Методы и объекты хиимического анализа, 2010, т.5, №1, с.36-42

Новый хемометрический подход для оптимизации разделения в нормально-фазовой тонкослойной хроматографии

А.П. Бойченко*, М.А. Чухлеб, А.М. Фролова, Л.П. Логинова

Кафедра химической метрологии, Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы 4, Харьков 61077, Украина, e-mail: boichenko@univer.kharkov.ua

Поступила: 20 сентября 2009 г./ Принята к публикации: 20 января 2010 г.

Предложен новый хемометрический подход для оптимизации разделения в нормально-фазовой тонкослойной хроматографии, который включает направленный выбор наиболее подходящих растворителей и интерпретативную процедуру для поиска оптимального соотношения компонентов в подвижной фазе. Определены индивидуальные растворители, обеспечивающие наилучшую селективность разделения смеси пищевых красителей. Показаны преимущества применения в качестве глобального критерия разделения произведения критериев разделения двух пятен. Выбран количественный состав подвижной фазы, обеспечивающий наилучшее разделение куркумина (Е100), тартразина (Е102), желтого «Солнечный закат» (Е110), азорубина (Е122), бриллиантового голубого (Е133), индигокармина (Е132), эритрозина (Е127) и его двух примесей.

***A.P.Boichenko, M.A.Chukhlieb, A.M.Frolova, L.P.Loginova. The new chemometrics approach for optimization of separation in normal-phase thin-layer chromatograph.** - The new chemometrics approach for optimization of separation in normal-phase thin-layer chromatography, which involves the directed selection of the most suitable solvents and interpretative procedure for finding the optimal ratio of components in mobile phase, was proposed. The individual solvents providing the best selectivity of food dyes separation were identified. The advantages of application of product of separation factors between to spots as global criterion were indicated. The composition of mobile phase allowing the separation of Turmeric (E100), Tartrazine (E102), Sunset Yellow (E110), Carmoisine (E122), Brilliant Blue (E133), Indigo Carmine (E132), Erythrosine (E127) and its two impurities was found.*

Ключевые слова: *хемометрический подход, оптимизация разделения, нормально-фазовая тонкослойная хроматография, НФ ТСХ*
Keywords: *chemometric approach, optimization of separation, normal-phase thin-layer chromatography*

ВВЕДЕНИЕ

Оптимизация разделения сложных смесей веществ является важнейшим этапом разработки новых методик анализа органических соединений, таких как ксенобиотики, фармацевтические препараты, биологически-активные компоненты природного сырья и т.д. [1,2]. Развитие методов хемометрики позволило более быстро находить оптимальные условия разделения веществ методами хроматографии [3,4], капиллярного электрофореза [4,5,6], экстракции [7]. Описание процессов разделения, в силу своей сложности, требует дальнейшего совершенствования, что становится возможным с привлечением сложных алгоритмов и вычислительной техники [8].

Несмотря на распространение высоко эффективной жидкостной хроматографии в практике химического анализа, метод тонкослойной хроматографии составляет значительную долю всех анализов при контроле лекарственных средств, в клинической химии и биохимии, в косметологии, при анализе продуктов питания и объектов окружающей среды, неорганических веществ [9-11]. На практике в большинстве случаев используются нормативные методики ТСХ разделения [12,13]. Разработка новых методик ТСХ анализа сдерживается недостаточным количеством специалистов-практиков [9] и практически полным отсутствием в последнее время работ по разработке новых подходов к оптимизации разделения в наиболее распространенном варианте ТСХ – нормально-фазовой тонкослойной хроматографии.

Методы оптимизации разделения в ТСХ всегда развивались параллельно с методами оптимизации разделения в ВЭЖХ [14]. Специфика, которую необходимо учитывать при разработке подходов к оптимизации ТСХ разделений, состоит в следующем:

© А.П. Бойченко, М.А. Чухлеб, А.М. Фролова, Л.П. Логинова

(i) в ТСХ все вещества остаются после хроматографирования на пластине, в отличие от ВЭЖХ, где все компоненты смеси должны выйти из колонки, что выдвигает разные требования к элюирующей силе подвижной фазы в двух методах анализа;

(ii) в ТСХ всегда наблюдается градиент состава подвижной фазы от линии погружения до линии финиша [14];

(iii) в связи с неравновесным процессом движения подвижной фазы по пластине при использовании смеси растворителей разной полярности может наблюдаться появление нескольких фронтов подвижной фазы из-за большей адсорбционной способности одного или нескольких компонентов подвижной фазы;

(iv) наличие газовой фазы в камере при хроматографировании значительно влияет на результаты хроматографического разделения, что, с одной стороны, увеличивает возможности ТСХ, а с другой – требует тщательной стандартизации условий разделения;

(v) в отличие от ВЭЖХ, в ТСХ возможно использование подвижных фаз, необратимо меняющих свойства стационарной фазы, а также растворителей, имеющих значительное поглощение в УФ области, которые удаляются с пластин после хроматографирования.

Наиболее часто для оптимизации разделения в ТСХ используют: (i) различные симплекс процедуры, которые обладают одним существенным недостатком – найденный оптимум может не являться глобальным; (ii) подход ПРИЗМА, который значительно ускоряет метод «проб и ошибок» при выборе растворителей – компонентов подвижной фазы наиболее подходящих для разделения данной группы веществ; (iii) методы, в которых по данным о разделении веществ в нескольких точках многофакторного пространства, отвечающего составам многокомпонентной подвижной фазы, строят полиномиальную функцию отклика, описывающую качество разделения на каждой хроматограмме [14,15]. Третий тип хемометрических процедур является достаточно трудоемким, т.к. требует проведения большого числа хроматографических разделений с разным составом подвижных фаз, для адекватного построения полиномиальной функции отклика [8].

В этой работе для оптимизации состава подвижной фазы в нормально-фазовой тонкослойной хроматографии разработан новый хемометрический подход, основанный на выборе оптимального плана эксперимента, математическом моделировании удерживания, статистическом анализе качества моделирования и построении поверхности зависимости глобального разделения от состава подвижной фазы.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и стандартные растворы

В работе использовались пищевые красители: куркумин (ч.д.а., Реахим), тартарзин (ч.д.а., Реахим), желтый «Солнечный закат», эритрозин (ч.д.а., Реахим), индигокармин (ч.д.а., Реахим), азорубин, бриллиантовый голубой; растворители: 1-гексан (ч.д.а.), 1-гептан (ч.д.а.) и хлороформ (ч.д.а.) Химлаборреактив, диметилсульфоксид (ч.д.а.), бутил-пропиловый эфир (ч.д.а.) и уксусная кислота ледяная (ч.д.а.) Шосткинского завода химических реактивов, метанол (о.с.ч.) Мерк, ацетонитрил (ч.д.а., LabScan, Ирландия), этанол (о.с.ч., Мерк), пиридин (ч., Реахим), изо-пропанол (ч.д.а., ООО «Алхим»), бензол (ч.д.а., Макрохим), а также дистиллированная вода.

Условия хроматографирования

Хроматографирование проводилось в обычных хроматографических камерах с использованием пластин Sorbfil-ПТСХ-АФ-А 100×100 мм на алюминиевой подложке, Sorbfil-ПТСХ-П-А-УФ 150×100 мм на полиэтилентерефталатной подложке. При хроматографировании с водно-органическими элюентами камеру предварительно насыщали парами элюента в течение 40 мин. Пробы объемом 5 мкл наносились при помощи стеклянного капилляра.

Обработка результатов

Расчеты выполнены с использованием Statistica 6.0, data analysis software system (2004, http://www.statsoft.com), MATLAB 7.0.1 (http://www.mathworks.com) и Microsoft Excel (2002, Microsoft Corporation, http://office.microsoft.com).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проблемой при поиске оптимальных условий разделения в ТСХ является большое количество доступных индивидуальных растворителей, а также бесчисленное количество их комбинаций. Поэтому первый этап оптимизации состава подвижной фазы заключается в подборе нескольких растворителей, обеспечивающих наилучшую селективность разделения смеси веществ. На втором этапе необходимо определить количественный

состав подвижной фазы, обеспечивающий оптимальное разделение. Для выбора наиболее подходящих для разделения растворителей мы использовали предложенный ранее подход ПРИЗМА [16,17], который позволяет путем систематического исследования влияния индивидуальных растворителей на селективность разделения выбрать три растворителя из различных групп. Для определения количественного состава многокомпонентной подвижной фазы использовали интерпретативную процедуру оптимизации с моделированием удерживания каждого тестового вещества, аналогичную описанной нами ранее для мицеллярной жидкостной хроматографии [18-20]. Тестирование предложенного хемометрического подхода провели на разделении тестовой смеси 7 пищевых красителей: куркумин (Е100), тартразин (Е102), желтый «Солнечный закат» (Е110), азорубин (Е122), эритрозин (Е127), бриллиантовый голубой (Е133), индигокармин (Е132). Кроме того, эритрозин содержал 2 примеси, которые, возможно, являются продуктами неполного йодирования флуоресцеина.

Построение изоэлюотропного треугольника селективности

В соответствии с классификацией Снайдера [21], растворители, применяемые в хроматографии, можно разделить на несколько групп, в соответствии с их протоно-донорными и протоно-акцепторными свойствами, а также способностью к сильным дипольным взаимодействиям. 81 растворитель разделен на восемь групп: I – диалкилэфиры; II – алифатические спирты; III –пиридин, тетрагидрофуран; IV – гликоли, уксусная кислота, формальдегид; V – дихлорметан, дихлорэтан; VI – группа разбита на два класса: VIa – диалкилкетоны, сложные эфиры и диоксан; VIб – ароматические углеводороды, нитрилы; VII – галогензамещенные ароматические углеводороды; ароматические сложные эфиры; VIII – фторалканолы, вода, хлороформ [21]. Считается, что если растворитель из какой-либо группы не обеспечивает достаточной селективности разделения, то не следует ожидать, что другой растворитель из этой группы приведет к значительному улучшению разделения. Поэтому достаточно протестировать 1-2 растворителя из каждой группы. Мы исследовали влияние следующих индивидуальных растворителей на селективность разделения пищевых красителей: бутил-пропиловый эфир, изо-пропанол, диметилсульфоксид, пиридин, уксусная кислота, ацетонитрил, бензол, хлороформ, вода. Оказалось, что наилучшее разделение 9 веществ обеспечивают изо-пропанол, пиридин и уксусная кислота, относящиеся ко II, III, и IV группам растворителей по Снайдеру.

На рис. 1а представлена предложенная Найреди призма селективности [16,17]. Вертикальные стороны призмы соответствуют элюирующим силам, ε_0, индивидуальных растворителей. Оптимизацию разделения в нормально-фазовой ТСХ удобно осуществлять для подвижных фаз с одинаковой элюирующей силой компонентов [16, 17] Изоэлюотропным смесям растворителей отвечают плоскости горизонтальных треугольников, вершинами которых являются точки на вертикальных ребрах призмы (Рис. 1а).

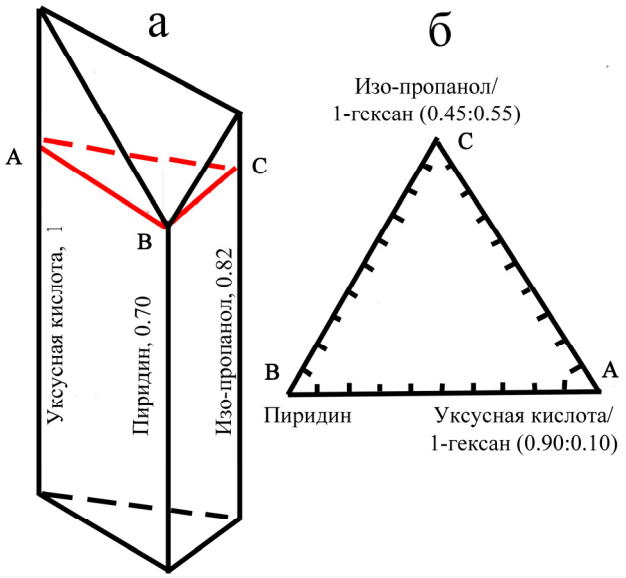

Рис. 1. ***Призма селективности (а) и изоэлюотропный треугольник селективности (б).***

Значения элюирующей силы для изо-пропанола, пиридина и уксусной кислоты составляют 0.82, 0.7 и 1, соответственно. Наименьшую силу среди растворителей имеет пиридин, поэтому было необходимо уменьшить элюирующую силу уксусной кислоты и изо-пропанола. Для выравнивания элюирующей силы растворителей их разбавляют растворителем с нулевой элюирующей силой, например, 1-гексаном. Нами были получены хроматограммы красителей с использованием бинарных подвижных фаз, содержащих изо-пропанол или уксусную кислоту и 1-гексан в объемных соотношениях 0.90:0.10; 0.80:0.20; 0.60:0.40; 0.40:0.60; 0.20:0.80. Для дальнейших исследований в качестве растворителей, имеющих одинаковую элюирующую силу, использова-

© А.П. Бойченко, М.А. Чухлеб, А.М. Фролова, Л.П. Логинова

ли: (i) пиридин; (ii) изо-пропанол/1-гексан (0.45:0.55); (iii) уксусная кислота/1-гексан (0.90:0.10). Эти растворители составили вершины изэлюотропного треугольника селективности (Рис. 1б). Внутри него все подвижные фазы имеют близкую элюирующую силу, а одна из подвижных фаз должна обеспечить наилучшее разделение смеси 9 красителей.

Поиск оптимальной подвижной фазы на поверхности изоэлюотропного треугольника селективности

Для изучения влияния состава многокомпонентной подвижной фазы на селективность разделения красителей нами было получено ряд хроматограмм с под-вижными фазами, представленными в табл. 1.

Важным при оптимизации разделения в хроматографии является: (i) оценка качества разделения двух соседних пятен на хроматограмме; (ii) оценка качества разделения на всей хроматограмме в целом [2].

Таблица 1. Составы изученных подвижных фаз

Пиридин	Изо-пропанол/1-гексан (0.45:0.55)	Уксусная кислота/1-гексан (0.90:0.10)
0.33	0.33	0.33
0.80	0.10	0.10
0.10	0.80	0.10
0.10	0.10	0.80
0.00	0.70	0.30
0.00	0.30	0.70
0.43	0.38	0.19
0.50	0.50	0.00

В первом случае простым и понятным критерием является фактор разделения, R_s, который в нашем случае рассчитывали с использованием значений R_f двух соседних пятен, определяемых как отношение расстояния, пройденного пятном от линии старта, (Xn), к расстоянию от линии старта до линии финиша (Z), и длин пятен в направлении элюирования (z_n):

$$R_S = \frac{\left(R_{f,n} - R_{f,n-1}\right)Z}{(z_n + z_{n-1})/2}, \qquad (1)$$

Для оценки качества разделения на всей хроматограмме протестировали два глобальных критерия, объединяющих критерии разделения между двумя пятнами:

1) сумму индивидуальных критериев разделения двух пятен (критерий Берриджа [22] - ур. (2));

2) произведение индивидуальных критериев разделения (ур. (3)).

После расчета глобального критерия в каждой экспериментальной точке критерии нормализовались на максимальное значение.

$$CRF = \sum_{i=1}^{n-1} R_{S,i} \qquad (2)$$

$$CRF = \prod_{i=1}^{n-1} R_{S,i} \qquad (3)$$

где CRF – глобальный критерий разделения; n – число пятен на хроматограмме.

Оказалось, что при использовании критерия, основанного на произведении, наилучшее разделение должно наблюдаться для подвижной фазы пиридин:изо-пропанол/1- гексан:уксусная кислота/1-гексан с соотношением компонентов 0.43 : 0.38 : 0.19, а при использовании критерия, основанного на сумме (ур. (2)) - для подвижной фазы пиридин : изо-пропанол/1-гексан : уксусная кислота/1-гексан в соотношении 0 : 0.30 : 0.70.

На рис. 2 приведены хроматограммы, полученные для двух подвижных фаз.

Очевидно, что большее значение глобального критерия, основанного на сумме индивидуальных критериев, для хроматограммы на рис. 2б, связано с большим вкладом в глобальный критерий значения R_s, полученного между пятнами с низкими (пятна 2, 3, 4, 6, 7) и высокими (пятна 1, 5) значениями R_f (Рис. 2). Поэтому в дальнейшем в качестве глобального критерия использовали произведение R_s (ур. (3)), значения которого в большей степени согласуются с мнением хроматографиста о качестве разделения на хроматограмме.

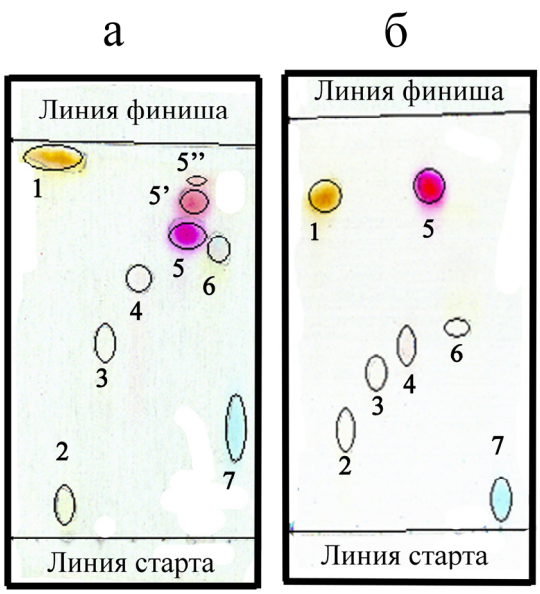

Рис. 2. ***Хроматограмма смеси пищевых красителей, полученная с подвижной фазой пиридин: изопропанол / 1-гексан : уксусная кислота/1-гексан в соотношении 0.43 : 0.38 : 0.19 (а) и с подвижной фазой пиридин : изопропанол/1-гексан : уксусная кислота/1-гексан в соотношении 0 : 0.30 : 0.70 (б). 1 – куркумин (Е100), 2 – тартразин (Е102), 3 – желтый «Солнечный закат» (Е110),4 – азорубин (Е122), 5 – эритрозин (Е127); 5', 5'' – примеси в эритрозине; 6 – индигокармин (Е132), 7 – бриллиантовый голубой (Е133).***

Для изучения влияния состава подвижной фазы на значение глобального критерия разделения использовали интерпретативную процедуру оптимизации, основанную на моделировании удерживания каждого тестового вещества в зависимости от состава подвижной фазы с применением эмпирических линейных зависимостей [8].

В качестве зависимой переменной использовали логарифм фактора удерживания, k, который рассчитывали по формуле [23]:

$$\log k = \log \frac{1 - R_f}{R_f} \qquad (4)$$

Были протестированы следующие пятипараметрические эмпирические модели:

$$\log k = a + bA + cB + dC + eAB \qquad (5)$$

$$\log k = a + bA + cB + dC + eAC \qquad (6)$$

$$\log k = a + bA + cB + dC + eBC \qquad (7)$$

где A – объемная доля пиридина; B – объемная доля смеси изопропанол/1-гексан в соотношении 0.45 : 0.55; C – объемная доля смеси уксусная кислота/1-гексан в соотношении 0.90 : 0.10.

Оказалось, что наилучшее качество описания экспериментальных данных для красителей желтый «Солнечный закат» и азорубин обеспечивает ур. (5), для красителей куркумин, эритрозин, индигокармин, а также примесей в эритрозине – ур. (6), для красителей тартразин и бриллиантовый голубой – ур. (7).

Значения квадратов коэффициентов корреляции для полученных зависимостей представлены в табл. 2.

Наименьшее значение коэффициентов корреляции наблюдается в случае примесей эритрозина, что связано с недостаточным их отделением от основного пятна и, как следствие, с погрешностями в определении значений R_f примесей.

На основании рассчитанных данных об удерживании каждого красителя в зависимости от изменения состава подвижной фазы были рассчитаны глобальные критерии разделения по ур. (3). В качестве критерия разделения двух пиков использовали уравнение, широко применяемое в жидкостной хроматографии [2,8], при условии постоянства эффективности хроматографических зон (N):

$$R_S = \frac{\left(R_{f,n} - R_{f,n-1}\right)Z}{(z_n + z_{n-1})/2} = \frac{\left(X_n - X_{n-1}\right)}{(z_n + z_{n-1})/2} = \frac{\left(t_{Rn} - t_{Rn-1}\right)}{(w_n + w_{n-1})/2} = \frac{k_n - k_{n-1}}{k_n + k_{n-1} + 2}\frac{\sqrt{N}}{2} \qquad (8)$$

где t_R – время удерживания; k – фактор удерживания; w – ширина хроматографического пика; X_n –расстояние от линии старта до центра пятна

Табл. 2. Квадраты коэффициентов корреляции между экспериментальными и предсказанными значениями логарифмов факторов удерживания красителей

краситель	E100	E102	E110	E122	E127(1)	E127(2)	E127(3)	E132	E133
R^2	0.80	0.95	0.86	0.84	0.63	0.84	0.96	0.95	0.87

© А.П. Бойченко, М.А. Чухлеб, А.М. Фролова, Л.П. Логинова

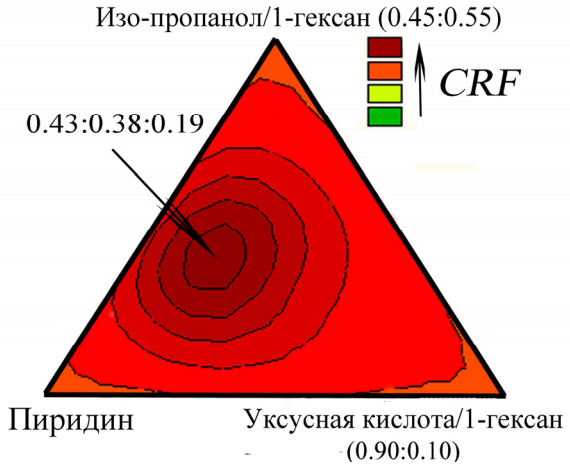

Рис. 3. Контурная карта зависимости глобального критерия разделения, CRF, от состава подвижной фазы.

Полученные значения глобальных критериев разделения, рассчитанные по ур. (3), аппроксимировали сплайнами для построения поверхности глобального разделения (рис. 3).

Так как целью работы является определить подвижную фазу, обеспечивающую наилучшее возможное разделение, мы не использовали ограничение на расположение хроматографических пятен в диапазоне R_f от 0.2 до 0.8. Из рис. 3 очевидно, что область максимального разделения красителей находится вокруг подвижной фазы состава пиридин : изо-пропанол/1-гексан : уксусная кислота/1-гексан в соотношении 0.43 : 0.38 : 0.19 (по объему).

На рис. 4 представлены экспериментальные и рассчитанные значения R_f красителей, которые достаточно хорошо согласуются друг с другом. Это говорит об адекватности предложенного подхода для поиска оптимальных условий разделения в нормально-фазовой тонкослойной хроматографии

ВЫВОДЫ

Разработан хемометрический подход для оптимизации состава многокомпонентной подвижной фазы в нормально-фазовой тонкослойной хроматографии, который включает: 1) выбор растворителей для оптимизации разделения в тонкослойной хроматографии на основании подхода ПРИЗМА; 2) моделирование удерживания аналитов с использованием эмпирических уравнений; 3) оценку селективности разделения как произведения критериев разделения двух пятен; 4) построение поверхности критерия разделения. Подход успешно применен для оптимизации разделения смеси пищевых красителей. Использование хемометрического подхода для оптимизации разделения значительно сокращает объем необходимых экспериментов, а также обеспечивает уверенность в достижении глобального оптимума при разделении конкретной смеси веществ.

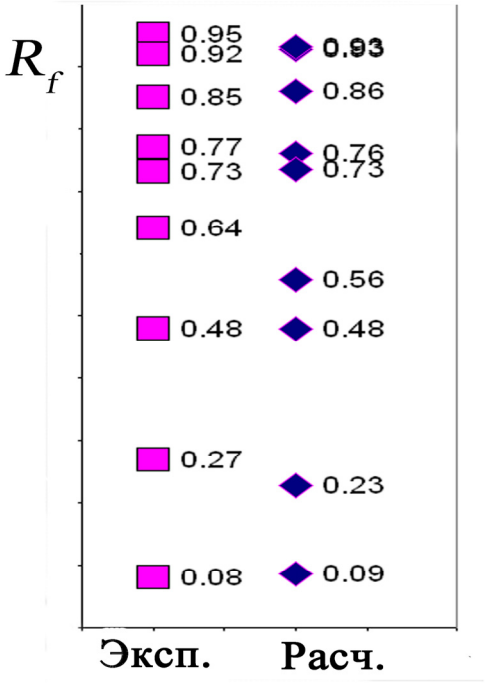

Рис. 4. Экспериментальные и рассчитанные значения R_f для подвижной фазы состава пиридин : изо-пропанол/1-гексан : уксусная кислота/1-гексан в соотношении 0.43 : 0.38 : 0.19 (по объему).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Министерству образования и науки Украины за финансирование научно-исследовательских тем № ГР 0107U000659, 0106U003109, а также проф. Ю.В. Холину за постоянную поддержку в развитии хемометрики химического анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Сакодынский К.И., Бражников В.В. Аналитическая хроматография.—М.:Химия,1993.—464с.*
2. *Схунмакерс П. Оптимизация селективности в хроматографии. — М.: Мир, 1989. — 399 с.*
3. *Siouffi A.-M., Abbou M. Optimization of mobile phase. Chapter 3 in a book Planar Chromatography. A retrospective view for the third millennium / Editor Sz. Nyiredy—Budakalasz,Hungary:Springer.2001.—614p.*
4. *Siouffi A.M., Phan-Tan-Luu R. Optimization methods in chromatography and capillary electrophoresis // J. Chromatogr.A—2000.— Vol.892 —P.75–106.*
5. *Ryan R., Donegan S., Power J., McEvoy E., Altria K. Recent advances in the methodology, optimisation and application of MEEKC // Electrophoresis — 2009. — Vol. 30. — P. 65-82.*
6. *Hanrahan G., Montes R., Gomez F.A. Chemometric experimental design based optimization techniques in capillary electrophoresis: a critical review of modern applications // Anal. Bioanal. Chem. — 2008. — Vol. 390. — P. 169–179.*
7. *Stalikas C., Fiamegos Y., Sakkas V., Albanis T. Developments on chemometric approaches to optimize and evaluate microextraction // J. Chromatogr. A — 2009. — Vol. 1216. — P. 175-189.*
8. *Boichenko A.P., Loginova L.P., Kulikov A.U. Micellar liquid chromatography (Review). Part 1. Fundamentals, retention models and optimization of separation // Методы и объекты хим. анализа – 2007. – Vol. 2 (2).– P. 92-116.*
9. *Hahn-Deinstrop E. Applied thin-layer chromatography. — Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2007. — 314 p.*
10. *Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. — М.: Мир, 1980. — Ч.1-2, 623 с.*
11. *Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии (планарная хроматография): Пер. с англ. / под. ред. Березкина В.Г. — М.: Мир, 1988. — Т. 1, 348 с., Т. 2, 402 с.*
12. *British Pharmacopoeia 2005. Version 10. www.phrmacopoeia.org.uk.*
13. *Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр».—1-е изд.—Харьков:РИРЕГ,2001—556с.*
14. *Siouffi A.-M. Some aspects of optimization in planar chromatography // J. Chromatogr. – 1991. – Vol. 556.– P. 81-94.*
15. *Nurok D. Strategies for optimizing of the mobile phase in planar chromatography // Chem. Rev. – 1989. – Vol. 89.– P. 363-375.*
16. *Nyiredy Sz., Erdelmeier C.A.J., Meier B., Sticher O. The "PRISMA" mobile phase optimization model in thin-layer chromatography: Separation of natural compounds // Planta Medica – 1985. – No. 3. – P. 241-246.*
17. *Nyiredy Sz., Meier B., Erdelmeier C.A.J., Sticher O. "PRISMA": A geometrical design for solvent optimization in HPLC // J. High Resolution Chromatography – Vol. 8, No. 4, – 1985. – P. 186-188.*
18. *Бойченко А.П. Моделирование удерживания и оптимизация разделения в мицеллярной жидкостной хроматографии // Дисс. канд. хим. наук., 30.10.2008. — Харьков. — 150 с.*
19. *Kulikov A.U., Galat M.N., Boichenko A.P. Optimization of Micellar Liquid Chromatography Conditions for the Flavonoid Separation // Chromatographia — 2009. – Vol.70. – P. 371-379.*
20. *Loginova L.P., Kulikov A.U., Yakovleva E.Yu., Boichenko A.P. MLC determination of preservatives in cranberry foodstuffs // Chromatographia — 2008. — Vol. 67. — P. 615-620.*
21. *Snyder L.R. Classification of the solvent properties of common liquids // J. Chromatogr. – 1974. – Vol. 92. – P. 223–230.*
22. *Berridge J.C. Unattended optimization of reversed-phase high-performance liquid chromatographic separations using the modified simplex algorithm // J. Chromatogr. – 1982. – Vol. 244. – P. 1–14.*
23. *Berezkin V. G., Geiss F. TLC retention data in CLC terms // J. Planar Chromatogr. – 2005. Last minute P-49. – P. 657-664.*

© А.П. Бойченко, М.А. Чухлеб, А.М. Фролова, Л.П. Логинова