колотилина Н.К., Полынцева Е.А., Долгоносков А.М. Методология ионохроматографического анализа сложных смесей с применением математического моделирования// Сорбционные и хроматографические процессы. – 2009. – Т. 9. – № 6. – С. 755-765.

64. Долгоносов А.М., Прудковский А.Г. Программа адекватного моделирования IONCHROM – эффективное средство решения практических задач ионной хроматографии// Журнал аналитич. химии. – 2002. – Т. 57. – № 12. – С. 1276-1280.
65. Ивашкин, Ю. А., Никитина М. А. Экспертная система проектирования и оптимизации состава многокомпонентных продуктов питания с заданными свойствами / Ю. А. Ивашкин, // Труды Четвертого международного симпозиума «Интеллектуальные системы – ИНТЕЛС'2000». – М.: 2000. – С. 264-266.
66. Ивашкин Ю. А., Никитина М. А., Юдина С. Б. Информационные технологии проектирования и оценки качества пищевых продуктов направленного действия // Мясная индустрия. – 2000. – № 5. – С. 40-41.
67. Ивашкин Ю.А. Компьютерные технологии оптимальных решений в переработке биосырья// Докл. 3-й Междунар. научно-технической конференции «Пища. Экология. Человек». – М.: 1999. – С. 99-105.
68. Краснов А.Е., Красуля О.Н., Большаков О.В. Информационные технологии пищевых производств в условиях неопределенности. – М.: ВНИИМП, 2001. – 496 с.
69. Ахназарова С.Л. , Кафаров В.В. Методы оптимизации эксперимента в химической технологии.– М.: Высшая школа. – 1985. – 327 с.
70. Курицкий Б.Я. Поиск оптимальных решений средствами Excel 7.0. – СПб. : BHV-Санкт-Петербург, 1997.
71. Harington E.C. The desirability function// Industrial Quality Control. – 1965. – V. 21. – № 10. – P.494-498.
72. Алексеев Р.И., Коровин Ю.И. Руководство по вычислению и обработке результатов количественного анализа. – М. : Атомиздат, 1972. – С. 311.
73. Евланов Л.Г. , Кутузов В.А. Экспертные оценки в управлении / Л.Г. Евланов,– М.: Экономика, 1978. – 133 с.
74. Рудаков О.Б., Селеменев В.Ф., Рудакова Л.В. Количественные критерии выбора оптимальных растворителей для ВЭЖХ// Теория и практика сорбционных процессов. – 1998. – Вып. 23. – С. 251-258.

75. Баркалов С.А. , Курочка П.Н., Суровцев И.С., Половинкина А.И. Системный анализ и принятие решений. – Воронеж: [б.и.], 2010. – 652 с.
76. Баркалов, С.А., В.Н. Бурков, П.Н. Курочка и др. Системный анализ и его приложения. – Воронеж: Научная книга, 2008. – 287 с.
77. Лapidус В.А., Розно М.И., Глазунов А.В. и др. Статистический контроль качества продукции на основе принципа распределения приоритетов. – М.: Финансы и статистика, 1991. – 224 с.
78. Шаевич А.Б. Аналитическая служба как система. – М.: Химия, 1981. – 264 с.
79. Боровиков В.П. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. – С.-Пб. : Питер, 2001. – 656 с.
80. Боровиков В.П., Боровиков И.П. Statistica. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. – М. : Информационно-издательский дом "Филинъ", 1997. – 608 с.
81. Боровиков В.П. Популярное введение в программу Statistica. – М. : КомпьютерПресс, 1998. – 267 с.
82. Паринов Д.Б. Разработка способов контроля качества спредов на основе компьютерных технологий. Спец. 05.18.04. : дисс. ... канд. техн. наук. – Воронеж, 2009. – 162 с.
83. StatSoft Russia – Статистическое ПО [Электронный ресурс] / Режим доступа : (<http://www.statsoft.ru/home/default.htm>). Проверено 10.01.2012.
84. Шараф М.А., Иллман Д.Л., Ковальски Б.Р. Хемометрика / М.А. Шараф, – Л.: Химия, 1989. – 272 с.
85. Эсбенсен, К. Анализ многомерных данных. Избранные главы/ под ред. О.Е. Родионовой. – Барнаул: Изд-во Алт. Ун-та, 2003. – 157 с.
86. Калач А.В., Зяблов А.Н., Селеменев В.Ф. Введение в сенсорный анализ. – Воронеж: Науч. книга, 2007. – 164 с.
87. Отто М. Современные методы аналитической химии (в 2-х томах). Том II. – М. : Техносфера, 2004. – 288 с.
88. Шапошник А. В. Селективное определение газов полупроводниковыми сенсорами: дис. ... д-ра хим. наук. – Воронеж : [б. и.], 2005. – 280 с.
89. Кучменко Т.А. Метод пьезокварцевого микровзвешивания в газовом органическом анализе: дис. ... д-ра хим. наук /. – Воронеж, 2003. – 475 с.

90. The home of the Electronic Media Group at the Institute of Chemical Technologies and Analytics Vienna University of Technology, Austria [Электронный ресурс]/ Режим доступа: (http://www.vias.org/tmdatanaleng/ss_psa_appl.html). Проверено 10.01.2012.
91. Родионова О.Е., Померанцев А.Л. Проекционные методы в системе Excel. Российское хеометрическое общество [Электронный ресурс]. – Режим доступа: (<http://www.chemometrics.ru/materials/textbooks/projection.htm#Ch1>). Проверено 10.01.2011.
92. Мандель, И.Д. Кластерный анализ. – М.: Финансы и статистика, 1988. – 176 с.
93. Дюк В.А. Информационные технологии в медико-биологических исследованиях. – СПб.: Питер, 2003. – 528 с.
94. Факторный, дискриминантный и кластерный анализ: Пер с англ. / Дж. – О. Ким, Ч.У. Мьюллер, У.Р. Клекка и др.; под ред. И.С. Енюкова. – М. : Финансы и статистика, 1989. – 215с.
95. Жамбю, М. Иерархический кластер-анализ и соответствия. – М.: Финансы и статистика, 1988. – 342 с.
96. Айвазян, С. А., Бухштабер В. М., Енюков И. С., Мешалкин Л. Д. Прикладная статистика. Классификация и снижение размерности. – М.: Финансы и статистика, 1989. – 607 с.
97. Jolliffe I.T. Principal Component Analysis, Series: Springer Series in Statistics. – 2nd ed. – Springer: NY, 2002. – XXIX. – 487 p.
98. Oliveira E.J., Alvarez E.D.A., Lima N.G.P.B., Macedo R.O. Usefulness of pyrolysis coupled to gas chromatography/mass spectrometry for evaluating the reproducibility of commercial samples of *Cymbopogon citratus* Stapf., Poaceae// Revista Brasileira de Farmacognosia. – 2010. – V. 20. – № 1. – P. 93-99.
99. Компьютеризация лабораторных исследований [Электронный ресурс] / Режим доступа : (<http://www.qcontrol.ru/>). Проверено 10.01.2012.
100. Криштал М. Сканирующая электронная микроскопия и рентгеноспектральный микроанализ. – М.: Техносфера, 2009. – 208 с.
101. Кларк Э.Р., Эберхардт К. Н. Микроскопические методы исследования материалов. – М.: Техносфера, 2007. – 371 с.

102. Иванов В.М., Кузнецова О.В. Химическая цветометрия: возможности метода, области применения и перспективы// Успехи химии. – 2001. – Т. 70. – № 5. – С. 411-428.
103. Большая Российская энциклопедия: в 30 т. – М. : Больш. Росс. энцикл., 2006. – Т. 5. – 671 с.
104. Кириллов Е.А. Цветоведение. – Л. : Легпромбытиздат, 1987. – 128 с.
105. Джадд Д. , Вышецки Г.М. Цвет в науке и технике.– М: Мир, 1978. – 592 с.
106. Шлифт Г.Ю. Цифровая обработка изображений. – М.: Эком., 1997. – 339 с.
107. Иванов В.М., Кузнецова О.В., Гринева О.В. Сорбционное концентрирование кобальта и палладия и их отдельное определение в фазе сорбента методами цветометрии и спектроскопии диффузного отражения// Журн. анал. химии. – 1999. – Т. 54, № 3. – С. 263-267.
108. Иванов В.М., Кузнецова О.В. Раздельное определение 4-(2-тиазолилазо) резорцинатов никеля, цинка и кобальта в фазе сорбента методом цветометрии// Журн. анал. химии. – 2000. – Т. 55, № 9. – С. 998-1003.
109. Егоров, В.М. Ионные жидкости для экстракции и создания химических сенсоров : автореф. дис. ...канд. хим. наук. – Москва, 2008. – 26 с.
110. Шишкин, Ю.Л. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений для количественное определения сорбированных веществ// Журн. анал. химии. – 2004. – Т. 59, № 2. – С. 119-124.
111. Кузьмина Е.В. Сорбционно-спектроскопическое определение анилина и 1-нафтиламина с применением пенополиуретанов : автореф. дис. ...канд. хим. наук. – Москва, 2009. – 18 с.
112. Апяри В.В., Дмитриенко Г. С. Применение цифрового фотоаппарата и компьютерной обработки данных для определения органических веществ с использованием диазотированного пенополиуретана// Журн. аналитич. химии. – 2008. – Т. 63, № 6. – С. 581-588.
113. Иванов, В.М., Кочелаева Г.А. Пирокатехиновый фиолетовый в спектрофото-метрических и новых оптических методах// Успехи химии. – 2006. – Т. 75, № 3. – С. 283-295.

114. Саввин С.Б. Оптические химические сенсоры (микро- и наносистемы) для анализа жидкостей// Российский химический журнал. – 2008. – Т. LII. – № 2. – С. 7-15.
115. Герасимов А.В. Метод определения цветовых параметров растительного сырья при получении пищевых красителей/ Химия растительного сырья. – 2000. – № 4. – С. 81-83.
116. Кулешова, М.И., Гусева Л.Н., Сивицкая О.К. Пособие по качественному анализу лекарств. – М.: Медицина, 1980. – 208 с.
117. Хрипушин В.В., Комарова Е.В., Полянский К.К., Рудаков О.Б. Новый метод исследования сохранности продукции// Молочная промышленность. – 2008. – № 10. – С. 59-60.
118. Вахлевский С.В. Цветометрия в анализе коньячных изделий// Вест. Красноярск. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2006. – № 2. – С. 27-32.
119. Antonelli A. Automated evaluation of food colour by means of multivariate image analysis coupled to a wavelet-based classification algorithm// Analytica Chimica Acta. – 2004. – P. 3–13.
120. Леви Й. Индикатор свежести продуктов// Масла и жиры. – 2008.– № 1. – С. 12-13.
121. Зяблов А.Н., Жиброва Ю.А., Селеменев В.Ф. Цифровая обработка изображений. Достоинства и недостатки// Сорбц. и хроматограф. процессы. – 2006. – Т. 6, Вып. 6. – С. 1424 – 1429.
122. Пантелеев, В.Г. Компьютерная микроскопия. – М.: Техносфера, 2005. – 304 с.
123. Краски, покрытия и растворители / Д. Стойе, В. Фрейтаг (ред.). – СПб.: Профессия, 2007. – 528 с.
124. Дьяконов В. П. MATLAB 6/6.1/6.5 + Simulink 4/5. Обработка сигналов и изображений. – М.: Солон-Пресс, 2005. – 592 с.
125. Дьяконов В.П. Энциклопедия Mathcad 2001. Библиотека профессионала. – М.: Солон-Пресс, 2004. – 832 с.
126. Золотов Ю.А. Химические сенсоры// Журн. аналитич. химии. – 1990. – Т. 43, № 7. – С. 1255-1258.
127. Каттралл Р. Химические сенсоры. – М: Научный мир, 2000. – 144 с.
128. Будников Г.К. Что такое химические сенсоры// Соросовский образоват. журн. – 1998. – № 3. – С. 72-76.
129. Ермолаева Т.Н., Калмыкова Е.Н. Пьезокварцевые иммуносенсоры. Аналитические возможности// Успехи химии. – 2006. – Т. 75, № 5. – С. 445-459.

130. Ганшин В.М., Чебышев А.В., Фесенко А.В. От обонятельных моделей к «электронному носу». Новые возможности параллельной аналитики// Специальная техника. – 1999. – № 1-2. – С. 195.
131. Долгополов Н.В. «Электронный нос» – новое направление индустрии безопасности// Мир и безопасность. – 2004. – № 4. – С. 54-59.
132. Власов Ю.Г., Легин А.В., Рудницкая А.М. Мультисенсорные системы типа электронный язык – новые возможности создания и применения химических сенсоров// Успехи химии. – 2006. – Т. 75, № 2. – С. 141-150.
133. Фармацевтический анализ (Серия «Проблемы аналитической химии)/ Под ред. Г.К. Будникова и С.Ю. Гармонова. – М.: Аргатакс-Медиа, 2013. – 778 с.
134. Калач, А.В. Мультисенсорные системы «электронный нос» и «электронный язык». Устройство, принцип функционирования и применение в анализе. – Воронеж: ВИ МВД России, 2006. – 134 с.
135. Калач А.В., Коренман Я.И., Нифталиев С.И. Искусственные нейронные сети – вчера, сегодня, завтра. – Воронеж: ВГТА, 2002. – 191 с.
136. Craven, M.A., Gardner J.W., Bartlett P.N. Electronic noses – development and future prospects// Trends in analytical chemistry. – 1996. – V. 15, № 9. – P.486 – 493.
137. Коренман Я.И., Кучменко Т.А. Подходы к анализу пищевых продуктов. Разработка масс-чувствительных сенсоров// Журн. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева. – 2002. – Т. XLVI, № 4. – С. 34-42.
138. Lavigne J.J. Solution-Based Analysis of Multiple Analytes by a Sensor Array: Toward the Development of an “Electronic Tongue”// J. Am. Chem. Soc. – 1998. – P. 6429-6430.
139. Будников Г.К. Биосенсоры как новый тип аналитических устройств//Соросовский образоват. журн.– 1996. – № 12. – С. 26-32.
140. Досон Р. Справочник биохимика. – М.: Мир, 1991. – С. 544.
141. Селеменев В.Ф., Рудаков О.Б., Славинская Г.В., Дроздова Н.В. Пигменты пищевых производств (меланоидины). – М.: ДеЛи принт, 2008. – 246 с.
142. Машковский, М.Д. Лекарственные средства. – в 2-х т. – 13-е изд., – Харьков: Торсинг, 1998. – Т. 2. – 592 с.

143. Рудаков О.Б., Пономарев А.Н., Полянский К.К., Любарь А.В. Жиры. Химический состав и экспертиза качества. – М.: ДелиПринт, 2005. – 312 с.
144. Эмме Ф. Диэлектрические измерения. – М.: Химия, 1967. – 223 с.
145. Рудаков О.Б., Соколов М.И., Рудакова Л.В. Плотность бинарных подвижных фаз// Журн. физич. химии. – 1999. – Т. 73, № 7. – С. 1303-1306.
146. Рудаков О.Б., Соколов М.И., Селеменев В.Ф. Вязкость бинарных подвижных фаз для высокоэффективной жидкостной хроматографии //Журн. физич. химии. – 1999. – Т. 73, № 9. – С. 1641-1644.
147. Рудаков, О.Б., Селеменев В.Ф. Показатель преломления бинарных подвижных фаз для высокоэффективной жидкостной хроматографии// Журн. физич. химии. – 1999. – Т. 73, № 12. – С. 2242-2245.
148. Фролов Ю.Г. Гродский А.С., Назаров В.В. Лабораторные работы и задачи по коллоидной химии. – М.: Химия, 1985. – 216 с.
149. Хрипушин В.В., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б., Байдичева О.В. Цветометрические методики определения цветного числа растительных масел / Хрипушин В.В.// Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2008. №5. – С. 9-12.
150. Петров М.Н. Photoshop 7. Для профессионалов. – СПб.: Питер, 2004. 880 с.
151. Рошаль Е.Р. Определение аминокислот в виде комплексов с медью// Химико-фармацевтич. журнал. – 1988. – № 6. – С. 30.
152. Климин О.А., Черкасова Т.А., Лейкин Ю.А. Определение взаимосвязи рН среды с оттенками цвета твердофазного индикатора// Сорбционные и хроматографич. процессы. – 2012 – V.12, № 5. – С. 746-751.
153. Cam2Com – Digital Camera Control Software (<http://sabsik.com/Cam2Com/>). Проверено 12.01.2012.
154. Ферапонтов Н. Б., Ковалева С.С., Рубин Ф.Ф. Определение природы и концентрации растворенных веществ методом набухающей гранулы// Журн. аналитич. химии. – 2007. – Т. 62, № 10. – С. 1028-1033.
155. Харламова О.А., Кафка Б.В. Натуральные пищевые красители. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 191 с.
156. Клиническое руководство по лабораторным тестам / под ред. Н. Тица. – М.: Юнимед-пресс, 2003. – 942 с.

157. ГОСТ Р 52179-2003. Маргарины, жиры для кулинарии, кондитерской, хлебопекарной и молочной промышленности. Правила приемки и методы контроля. – Введ. 2005-01-01. – М.: Изд-во стандартов, 2003. – 39 с.
158. Таубе, П.Р. Практикум по химии воды / П.Р. Таубе, А.Г. Баранова. – М.: Высш. Школа, 1971. – 128 с.
159. ГОСТ 12789-87. Пиво. Методы определения цвета. – Введ. 1989-01-01. – М.: Изд-во стандартов, 2003. – 12 с.
160. Excel Solver Optimization Software, Monte Carlo Simulation – Frontline Systems [Электронный ресурс] / Режим доступа: (<http://www.solver.com/>). Проверено 10.01.2013.
161. Кузьмин В. Microsoft Office Excel 2003. Учебный курс. – С.-Пб.: Питер, 2004. – 492 с.
162. Персон Р. Microsoft Excel 97 в подлиннике. – С.-Пб.: ВHV – Санкт-Петербург, 1997. – Т. 1, 2. – 1312 с.
163. Куправа Т.А. Excel. Практическое руководство. М.: Диалог – МИФИ, 2003. – 240 с.
164. Долженков В.А. Стученков А.Б. Microsoft Office Excel 2010. Наиболее полное руководство. – С.-Пб.: ВHV – Санкт-Петербург, 2011. – 816 с.
165. Рудакова Л.В. Развитие и востребованность аналитических методов в контроле фармацевтической продукции// Мат. I Всерос. конф. «Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции». – Москва, 2009. – С. 120-121.
166. Гос. Фармакопея СССР, 10 изд. М.: Медицина, 1968. – 1081 с.
167. Гос. Фармакопея СССР. Изд.11. Вып. 1. М.: Медицина, 1987. – 337 с.
168. Государственная Фармакопея СССР. Изд.11 Вып. 2. М.: Медицина, 1990. – 385 с.
169. XII Гос. Фармакопея РФ. Ч.1. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения. – 2008. – 704 с.
170. The International Pharmacopoeia. 4-th ed. Vol.1-2. WHO. Geneva, 2006. – 1499 p.
171. European Pharmacopoeia 6.0. Strasbourg, France 2007...2009. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. 4403 p.
172. Deutsches Arzneibuch. 10 Ausgabe (DAB 10). Deutsche Apotheker Verlag. Berlin, 1991. – 1050 s.

173. Державна Фармакопея України. Вид. 1-е, 2001. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 532 с.
174. The British Pharmacopoeia 2009. – London: TSO. V. I, II, III, IV. – 10952 p.
175. Рудаков О.Б., Селеменев В.Ф. Физико-химические системы сорбат – сорбент – элюент в жидкостной хроматографии. – Воронеж: Изд-во ВорГУ, 2003. – 300 с.
176. Рудаков, О.Б. Растворитель как средство управления процессом в жидкостной хроматографии. – Воронеж: Изд-во ВорГУ, 2003. – 300 с.
177. Рудаков О.Б., Хрипушин В.В., Селеменев В.Ф., Коновалов В.В., Рудакова Л.В., Бочарова О.Н. Рейтинг растворителей для микроколоночной ВЭЖХ// Теория и практика сорбционных процессов. – Воронеж: ВГУ, 1999. – Вып. 24. – С. 45-47.
178. Рудаков О.Б., Хрипушин В.В., Селеменев В.Ф., Бочарова О.Н., Рудакова Л.В., Дроздова Н.В. Рейтинг растворителей для ВЭЖХ с рефрактометрическим детектированием// Теория и практика сорбционных процессов. – Воронеж: ВГУ, 1998. – Вып. 24. – С. 82-85.
179. Рудаков, О.Б., Хрипушин В.В., Бочарова О.Н., Селеменев В.Ф. Рейтинг бинарных подвижных фаз для ВЭЖХ// Тез. Докл. Всерос. Симп. по химии поверхности, адсорбции и хроматографии. – Москва, 1999. – С. 115.
180. Рудакова Л.В., Подолина Е.А., Рудаков О.Б. Рейтинг растворителей для экстракционно-инструментальных методик определения фенола// Сорбционные и хроматографические процессы, 2009. – № 2. – С. 177-190.
181. Хорохордина, Е.А., Подолина Е.А., Рудаков О.Б. Рейтинг растворителей для экстракционной пробоподготовки в методиках определения фенолов методом ВЭЖХ [Электронный ресурс] // Итоги 64-й Всерос. НПК «Инновации в сфере науки, образования и высоких технологий» – Воронеж, 2009. CD-ROM.
182. Рудаков О.Б., Болотов В.М., Перикова Л.И., Коновалов В.В., Селеменев В.Ф. Рейтинг растворителей для экстракции каротиноидов из растительного сырья// Мат. докл. IX регион. конф. «Проблемы химии и химической технологии» – Тамбов. ТГУ, 2001. – С 155-158.

183. Подолина Е.А. Экстракционная способность смешанных растворителей: применение в анализе производных фенола. – Воронеж: ВГАСУ, 2011. – 165 с.
184. Рудаков О.Б., Беляев Д.С., Паринов Д.Б., Рудакова Л.В. Обобщенный критерий химической и пожарной безопасности сольвентов// Пожарная безопасность. – 2005. – № 6. – С. 81-85.
185. Рудаков О.Б., Беляев Д.С., Хорохордина Е.А., Никулина Т.Д. Обобщенный критерий экологической и пожарной безопасности сольвентов для лаков и красок// Мат. X академ. чтений РААСН «Достижения, проблемы и перспективные направления развития теории и практики строительного материаловедения». – Пенза-Казань, 2006. – С. 348-351.
186. Рудаков О.Б., Подолина Е.А., Хорохордина Е.А., Рудакова Л.В. Жидкостная экстракция и инструментальные методы контроля фенольных антиоксидантов// Тез. докл. XVIII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. – М.: Граница. – 2007. – Т. 4. – С. 208.
187. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В. Современные методы контроля качества растительного сырья// Мат. IV Всеросс. конф. «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». – Барнаул: Изд-во АГУ. – 2009. – С.172-173.
188. Подолина Е.А., Рудаков О.Б., Фан Винь Тхинь, Рудакова Л.В. Низкотемпературная жидкостная экстракция как метод пробоподготовки образцов фенола для обращенно-фазовой ВЭЖХ// Журнал аналит. химии. – 2010. – Т. 65, № 2. – С. 121-123.
189. Рудаков О.Б., Фан Винь Тхинь, Подолина Е.А., Рудакова Л.В. Применение гидрофильных экстрагентов для анализа фенольных экотоксикантов методом ВЭЖХ / О.Б. Рудаков, // Тез. докл. VII Всеросс. конф. по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2009». – Йошкар-Ола: МарГУ. – 2009. – С. 184.
190. Подолина, Е.А., Рудаков О.Б., Селеменев В.Ф., Рудакова Л.В. Информационно-поисковая система для экстракционно-инструментальных методов определения фенолов// Мат. Съезда аналитиков «Аналитическая химия – новые методы и возможности». – М, 2010. – С. 227-228.
191. Рудаков, О.Б., Черепяхин А.М., Подолина Е.А. Пожарная опасность смешанных растворителей для лаков и красок// Инженерные системы и сооружения. 2010. – № 1. – С. 257-263.

192. Коренман, Я.И. Экстракция фенолов. – Горький: Волго-Вятское изд-во, 1973. – 216 с.
193. Коренман Я.И. Коэффициенты распределения органических соединений. Справ. – Воронеж: ВорГУ, 1992. – 336 с.
194. Суханов, П.Т. Концентрирование и определение фенолов / П.Т. Суханов, Я.И. Коренман. – Воронеж: ВорГТА, 2005. – 260 с.
195. Коренман Я.И., Ермолаева Т.Н., Подолина Е.А. Извлечение фенола и его гомологов бинарными смесями кетонов из водных растворов// Журн. прикладной химии. – 1993. – Т. 66, Вып.10. – С. 2300-2304.
196. Рудаков О.Б., Подолина Е.А., Хорохордина Е.А., Харитонов Л.А. Влияние состава бинарных растворителей на экстракцию фенолов из водных сред// Журн. физич. химии. – 2007. – Т. 81, № 12. – С. 2278-2283.
197. Рудаков О.Б., Селеменев В.Ф., Рудакова Л.В. Количественные критерии выбора оптимальных растворителей для ВЭЖХ// Теория и практика сорбционных процессов. – Воронеж: ВГУ. – 1998. – Вып. 23. – С. 251-258.
198. Рудаков О.Б., Чистовская О.А., Ушкалова М.Л. ВЭЖХ цветообразующих голубых компонентов из ряда производных амидов 1-гидрокси-2-нафтойной кислоты// Журн. аналитич. хим. – 1995. – Т. 50. – № 3. – С. 277-282.
199. Рудаков О.Б., Селеменев В.Ф., Рудакова Л.В. Неаддитивность объемных свойств бинарных подвижных фаз для высокоэффективной жидкостной хроматографии// Труды VI региональной конф. "Проблемы химии и химической технологии". – Воронеж, 1998. – Т. 1. – С. 33-37.
200. Рудаков О.Б., Хрипушин В.В., Бочарова О.Н., Рудакова Л.В. Оптические свойства бинарных подвижных фаз как составляющие целевые функции при оптимизации условий высокоэффективной жидкостной хроматографии гидрофобных соединений фенольного типа// Журн. аналитич. химии. – 2001. – Т.56, № 1. – С. 44-51.
201. Рудаков, О.Б., Седишев И.П., Рудакова Л.В. Элюирующая способность бинарных подвижных фаз в нормально-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии// Конденсированные среды и межфазные границы. – 2003. – Т. 5, № 3. – С. 311-317.

202. Рудаков О.Б., Селеменев В.Ф., Соколов М.И., Рудакова Л.В. Тетрагидрофуран – универсальный растворитель для жидкостной хроматографии// Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2003. – № 2. – С. 56-65.
203. Рудаков О.Б., Селеменев В.Ф., Рудакова Л.В. Изотермы и изобары хроматографических свойств типичных бинарных подвижных фаз для ВЭЖХ// Мат. Всеросс. Конф. «Теория и практика хроматографии. Применение в нефтехимии». Самара, 2005. – С. 105.
204. Rudakov O.B., Selemeney V.F., Rudakova L.V. Expert system for liquid chromatography on the basis of physical-chemical properties of mobile phase// Book of Abstracts Intern. Congress on Anal. Sciences, ICAS-2006. – Moscow, 2006. – V.I. – P. 217.
205. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Подолина Е.А., Барсукова Л.Г. Изотермы коэффициентов проницаемости бинарных подвижных фаз для жидкостной хроматографии// Журн. Физич. Химии. – 2009. – Т. 83, №11. – С. 2165-2168.
206. Кривнева, Г.Г., Рудакова Л.В., Ковальчук А.С., Рудаков О.Б. Плотность бинарных смесей гексан – эфир// Научный вестник ВГАСУ. Серия: Физико-химические проблемы строительного материаловедения. – Вып. 2. – 2009. – С. 97-102.
207. Рудаков О.Б., Кривнева Г.Г., Рудакова Л.В. Изотермы показателя преломления бинарных растворителей для нормально-фазовой жидкостной хроматографии// Конденсированные среды и межфазные границы. – Т. 11, № 2. – 2009. – С. 141-146.
208. Рудакова Л.В., Барсукова Л.Г., Кривнева Г.Г., Рудаков О.Б. Влияние температуры на показатель преломления бинарных подвижных фаз для жидкостной хроматографии// Мат. V Всерос. конф. «Физико-хим. процессы в конденсир. средах и на межфазных границах. Фагран-2010». – Воронеж: Научная книга. – 2010. – Т. 2. – С. 596-599.
209. Рудаков, О.Б., Черепяхин А.М., Исаев А.А., Рудакова Л.В., Калач А.В. Температура вспышки бинарных растворителей для жидкостной хроматографии// Конденсированные среды и межфазные границы. – 2011. – Т. 13, № 2. – С. 191-195.
210. Рудаков О.Б., Кривнева Г.Г., Рудакова Л.В. Изотермы плотности бинарных растворителей гексан – модификатор для жидкостной хроматографии// Журн. физич. химии. – 2010. – Т. 84, № 1. – С. 97-100.

211. Рудаков О.Б. Диэлектрическая проницаемость двух- и трехкомпонентных подвижных фаз, используемых в высокоэффективной хроматографии// Журн. физич. химии. – 1997. – Т. 71, № 2. – С. 2245-2248.
212. Рудаков, О.Б. Диэлектрическая проницаемость как мера полярности бинарных подвижных фаз, используемых в высокоэффективной жидкостной хроматографии// Журн. аналитич. химии. – 1998. – Т 53, № 9. – С. 952-957.
213. Рудаков, О.Б. Температура кипения бинарных подвижных фаз для высокоэффективной жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков, О.Н. Бочарова // Журнал физич. химии. – 2000. – Т. 74, № 6. – С. 1059-1064.
214. Рудаков, О.Б., Кудухова И.Г., Рудакова Л.В. Рефрактометрические свойства бинарных подвижных фаз для жидкостной хроматографии// Сорбционные и хроматографические процессы. – 2011. – Т. 11, № 3. – С. 357-366.
215. Рудаков О.Б. Влияние состава на элюирующую способность бинарных подвижных фаз в нормально-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии// Журн. физич. хим. – 2003. – Т. 77, № 12. – С. 2230-2235.
216. Рудаков О.Б., Беляев Д.С., Хорохордина Е.А., Подолина Е.А. Поверхностное натяжение бинарных подвижных фаз для жидкостной хроматографии// Журн. физич. химии. – Т. 81, № 3. – 2007. – С. 438-431.
217. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Грошев Е.Н. Элюирующая способность подвижных фаз в обращенно-фазовой ВЭЖХ и удерживание фенольных соединений// Сорбционные и хроматограф. процессы. – 2011. – Т. 11, № 5. – С. 633-640.
218. Vidal M. Binary mixture flammability characteristics for hazard assessment. PhD Diss. Texas A&M University. 2005. 86 p.
219. Фиалков, Ю.Я. Растворитель как средство управления химическим процессом. – Л.: Химия, 1990. – 240 с.
220. Рудаков О.Б., Калач А.В., Черепяхин А.М., Исаев А.А. Пожарная опасность бинарных органических растворителей для жидкостной хроматографии// Пожаровзрывобезопасность. – 2011. – Т. 20, № 8. – С. 9-12.
221. Крестов Г.А., Афанасьев В.Н., Ефремова Л.С. Физико-химические свойства бинарных растворителей. – Л.: Химия, 1988. – 688 с.

222. Справочник химика. Том 3. / под ред. Никольского Б.П. – Л.: Химия, 1965. – 1008 с.
223. Перри Дж. Справочник химика-инженера. – Т.1. – Л.: Химия, 1969. – 640 с.
224. Ахадов Я.Ю. Диэлектрические свойства бинарных растворов. – М.: Химия, 1977. – 400 с.
225. Гордон, А., Форд Р. Спутник химика. Физико-химические свойства, методики, библиография. – М. : Мир, 1976. – 542 с.
226. Фиалков Ю.Я. Двойные жидкие системы. К.: Наук. думка, 1969. – 218 с.
227. Коновалов В.В. , Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Ультрафиолетовое поглощение бинарных подвижных фаз для ВЭЖХ// Тез. докл. Всерос. конф. " Химический анализ веществ и материалов". – М, 2000. – С. 289-290.
228. Openhaim G., Grushka E. Temperature-dependent refractive index issues using a UV–visible detector in high-performance liquid chromatography// Journal of Chromatography A. – 2002. – № 942. – Р. 63.
229. Садек П. Растворители для ВЭЖХ. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2006. – 704 с.
230. Бретшнайдер С. Свойства газов и жидкостей. Инженерные методы расчета. – М. : Химия, 1966. – 536 с.
231. Рудаков, О.Б., Алексеев С.Г., Бердникова Н.В., Калач А.В., Барбин Н.М. Пожаровзрывобезопасность хроматографической аналитической лаборатории / Рудаков О.Б.// Пожаровзрывобезопасность. – 2012. – № 1. – С. 57-60.
232. Рудаков, О.Б., Калач А.В., Бердникова Н.В. Пожарная опасность водорастворимых растворителей и их водных растворов// Пожаровзрывобезопасность. – 2011. – № 1. – С. 25-26.
233. Рудакова Л.В. Химический анализ биологически активных веществ на основе информационных технологий. Дисс. д-ра хим. наук. Воронеж, ВГУ, 2013. – 403 с.
234. Алексеев С.Г., Рудаков О.Б., Черепяхин А.М., Калач Е.В., Рудакова Л.В. Пожарная безопасность исследовательских лабораторий, применяющих жидкостную экстракцию и хроматографию// Сорбционные и хроматографические процессы. – 2012. – № 5. – С. 651-659.
235. Рудаков, О.Б., Рудакова Л.В. Обобщенные критерии элюирующей способности растворителей в высокоэффективной

- жидкостной хроматографии// Сорбционные и хроматографические процессы. – 2012. – № 2. – С. 231-239.
236. Рудаков, О.Б., Рудакова Л.В. Гидрофобно-гидрофильный баланс жидкостных хроматографических систем// Бутлеровские сообщения. – Т. 24, № 2. – 2011. – С. 22.
237. Рудаков, О.Б., Селеменев В.Ф., Сезин И.М., Аристов И.В., Данилова Е.В. Хемометрический подход в оценке элюирующей способности подвижных фаз в ВЭЖХ// Сорбционные и хроматографические процессы. – Т. 1, № 6. – 2001. – С. 1053.
238. Рудаков, О.Б., Седишев И.П. Обобщенный критерий полярности растворителей как средство управления хроматографическим процессом// Известия РАН. Серия химическая. – №1. – 2003. – С. 52.
239. Рудаков, О.Б., Рудакова Л.В., Грошев Е.Н. Элюирующая способность подвижных фаз в обращенно-фазовой ВЭЖХ и удерживание фенольных соединений// Сорбционные и хроматографические процессы. – Т. 11, № 5. – 2011. – С. 633.
240. Схунмакерс П. Оптимизация селективности в хроматографии. Схунмакерс. – М.: Мир, 1989. – 399 с.
241. Snyder L.R. Principles of adsorption chromatography New York: Dekker, 1968. – 419 p.
242. Hilderbrand J.H., Scott R.L. The solubility of non-electrolytes, New York: Dover, 1964. – 488 p.
243. Райхардт К. Растворители и эффекты среды в органической химии. – М.: Мир, 1991. – 763 с.
244. Рудаков О.Б. Высокоэффективная жидкостная хроматография фенолов в полярной подвижной фазе на аминопропильном силикагеле// Журнал физич. химии. – Т. 78, № 12. – 2004. – С. 2268.
245. Рудаков О.Б., Королькова Н.В., Полянский К.К., Котик О.В., Рудакова Л.В. Технохимический контроль жиров и жирозаменителей. – С.-П.: Лань, 2011. – 576 с.
246. Рудаков О.Б., Селеменев В.Ф., Баканов А.Г., Рудакова Л.В. Новые способы концентрирования и разделения нативных фосфолипидов из подсолнечного масла// Мат. II Междунар. симпозиума «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии». – Краснодар, 2005. – С. 75.

247. Калач А.В., Ковалева О.В., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Перспективы контроля качества растительных масел и жиров// Масла и жиры. – № 7. – 2007. – С. 20-22.
248. Рудаков О.Б. , Рудакова Л.В., Полянский К.К. Идентификация говяжьего жира// Масла и жиры. – № 8-9. – 2009. – С. 9-11.
249. Паринов, Д.Б., Рудакова Л.В., Полянский К.К., Рудаков О.Б. Компьютерная оптимизация рецептуры спредов с применением жира Эколакт 1403-34Н// Маслоделие и сыроделие. – № 1. – 2009. – С. 54-55.
250. Рудакова, Л.В., Фан Винь Тхинь, Подолина Е.А., Рудаков О.Б. Экстракционно-хроматографическое определение синэстрола в лекарственной форме// Сорбционные и хроматограф. процессы. – 2009. – № 1. – С. 126-130.
251. Рудаков, О.Б., Полянский К.К., Рудакова Л.В. Олестра – возможности и проблемы применения// Масла и жиры. – 2009. – № 7. – С. 12-13.
252. Грошев Е.Н., Кудухова И.Г., Бочарникова И.В., Рудакова Л.В. Контроль качества материалов по параметрам цветности// Мат. III Междунар. НПК «Пожарная безопасность: проблемы и перспективы» Ч.1. – Воронеж, 2012 – С. 447-451.
253. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Паринов Д.Б., Снегирев С.А., Полянский К.К. Экспертная система по оптимизации рецептуры спредов// Масла и жиры. – № 3. – 2009. – С. 20-24.
254. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Полянский К.К. Визуализации хроматографических данных с помощью лепестковых диаграмм// Масла и жиры. – 2009. – № 8-9. – С. 8-9.
255. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Полянский К.К. Современные методы контроля качества молочной продукции// Переработка молока. – № 9. – 2009. – С. 56-57.
256. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В. Визуализация и интерпретация хроматографических данных с помощью лепестковых диаграмм// Тез. Всеросс. конф. «Хроматография – народному хозяйству». – Дзержинск, 2010. – М.: Из-во Граница, 2010. – с. 42.
257. Боев А.И., Никитина С.Ю., Рудаков О.Б., Селеменев В.Ф., Рудакова Л.В., Коновалов В.В. Устройство для идентификации компонентов в сложных смесях. Патент РФ на изобретение № 2192636 от 10.11.2002. 6 с.

258. Никитина С.Ю., Никитин А.А., Селеменев В.Ф., Рудаков О.Б., Рудакова Л.В. Устройство для парофазного анализа твердой пробы. Патент РФ на изобретение №2339034 от 20.11.2008, 7 с.
259. Рудакова Л.В., Рудаков О.Б., Полянский К.К., Чиркин В.А. Контроль качества молока по аминокислотному составу// Переработка молока. – 2012. – № 10. – С. 52-53.
260. Томмэ М.Ф., Мартыненко Р.В. Аминокислотный состав кормов. – М.: Колос. – 1972. – 288 с.
261. Чиркин В.А., Шумский Н.И., Полянский К.К. Анализ качества молока по аминокислотному и витаминному составу// Молочная промышленность. – 2012. – № 4. – С. 45-46.
262. Золотов, Ю.А. Аналитические средства обнаружения заболеваний// Журн. аналитич. химии. – 2006. – Т. 61, № 5. – С. 453.
263. Вэндер Д.Ф., Голт Д.А. Секреты офтальмологии. – М.: Медпресс-информ, 2005. – 462 с.
264. Петрович Ю.А., Терехина Н.А. Биохимия слезы и ее изменение при патологии// Вопр. медицин. химии. – 1990. – № 3. – С. 13-18.
265. / Шабалин В.Н. Морфология жидких сред глаза. – М.: Медицина, 2004. – 244 с.
266. Мошетьова Л.К., Волков О.А. Современное представление о слезной жидкости, значение ее в диагностике// Русский медиц. журн. – 2004. – Т.5, № 4. – С. 138-139.
267. Ермакова Н.А. Диагностика острых нарушений кровообращения в сосудах сетчатки и зрительного нерва с помощью метода инфракрасной спектроскопии// Офтальмология. – 2007. – Т.4, № 2. – С 43.-51.
268. Полянская Н.К. Тактика и методы лечения больных тяжелыми деструктивными заболеваниями и травмами роговицы. Автореф. дисс. ... д.м.н. – Самара, 2008. – 44 с.
269. Шеуджен М.Б. Инфракрасная спектроскопия слезной жидкости при проникающих ранениях глазного яблока. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2009. – 106 с.
270. Полянский К.К., Байдичева О.В., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Контроль концентрации лизоцима с использованием ИК-спектроскопии// Мат. НПК «Актуальные проблемы развития технологии производства продуктов питания». – Воронеж.: ВГАУ, 2008. – С. 211-212.

271. Рудаков О.Б., Полянская Н.К., Байдичева О.В., Карпов С.И., Рудакова Л.В. ИК-спектроскопический контроль воспалительного процесса в роговице// Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2009. – № 1. – С. 36-41.
272. Полянская, Н.К., Рудаков О.Б., Рудакова Л.В. Спектрофотометрическая диагностика офтальмологических заболеваний// Мат. II Всеросс. конф. «Аналитика России 2007». – Краснодар, 2007. – С. 460.
273. Рудаков, О.Б., Полянская Н.К., Байдичева О.В., Селеменев В.Ф., Рудакова Л.В. Применение инфракрасной спектроскопии в контроле содержания белков в слезной жидкости и диагностике заболеваний роговицы// Журн. аналитич. химии. – 2009. – Т. 64, № 5. – С. 506-510.
274. Полянская Н.К., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Применение инфракрасной спектроскопии в контроле белков слезной жидкости// Мат. Всеросс. НМК «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ». Воронеж, 2007. – Ч. 1. – С. 280-281.
275. Байдичева О.В., Полянская Н.К., Рудакова Л.В., Селеменев В.Ф., Рудаков О.Б. Применение эффекта контракции гранул сульфокатионита для контроля содержания лизоцима в изотоническом растворе// Сорбц. и хроматограф. процессы – 2007. – Т. 7, Вып. 4. – С. 699-702.
276. Байдичева О.В., Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Хрипушин В.В. Контракция гранул катионита С 120 Е в H^+ -форме в водных растворах некоторых аминокислот и белка лизоцима// Мат. IV Всеросс. конф. «Физико-химич. процессы в конденсир. средах и на межфазных границах (Фагран 2008)». – Воронеж: Изд-во «Научная книга», 2008. – Т. 2 – С. 665-668.
277. Большая медицинская энциклопедия / Гл. ред. Б.В. Петровский. – 3-е изд. – М.: Изд. Сов. энцикл., 1980. – С. 105-106.
278. Чиргадзе Ю.Н. Инфракрасные спектры и структура полипептидов и белков. – М.: Наука, 1965. – 135 с.
279. Дехант И. Инфракрасная спектроскопия полимеров. – М.: Химия, 1976. – 471 с.
280. Углянская В.А., Селеменев В.Ф. Инфракрасная спектроскопия ионообменных материалов. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 1989. – 208 с.

281. Казицына, Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. – М.: Высш. школа, 1971. – 264 с.
282. Хрипушин В.В., Рудакова Л.В., Байдичева О.В., Рудаков О.Б. Определение цветности растительных масел с применением цифровой фотографии// Масложировая промышленность. – 2007. – № 2. – С. 14-18.
283. Байдичева О.В., Бочарникова И.В., Рудаков О.Б., Хрипушин В.В. Применение сканерметрии в контроле качества отделочных материалов// Научный вестник ВГАСУ. Серия: Физико-химические проблемы строительного материаловедения. – Вып. 1. – 2008. – С. 100-105.
284. Байдичева О.В., Хрипушин В.В., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Цветометрия – новый метод контроля качества пищевой продукции / О.В. Байдичева // Пищевая промышленность. – 2008. – № 5. – С. 20-22.
285. Ломова Т.С., Хрипушин В.В., Болотов В.М., Байдичева О.В., Рудаков О.Б. Цветометрическое количественное определение антоциановых пигментов в спиртовых и водных растворах// Пиво и напитки. – 2008. – № 1. – С. 42-44.
286. Байдичева О.В., Рудаков О.Б., Хрипушин В.В., Барсукова Л.Г. Определение цветности воды с использованием цифровых технологий// Безопасность жизнедеятельности. – 2009. – № 1. – С. 23-25.
287. Байдичева, О.В., Рудаков О.Б., Хрипушин В.В. Цифровой метод определения цвета пива// Пиво и напитки. – 2008. – № 6. – С. 44-45.
288. Дмитриенко С.Г., Апяри В.В. Пенополиуретаны. Сорбционные свойства и применение в химическом анализе. /. – М.: КРАСАНД, 2010. – 264 с.
289. Antonelli A. Automated evaluation of food colour by means of multivariate image analysis coupled to a wavelet-based classification algorithm// *Analytica Chimica Acta*. – 2004. – P. 3–13.
290. Soldat D.J., Barak Ph., Lepore B.J. Microscale Colorimetric Analysis Using a Desktop Scanner and Automated Digital Image Analysis // *J. Chem. Educ.* – 2009. – 86 (5). – P. 617.
291. Zhang, C., Bailey D.P., Suslick K.S. Colorimetric Sensor Arrays for the Analysis of Beers: A Feasibility Study// *J. Agric. Food Chem.* – 2006. – 54 (14). – P. 4925–4931.

292. Zhang, C., Bailey D.P., Suslick K.S. Colorimetric Sensor Array for Soft Drink Analysis // J. Agric. Food Chem. – 2007. – 55 (2). – P. 237–242.
293. Zhang, C., Suslick K.S. A Colorimetric Sensor Array for Organics in Water// J. Am. Chem. Soc. – 2005. – 127 (33). – P. 11548–11549.
294. Hirayama E., Sugiyama T., Hisamoto H., Suzuki K. Visual and Colorimetric Lithium Ion Sensing Based on Digital Color Analysis// Anal. Chem. – 2000. – 72 (3). – P. 465–474.
295. Рудакова, Л.В., Селеменев В.Ф., Кудухова И.Г., Рудаков О.Б. Цветометрический и спектрофотометрический анализ водных растворов аминокислот// Мат. Всеросс. конф. по аналитической спектроскопии. – Краснодар, 2012. – С. 236.
296. Хрипушин В.В., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Применение цифровых технологий для количественного контроля цветных реакций в химическом и фармацевтическом анализе// Тез. докл. XVIII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. – М.: Граница, 2007. – Т.4. – С.242.
297. Рудакова Л.В., Романова М.М., Хрипушин В.В., Рудаков О.Б. Анализ возможностей определения нитритов в моче классическим методом Грисса и с применением цифровых технологий// Системный анализ и управление в биомедицин. системах. – 2007. – Т. 6, № 4. – С. 1015-1019.
298. Рудакова, Л.В., Ветрова Е.Н., Терских А.П. Спектрофотометрическое и цветометрическое определение азота в моче// Мат. II международной научной конференции молодых учёных-медиков. – Курск, 2008. – С. 43-45.
299. Хрипушин, В.В., Рудакова Л.В., Дурицын Е.П., Рудаков О.Б. Сканерометрическое определение белизны лекарственных форм// Тез. Докл. II Международный форум «Аналитика и аналитики». – Воронеж: Из-во ВГТА, 2008. – Т. 1. – С. 116.
300. Байдичева О.В., Полянский К.К., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Определение концентрации аминокислот с использованием цифровых технологий// Мат. НПК «Актуальные проблемы развития технологии производства продуктов питания». – Воронеж: ВГАУ, 2008. – С. 206-207.
301. Рудаков О.Б., Хрипушин В.В., Рудакова Л.В. Цветометрия растительных масел//Масла и жиры. – 2008. – № 12. – С. 18-21.
302. Байдичева О.В., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Применение цифровых технологий в цветных тестах биологически активных

- веществ// Бутлеровские сообщения. – 2008. – Т. 13, № 2. – С. 50-61.
303. Головинский П.А., Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Кудухова И.Г. Распознавание фенолов по цветометрическим данным, представленным в виде лепестковых диаграмм// Мат. VI Всеросс. Конф. «Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах (Фагран-2012)». – Воронеж: Научная книга, 2012. – С. 310-311.
304. Рудакова, Л.В., Байдичева О.В., Ветрова Е.Н., Шведов Г.И. Цветометрический метод определения аминокислот в водных растворах «теория и практика фармации»// Сборник научных статей, посвященный 90-летию ВГМА им. Н.Н. Бурденко. – 2009. – С. 52-60.
305. Рудакова Л.В., Байдичева О.В., Хрипушин В.В., Рудаков О.Б. Применение цифровой цветометрии в экоаналитике и контроле качества и безопасности продукции// Тезисы докладов VII Всеросс. конф. по анализу объектов окружающей среды "Экоаналитика-2009". – Йошкар-Ола: Мар. гос. ун-т, 2009. – С. 184-185.
306. Рудаков, О.Б., Рудакова Л.В., Полянский К.К. Современные методы контроля качества молочной продукции// Переработка молока – 2009. – № 9. – С. 56-57.
307. Байдичева О.В., Рудакова Л.В., Хрипушин В.В., Рудаков О.Б. Контроль цветности жидких и твердых матриц методом цифровой цветометрии// Мат. III Всерос. конф. «Аналитика России». – Краснодар, 2009. – С. 217.
308. Рудакова Л.В., Байдичева О.В., Дурицын Е.П., Ветрова Е.Н. Анализ биологических жидкостей и фармпрепаратов цветометрическими методами// Мат. III Всерос. конф. «Аналитика России». – Краснодар, 2009. – С. 418.
309. Ветрова Е.Н., Илюшина Т.Н., Рудакова Л.В., Дурицын Е.П. Фотоколориметрическое определение лекарственных средств с использованием реактива Грисса-Илошвая// Мат. I Всерос. конф. «Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции». – Москва.: Из-во МИСиС, 2009. – С. 39-40.
310. Рудакова Л.В., Шведов Г.И., Илюшина Т.Н., Фисунова М.К., Тихонова О.С. Цифровая цветометрия в фармацевтическом анализе / Л.В. Рудакова, // Мат. I Всерос. Конф. «Современные

- методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции». – Москва.: Из-во МИСиС, 2009. – С. 116-117.
311. Рудакова Л.В., Дурицын Е.П., Смородникова О.А., Байдичева О.В. Сканерметрическая методика для определения белизны порошкообразных лекарственных средств// Мат. I Всерос. Конф. «Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции», – Москва.: Из-во МИСиС, 2009. – С. 118-119.
312. Байдичева О.В., Хрипушин В.В., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Цветометрическое количественное определение аминокислот и глицилглицина в водных растворах// Пищевая промышленность. – 2011. – № 10. – С. 26-28.
313. Рудакова, Л.В., Шведов Г.И., Ветрова Е.Н., Кудухова И.Г., Паршикова О.И. Цветометрический способ количественного определения лекарственных веществ в растворе с использованием цифровых технологий// Естественные и технические науки. Изд-во «Спутник+». Мат. II Международной научно-практической конференции «Современная медицина и фармацевтика: анализ и перспективы развития». – Москва, 2012. – С. 153-156.
314. Кудухова И.Г., Рудакова Л.В. Усовершенствование способа идентификации аминокислот по цветным реакциям с применением цифровых технологий// Мат. VI Всерос. конф. молодых учёных, аспирантов и студентов. «Менделеев-2012. Аналитическая химия». – СПб., 2012. – С. 170-172.
315. Рудакова, Л.В., Васильева А.П., Шведов Г.И., Поплавская Е.Д. Цифровые технологии для определения цветности и белизны лекарственных средств// Фармацевтические технологии и упаковка. – № 1. – 2012. – С. 38-40.
316. Рудакова, Л.В., Рудаков О.Б., Ветрова Е.Н. Цветометрический метод контроля качества воды// Мат. конф. «Методы анализа и контроля качества воды». – Москва: «Экватек», 2012. – С. 93.
317. Фомин Г.С. Вода. Контроль химической, бактериологической и радиационной безопасности по международным стандартам: энциклопед. справочник. – 3-е изд. – М.: Изд-во «Протектор», 2000. – 848 с.
318. Чарыков А.К. Математическая обработка результатов химического анализа. – Л.: Химия, 1984. – 168 с.

319. Багхи Д. Антианиогенные, антиоксидантные и антиканцерогенные свойства нового, богатого антоцианом препарата из экстракта ягод// Биохимия. – 2004. – Т. 69, Вып. 1. – С. 95-102.
320. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В. Фруктоза как эффективный подсластитель// Кондитерское и хлебопекарное производство. – 2008. – № 8. – С. 26-28.
321. Тагер А.А. Физико-химия полимеров. – М.: Химия, 1978. – 544 с.
322. Рудакова, Л.В., Ковалева С.С., Байдичева О.В., Рудаков О.Б. Возможности использования эффектов набухания сорбентов в фармацевтическом анализе в качестве аналитического сигнала// Мат. 3-й всеросс. научно-методич. конф. «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ». – Воронеж, 2007. – Часть I. – С. 299-300.
323. Rudakov O.B., Rudakova L.V., Ferapontov N.B., Kovaleva S.S. Application of effects of polymers swelling in creation of an artificial tongue// ISOEN 2007. 12 Intern. Symp. of Olfaction and Electronic Noses. Book of Abs. – St. Petersburg, 2007. – P. 117-118.
324. Рудакова Л.В., Байдичева О.В., Хрипушин В.В., Рудаков О.Б. Сканерметрическое и микрофотографическое измерение степени набухания сорбентов// Мат. Всерос. симп. «Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях». – М., 2007. – С. 102.
325. Ферапонтов Н.Б., Ковалева С.С., Рубин Ф.Ф., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Применение эффектов набухания сорбентов из полимеров в создании искусственного языка// Мат. Всероссийского симпозиума «Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях». – Москва, 2007. – С. 108.
326. Рудакова Л.В., Байдичева О.В., Рудаков О.Б. Гранулы сорбента как сенсоры искусственного языка// Мат. III Международ. конф. «Сорбенты – как фактор здоровья». – Белгород: Изд-во БелГУ, 2008. – С. 235-238.
327. Рудакова, Л.В., Байдичева О.В., Шведов Г.И., Дурицын Е.П. Микрофотографический метод регистрации контракции гранул сульфокатионитов для количественного определения аминокислот, белков и углеводов в растворах// «Теория и

- практика фармации». Сборник научных статей, посвященный 90-летию ВГМА им. Н.Н. Бурденко. – 2009. – С. 61-67.
328. Рудакова Л.В., Байдичева О.В., Калач А.В., Рудаков О.Б., Селеменев В.Ф. Мультисенсорная система, основанная на цифровой регистрации эффектов набухания и контракции набора гранул сорбентов// Мат. III Всерос. конф. «Аналитика России». – Краснодар, 2009. – С. 151.
329. Рудакова, Л.В., Байдичева О.В., Шведов Г.И., Рудаков О.Б. Мультисенсорная система «Электронный глаз» для контроля качества инъекционных растворов лекарственных средств// Мат. I Всерос. конф. «Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции». – Москва: Из-во МИСиС, 2009. – С. 120-121.
330. Рудакова Л.В., Селеменев В.Ф., Рудаков О.Б., Байдичева О.В. Применение мультисенсорной системы, основанной на цифровой регистрации объемных эффектов в контроле содержания лекарственных средств в водных растворах// Мат. Съезда аналитиков «Аналитическая химия – новые возможности». – Москва, 2010. – С. 245-246.
331. Кудухова И.Г., Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Ферапонтов Н.Б. Кинетика набухания гранул из ионогенных и неионогенных полимерных материалов в водно-спиртовых растворах// Сорбционные и хроматографические процессы. – 2010. – Т. 10, Вып. 4. – С. 589-594.
332. Кудухова, И.Г., Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Ферапонтов Н.Б. Новый способ контроля содержания воды в водно-спиртовых смесях, основанный на микрофотографическом измерении эффектов набухания полимерных гранул// Сорбционные и хроматографические процессы. – 2010. – Т. 10, Вып. 5. – С. 759-761.
333. Кудухова И.Г., Рудаков О.Б., Рудакова Л.В. Кинетические зависимости эффектов набухания гранул из ионогенных и неионогенных полимеров от концентрации воды в водно-спиртовых растворах// Мат. Междунар. конф. «Ионный перенос в органических и неорганических мембранах». – Кемерово, 2010. – С. 211-217.
334. Рудакова Л.В. Мультисенсорная система «электронный глаз», основанная на регистрации объемных эффектов цифровыми методами// Учебно-методические мат. Всеросс. конф. с

элементами научной школы для молодежи «Нано- и супрамолекулярная химия в сорбционных и ионообменных процессах». – Белгород, 2010. – С. 82-87.

335. Рудакова, Л.В., Кудухова И.Г., Ветрова Е.Н., Селеменев В.Ф. Мультисенсорная система из набухающих сорбентов для анализа спиртовых растворов некоторых лекарственных средств// Мат. V Всерос. конф. «Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах. Фагран-2010». – Воронеж, 2010. – Т. II. – С. – 799-802.
336. Рудакова Л.В., Шведов Г.И. Новые подходы в мультисенсорном анализе для контроля качества фармацевтической продукции// Фармацевтич. технологии и упаковка. – 2011. – № 2. – С. 54-58.
337. Рудакова Л.В., Кудухова И.Г., Ветрова Е.Н., Фисунова О.С., Тихонова М.К., Смородникова О.А. Оптический мультисенсорный анализ водно-спиртовых экстрактов растительного сырья// Мат. Всерос. научно-методич. конф. «Проблемы здоровьесбережения дошкольников, учащихся и студентов. Новые здоровьесберегающие тенденции в фармации и медицине». – Воронеж, 2011. – С. 415 – 418.
338. Рудакова, Л.В., Рудаков О.Б., Кудухова И.Г., Селеменев В.Ф. Цифровая регистрация эффектов набухания гранул полимеров как аналитический сигнал// Бутлеровские сообщения. – 2011. – Т. 24, № 2. – С. 16-21.
339. Рудакова Л.В., Ветрова Е.Н. Оптический мультисенсорный анализ водных растворов аминокислот// Сборник мат. XIII Междунар. конф. «Физико-химические основы ионообменных и хроматографических процессов (ИОНИТЫ-2011)». – Воронеж, 2011. – С. 263-266.
340. Рудакова Л.В., Кудухова И.Г. Применение в тест-контроле данных по набуханию ионогенных и неионогенных полимерных гранул в спиртовых растворах биологически активных веществ// Сборник мат. XIII Междунар. конф. «Физико-химические основы ионообменных и хроматографических процессов (ИОНИТЫ-2011)». – Воронеж, 2011. – С. 476-478.
341. Рудаков, О.Б., Кудухова И.Г., Пастухов А.В., Даванков В.А., Рудакова Л.В. Артефакты в кинетике набухания полимерных гранул в водно-спиртовых растворах и их интерпретация.// Мат. XIII межд. конф. «Физико-химические основы ионообменных и

хроматографических процессов (ИОНИТЫ-2011)». – Воронеж, 2011. – С.19-21.

342. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Никитина С.Ю., Кудухова И.Г. Мультисенсорный оптический способ для контроля качества ликероводочной продукции и виноматериалов// Мат. Междунар. НТК «Современные достижения биотехнологии. Биотехнология пищевых производств. Ч.3. Ставрополь. М.: НОУ Образовательный научно-технический центр молочной пром-ти. – 2011. – С. 97-99.
343. Кудухова И.Г., Рудакова Л.В., Никитина С.Ю., Рудаков О.Б. Микрофотографическое определение эффектов набухания полимерных гранул в водно-спиртовых растворах// Научный вестник ВГАСУ. Серия: Физико-химические проблемы строительного материаловедения и высокие технологии. – 2011. – № 3-4.– С. 117-121.
344. Кудухова И.Г., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Аналитические возможности эффектов набухания полимерных сорбентов в водно-этанольных растворах биологически активных веществ// Мат. III Всеросс. симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии». Туапсе, 2011. С. 56.
345. Рудаков О.Б., Кудухова И.Г., Рудакова Л.В., Пастухов А.В., Даванков В.А. Артефакты в кинетике набухания полимерных гранул в водно-спиртовых растворах и их интерпретация// Сорбционные и хроматографические процессы. – 2011. – Т. 11, Вып. 6. – С. 880-886.
346. Кудухова И.Г., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б., Назаров В.М. Мультисенсорный микрофотографический способ определения воды в водно-спиртовых смесях// Вода: химия и экология. – 2011. – № 12. – С. 89-93.
347. Рудакова Л.В., Кудухова И.Г., Селеменев В.Ф. Применение микрофотографического способа регистрации эффектов набухания сорбционно-активных полимерных гранул в анализе биологически активных веществ// Аналитика и контроль. – 2012. – Т.6, № 1. – С. 68-74.
348. Рудакова Л.В., Ресснер Ф. Оптическое мультисенсорное устройство для анализа жидких сред. Пат. РФ на полезную модель № 113844 от 27.02. 2012. 4 с.
349. Рудаков О.Б., Кудухова И.Г., Рудакова Л.В. Оптический мультисенсорный способ определения воды в смесях с этанолом

- и ацетонитрилом// Мат. конф. «Методы анализа и контроля качества воды». – Москва, 2012. – С. 36.
350. Шамрицкая И.П. Раильченко Н.А. Микроскопический метод определения удельных объемов ионообменных смол // Сб. «Синтез и свойства ионообменных материалов». – М.: Наука, 1968. – С. 213-215.
351. Шамрицкая И.П., Матвеева М.В. Микрофотографический метод изучения кинетики набухания ионообменных смол// Теория и практика сорбционных процессов: сб. статей. – 1971. – Вып. 5. – С. 61-64.
352. Цюрупа М.П., Павлова Л.А., Пастухов А.В., Даванков В.А. О колебательном характере процесса сорбции аминокислот на катионитах// Журн. физич. химии. – 2009. – Т. 83, № 5. – С. 996.
353. Карпюк Е.А., Коротких О.И., Гавлина О.Т., Иванов В.А. Влияние температуры на набухаемость полиакрилового и полиметакрилового катионитов// Журн. физич. химии. – 2011. – Т. 85, № 3. – С. 557–564.
354. Илюхина Е.А. Влияние температуры на обмен ионов и сорбцию воды на сшитых полиэлектролитах в процессах безреагентного разделения: дисс. ... канд. хим. наук. – Москва, 2008. – 193 с.
355. Гантман, А.И., Бутенко Т.Ю. Влагоемкость и набухаемость ионитов. IV. Температурная зависимость// Журн. физич. химии. – 1986. – № 2. – С. 460.
356. Марчевская Ю.М., Куриленко О.Д. Зависимость кинетики набухания ионитов от температуры, дисперсности и природы растворителя// Синтез и свойства ионообменных материалов. – М.: Наука. – 1968. – С.193.
357. Wang, J.Q., Satoh M. A novel reversible thermo-swelling hydrogel / J.Q. Wang, // EXPRESS Polymer Letters. – 2010. – V 4, № 7. – P. 450.
358. Самуэльсон О. Ионообменные разделения в аналитической химии. – М.: Химия, 1966. – 416 с.
359. Самсонов, Г.В., Тростянская Е.Б., Елькин Г.Э. Ионный обмен. Сорбция органических веществ. – Л.: Наука, 1969. – 336 с.
360. Салдадзе, К.М., Пашков А.Б., Титов В.С. Ионообменные высокомолекулярные соединения. – М.: Гос. Научно-техн. изд. хим. лит-ры, 1960. – 356 с.

361. Успехи аналитической химии: к 75-летию академика Ю.А. Золотова / [отв. ред. Л.К. Шпигун]; Ин-т общей и неорг. химии им. Н.С. Курнакова РАН. – М.: Наука, 2007. – 391 с.
362. Дубров, А.М. Обработка статистических данных методом главных компонент / А.М. Дубров. – Л.: Химия, 1978. – 136 с.
363. Бурмистрова, А.А. Аналитические возможности реакции 2,4-динитрофенилгидразина с некоторыми карбонильными соединениями в мицеллярных средах ПАВ. Дисс. ... канд. хим. наук. – Саратов, 2010. – 144 с.
364. Подолина Е.А., Грошев Е.Н., Рудаков О.Б. Экстракционно-инструментальные способы определения фенолов в конденсированных средах // Конденсированные среды и межфазные границы. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 72-79.
365. Хорохордина Е.А., Подолина Е.А., Рудаков О.Б. Жидкостная экстракция смешанными растворителями. Применение в химическом анализе фенолов, Саарбрюккен: LAP Lambert Academic Publishing, – 2012. – 240 с.
366. Jork H., Funk W., Fisher W., Wimmer H. Thin-Layer Chromatography. Reagents and Detection Methods. V.1. VCN: New York, 1990. – 497 p.
367. Головинский П.А. Когерентный нейрон и распознавание образов // Вестник ВГТУ. – 2005. № 9. – С. 115-117.
368. Рудакова Л.В., Рудаков О.Б., Кудухова И.Г., Никитина С.Ю. Анализ водно-спиртовых растворов способом микрофотографической регистрации эффектов набухания сорбционно-активных полимерных гранул// Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2012. – № 2. – С. 24-26.
369. Рудакова Л.В., Хорохордина Е.А. Экстракционно-хроматографическое и экстракционное фотоколориметрическое определение парацетамола в суспензии «Парацетамол детский»// Сорбционные и хроматографические процессы. – 2011. – Т. 11, № 4. – С. 572-574.
370. Compendium of HPLC Applications for Traditional Chinese Medicine and Chemical Drugs in China Pharmacopoeia: Agilent Technologies, 2007. – 724 p.
371. Григорьев А.М., Недовизина Г.В., Рудакова Л.В. Использование твердофазной экстракции (патроны ACCU BOND^{II} ODS и EVIDEX^{II}) для выделения опиатов, барбитуратов и лизиноприла из биологических объектов в судебно-химическом анализе// IV

- Всеросс. конф. «Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах», Фагран – Воронеж, 2008. – С. 729-730.
372. Григорьев, А.М., Машкова И.В., Рудакова Л.В. Определение метаболитов димедрола методами ГХ-МС и ВЭЖХ в моче// Сорбционные и хроматограф. процессы. – 2008. – Т. 8, № 1. – С. 134-140.
373. Григорьев А.М., Мельник А.А., Рудакова Л.В. Определение дротаверина, его производных и метаболитов: ГЖХ или ВЭЖХ? // Тез. докл. Всеросс. конф. «Теория и практика хроматографии. Хроматография и нанотехнологии». – Самара, 2009. – С. 95.
374. Григорьев А.М., Мельник А.А., Рудакова Л.В. Идентификация и определение производных и продуктов метаболизма банкола методами ГЖХ-МС и ВЭЖХ для целей судебно-химического и токсикологического анализа// Сорбционные и хроматограф. процессы. – 2008. – Т.8, № 5. – С. 766-778.
375. Григорьев А.М., Мельник А.А., Рудакова Л.В. Определение нереистоксина, его производных и метаболитов хроматографическими методами в биообъектах// Тез. докл. VII Всеросс. конф. по анализу объектов окружающей среды "Экоаналитика-2009". – Мар. гос. ун-т, Йошкар-Ола, 2009. – С. 74-75.
376. Григорьев А.М., Мельник А.А., Рудакова Л.В. ГХ-МС в исследовании термолабильных производных дротаверина// Мат. IV съезда ВМСО, III Всерос. конф. «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы». – Москва, 2009. – С. 51.
377. Григорьев А.М., Мельник А.А., Рудакова Л.В. ВЭЖХ и ГЖХ дротаверина и продуктов его окислительной деградации// Мат. I Всерос. Конф. «Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции». – Москва: Из-во МИСиС, 2009. – С. 60-61.
378. Хорохордина Е.А., Фан Винь Тхинь, Подолина Е.А., Рудаков О.Б. Определение капсаициноидов и ионола в перцовых пластырях методом микроколоночной ВЭЖХ// Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т. 8, № 2. – С. 339-345.
379. Хорохордина Е.А., Рудакова Л.В., Фан Винь Тхинь, Рудаков О.Б. Жидкостная экстракция капсаициноидов и ионола из перцового пластыря// Мат. «II междунар. симп. по сорбции и экстракции». – Владивосток: Дальнаука, 2009. – С. 216-217.

380. Рудаков О.Б., Подолина Е.А., Хорохордина Е.А., Рудакова Л.В. Жидкостная экстракция и инструментальные методы контроля фенольных антиоксидантов// Тез. докл. XVIII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. – М: Граница, 2007. – Т. 4. – С. 208.
381. Рудаков О.Б., Подолина Е.А., Рудакова Л.В., Тхинь Ф. В. Применение холодной жидкостной экстракции ацетонитрилом в определении фенолов методом обращенно-фазовой ВЭЖХ// Тез. докл. Всеросс. конф. «Теория и практика хроматографии. Хроматография и нанотехнологии». – Самара, 2009 – С. 183.
382. Тхинь Ф. В., Рудаков О.Б., Рудакова Л.В. Холодная экстракция и анализ фенола методом обращенно-фазовой ВЭЖХ// Мат. «II междунар. симпозиума по сорбции и экстракции» Владивосток: Дальнаука, 2009. – С. 210-211.
383. Рудаков, О.Б., Коренман Я.И., Харитонов Л.А., Рудакова Л.В. Экстракционно-хроматографические свойства двухатомных фенолов// Мат. I Всеросс. конф. Физико-химические процессы в конденсированном состоянии и на межфазных границах «Фагран 2002». – Воронеж, 2002. – С. 499-501.
384. Назарова, А.А., Сафонова Е.Ф., Селеменев В.Ф. и др. Выбор оптимальных параметров определения сквалена методом тонкослойной хроматографии// «Сорбционные и хроматографические процессы». Воронеж: ВГУ. – 2007. – Т. 7. – Вып. 1. – С. 94-97.
385. Карпов С.И., Матвеева М.В., Селеменев В.Ф., Будаева О.Н., Турищева Ю.А., Рудакова Л.В. Потенциометрическое и спектрофотометрическое определение констант диссоциации мезотона и адреналина// Хим.-фармацевт. журн. – 2005. – № 12. – С. 47-50.
386. Григорьев А.М., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Квантово-химический расчет селективности для нормально-фазовой ВЭЖХ на примере соединений с кратными связями// Бутлеровские сообщения. – 2006. – Т. 9, № 4. – С. 21-31.
387. Григорьев А.М., Мельник А.А., Рудакова Л.В. Хроматографические методы определения дротаверина и идентификация его производных и метаболитов в биообразцах// Изв. Вузов. Серия: Химия и химические технологии. – 2012. – Т. 55, № 2. – С. 18-22.

388. Селеменев В.Ф., Харитонов Л.А., Подолина Е.А., Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Дурицын Е.П. Способ определения фенола в водном растворе. Пат. РФ №2415414 от 27 марта 2011. 12 с.
389. Рудаков, О.Б., Рудакова Л.В., Кудухова И.Г., Головинский П.А., Хорохордина Е.А., Грошев Е.Н. Усовершенствование способа определения фенолов по цветным реакциям с применением цифровых технологий// Аналитика и контроль. – 2012. – Т. 16, № 4. – С. 570-579.
390. Рудакова Л.В., Кудухова И.Г. Усовершенствование способа определения аминокислот по цветным реакциям с применением цифровых технологий//Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – Т. 78. – 2012. – № 12. – С. 20-25.

ОСНОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

A – оптическая плотность при i -той аналитической длине волны;
 A_1 – оптическая плотность разбавителя;
 A_{12} – суммарная оптическая плотность бинарной подвижной фазы;
 A_2 – оптическая плотность модификатора;
 a_k – весовой коэффициент k -той целевой функции;
 C – концентрация;
 $ClogP$ – логарифм коэффициента распределения вещества между 1-октанолом и водой, рассчитанный по алгоритму BioByte;
 D – коэффициент распределения вещества между водной (водно-солевой) и водно-органической фазой;
 $E_T(30)$ – сольватохромный параметр Димрота – Райхардта;
 F_k – k -тая целевая функция;
 F_n – нормализованное значение для k -той целевой функции;
 $F_{об}$ – значения обобщенной целевой функции;
 H – критерий гидрофобности;
 k – фактор удерживания;
 K_S – обобщенный критерий;
 $logV_R$ – логарифм объема удерживания;
 $logP$ – логарифм коэффициента распределения вещества между n -октанолом и водой;
 n – число экспериментальных данных, использованное в статистическом анализе;
 n – показатель преломления растворителя;
 n_{12} – показатель преломления бинарного растворителя;
 n_2 – показатель преломления модификатора;
 n_1 – показатель преломления разбавителя;
 n_2 – площадь, необходимая для размещения молекулы модификатора на поверхности;
 P – доверительный интервал;
 $P_{пар}$ – давление насыщенного пара над жидкостью;
 P' – параметр полярности Снайдера;
 P_i – нормализованный параметр полярности для i -го растворителя;
 P^0 – рациональный параметр полярности;
 P_N – обобщенный (редуктивный) параметр полярности;
 R – коэффициент парной корреляции;
 R^2 – степень аппроксимации;

R_E – обобщенный критерий;
 R_L – редуктивный критерий липофильности растворителей;
 S – элюирующая способность в обращенно-фазовой хроматографии;
 S – площадь диаграммы
 $t_{\text{кип}}$ – температура кипения;
 $t_{\text{всп}}$ – температура вспышки;
 $t_{\text{свп}}$ – температура самовоспламенения;
 T_R – время удерживания вещества;
 V_1 – объем разбавителя;
 V_2 – объем модификатора;
 V_m – мертвый объем;
 V_o – свободный объем;
 V_R – объем удерживания вещества;
 α – эмпирический коэффициент;
 β – эмпирический коэффициент;
 δ – отклонения свойства бинарной смеси растворителей от аддитивности;
 δ_T – параметр растворимости Гильдебранда;
 ε – коэффициент отличия лепестковых диаграмм;
 ε_{12} – диэлектрическая проницаемость бинарной смеси,
 ε^0 – элюирующая способность растворителя;
 ε^0_1 – элюирующая способность разбавителя;
 ε^0_{12} – элюирующая способность бинарной подвижной фазы;
 ε^0_2 – элюирующая способность полярного модификатора;
 ε_r – диэлектрическая проницаемость;
 η – коэффициент динамической вязкости;
 η_1 – коэффициент динамической вязкости разбавителя;
 η_{12} – коэффициент динамической вязкости бинарной смеси растворителей;
 η_2 – коэффициент динамической вязкости модификатора,
 λ – аналитическая длина волны;
 λ^* – предел прозрачности растворителя или подвижной фазы;
 ρ – плотность растворителя при 25 °С, г/см³
 ρ_1 – плотность разбавителя;
 ρ_2 – плотность модификатора,
 σ_1 – поверхностное натяжение разбавителя;
 σ_2 – поверхностное натяжение модификатора;

σ_{12} – поверхностное натяжение бинарной смеси
 φ_1 – объемная доля разбавителя в подвижной фазе;
 φ_2 – объемная доля модификатора в подвижной фазе;
 Ψ_1 – проницаемость разбавителя;
 Ψ_2 – проницаемость модификатора;
 Ψ_{12} – проницаемость бинарной смеси растворителей;

Используемые сокращения

АК – аминокислоты;
АН – ацетонитрил;
АП – антоциановые пигменты;
АЦП – аналогово-цифровой преобразователь
БАВ – биологически активное вещество;
БД – база данных;
БЗ – база знаний;
ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;
ГГБ – гидрофильно-гидрофобный баланс;
ГК – главная компонента в методе главных компонент;
ГН – гексан;
ГФС – глюкозо-фруктозный сироп
ЖЖЭ – жидкостно-жидкостная экстракция;
ЖХ – жидкостная хроматография;
ИПС – изопропиловый спирт;
ИАС – информационно-аналитическая система;
ИЭС – информационно-экспертная система;
КГЖХ – капиллярная газожидкостная хроматография;
КК – контрольная карта;
ЛД – лепестковая диаграмма;
МГК – метод главных компонент;
НФХ – нормально-фазовая хроматография;
ОФХ – обращенно-фазовая хроматография;
ОЦФ – обобщенная целевая функция;
ПО – программное обеспечение;
ПК – персональный компьютер;
ПС – планшетный сканер;
ПФ – подвижная фаза;
РМД – рефрактометрический детектор;
СЖ – слезная жидкость;
СФД – спектрофотометрический детектор;

ТГФ – тетрагидрофуран;
УФД – ультрафиолетовый детектор;
ЦМ – цветометрический метод;
ЦФК – цифровая фотокамера;
ФС – фармакопейная статья;
ЭС – экспертная система;

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	3
Глава 1. Принципы создания и функционирования информационно-поисковых и экспертных систем в аналитиче- ской и фармацевтической химии	5
1.1. Классификация информационно-поисковых и экспертных систем.....	5
1.2. Применение информационно-поисковых, информационно- аналитических и экспертных систем в химическом и фармацевтическом анализе	14
1.3. Статистико-математические методы контроля и оптимизации многофакторных процессов и многокомпонентных составов.....	22
1.3.1. Обобщенные показатели качества.....	23
1.3.2. Критерий желательности Харрингтона.....	26
1.3.3. Обобщенный критерий оптимальности.....	29
1.3.4. Обобщенная целевая функция.....	30
1.3.5. Методы математической обработки экспертных оценок.....	30
1.3.6. Методы свертки многопараметрической информации.....	40
1.3.7. Контрольные карты.....	45
1.4. Применение цифровых технологий в аналитическом контроле. Компьютерные методы обработки цифрового сигнала.....	48
1.4.1. Применение цифровой цветометрии в химическом анализе.....	49
1.4.2. Цветовые модели для цифровых изображений.....	53
1.5. Мультисенсорные системы в химическом анализе.....	56
Глава 2. Информационно-аналитическая система СОЛЬВЕНТ-Р подбора растворителей для инструментальных методик анализа.....	59
2.1. Продукционные правила для информационно- аналитической системы СОЛЬВЕНТ-Р	59
2.2. Обобщенные критерии для различных методов детектирования.....	65
2.3. Критерии желательности для индивидуальных растворителей	77
2.4. Целевые функции для бинарных растворителей.....	81

2.4.1. Плотность бинарных растворителей.....	85
2.4.2. Поглощение бинарных растворителей в УФ-спектре.....	95
2.4.3. Показатель преломления бинарных растворителей.....	99
2.4.4. Диэлектрическая проницаемость бинарных растворителей.....	107
2.4.5. Вязкость бинарных растворителей.....	109
2.4.6. Поверхностное натяжение бинарных растворителей.....	113
2.4.7. Коэффициенты проницаемости бинарных растворителей.....	116
2.4.8. Температура кипения бинарных растворителей.....	118
2.4.9. Температура вспышки бинарных растворителей.....	122
2.4.10. Элюирующая сила бинарных растворителей.....	125
2.5. Тестирование бинарных растворителей с помощью обобщенных целевых функций.....	135
2.5.1. Примеры расчета обобщенных целевых функций для бинарных жидких систем для жидкостной экстракции и хроматографии.....	136
2.5.2. Примеры инструментальных способов определения БАВ с оптимизированными составами подвижных фаз.....	141
Глава 3. Информационно-аналитическая система для идентификации и экспертизы качества жиров и растительных масел	154
3.1. Разработка критериев подлинности многокомпонентной смеси с вариативным составом.....	156
3.2. Визуализация хроматографических данных с помощью контрольных карт.....	165
3.2.1. Применение диаграмм с областями в создании контрольных карт.....	166
3.2.2. Лепестковые диаграммы в качестве контрольных карт.....	169
3.2.3. Программа «Система идентификации жиров».....	176
3.3. Алгоритм оптимизации состава жировой фазы спредов.....	180
Глава 4. ИК–спектроскопическое определение содержания белка в водных растворах и слезной жидкости с применением цифровых технологий.....	186
4.1. ИК-спектроскопия лизоцима и белков слезной жидкости.....	189
4.2. Визуализация и редукция ИК-спектроскопических данных с помощью лепестковых диаграмм.....	193

Глава 5. Цветометрические методики определения физиологически активных веществ в сырье, лекарственных средствах и биологических жидкостях.....	200
5.1. Контроль качества продукции по параметрам цветности.....	207
5.1.1. Количественный контроль цветности воды	208
5.1.2. Определение цветности растворов водорастворимых витаминов	212
5.1.3. Определение цветности растительных масел.....	216
5.1.4. Определение цветности водных и водно-этанольных растворов антоциановых пигментов.....	220
5.1.5. Контроль цветности непрозрачных и твердых образцов.....	223
5.2. Применение цветометрии в анализе водных растворов биологически активных соединений с использованием цветных реакций.....	229
5.2.1. Цветометрическое определение лекарственных веществ в водных растворах.....	230
5.2.2. Цветометрическое определение нитритов в моче и нитропроизводных в водных растворах.....	234
5.2.3. Цветометрическое определение аминокислот, пептидов и белков в водных растворах.....	237
5.2.4. Цветометрическое определение фенолов и их производных.....	256
Глава 6. Применение микрофотографического способа регистрации эффектов набухания сорбционно-активных полимерных гранул в анализе растворов биологически активных веществ.....	269
6.1. Свойства полимерных материалов и методики их подготовки для измерения объемных эффектов	271
6.2. Кондиционирование, очистка и получение различных ионных форм ионообменных материалов.....	274
6.3. Методики определения размеров гранул.....	275
6.4. Особенности кинетики набухания ионогенных и неионогенных полимеров в водных и водно-спиртовых растворах	277
6.5. Влияние температуры на характер набухания полимерных гранул в воде и этаноле.....	285

6.6. Применение эффекта набухания ионогенных полимерных гранул в количественном определении аминокислот и лизоцима в водных и водно-солевых (изотонических) растворах.....	289
6.7. Микрофотографическая мультисенсорная система, основанная на эффектах набухания нескольких сорбционно активных полимерных гранул в анализируемых растворах.....	297
6.8. Применение эффекта набухания в определении состава водно-этанольных смесей.....	306
6.9. Применение микрофотографической мультисенсорной системы в контроле содержания лекарственных веществ в водных и водно-спиртовых растворах	309
Литература.....	317
Основные обозначения.....	355

*Лидия Владимировна РУДАКОВА,
Олег Борисович РУДАКОВ*

**ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ
В АНАЛИТИЧЕСКОМ КОНТРОЛЕ
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

М о н о г р а ф и я

Издание второе, исправленное

Зав. редакцией химической литературы
М. В. Макеева

ЛР № 065466 от 21.10.97
Гигиенический сертификат 78.01.07.953.П.007216.04.10
от 21.04.2010 г., выдан ЦГСЭН в СПб

Издательство «ЛАНЬ»
lan@lanbook.ru; www.lanbook.com
192029, Санкт-Петербург, Общественный пер., 5.
Тел./факс: (812) 412-29-35, 412-05-97, 412-92-72.
Бесплатный звонок по России: 8-800-700-40-71

Подписано в печать 18.02.15.
Гарнитура Литературная. Формат 60×90 1/8.
Усл. п. л. 44,75.