



УДК 543.544:544.77

## Метод относительного анализа удерживания: обращено-фазовая ВЭЖХ триглицеридов

Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Туртыгин А.В.

*Белгородский государственный университет, Белгород*

### Аннотация

В работе показаны возможности и преимущества метода относительного анализа удерживания на примере обращено-фазовой ВЭЖХ триглицеридов (ТГ) растительных масел. Экспериментально показано, что карта разделения ТГ, как мало полярных веществ, практически не зависит от типа использованной стационарной фазы, что свидетельствует о незначительном вкладе в суммарное удерживание взаимодействия ТГ с остаточными силанольными группами сорбента и открывает возможность использования данных, полученных с использованием труднодоступного оборудования. Показана возможность обобщенной оценки специфики взаимодействий сорбата с компонентами подвижной фазы при сопоставлении относительного удерживания сорбатов в различных элюентных системах. Показано, что неравенство инкрементов для гомологов различных рядов связано с неравенством энтропийных составляющих процесса переноса сорбата из подвижной фазы в стационарную и приведено возможное объяснение этого явления. Наконец, предложен метод анализа, позволяющий оценивать число двойных связей в жирнокислотных радикалах триглицеридов по координатам точки конвергенции

### Введение

Триглицериды составляют основную часть большинства растительных масел и кроме пищевой ценности представляют собой (благодаря разнообразному жирнокислотному составу) прекрасные объекты для исследования взаимосвязи между удерживанием и строением веществ. К настоящему времени для анализа хроматографического поведения неомыленных растительных масел известно использование аддитивных схем, основанных на введении различных вариантов эквивалентных углеродных чисел (ECN), или в ряде отношений более удобной инкрементной модели [1-6].

Цель настоящей работы обобщение результатов 5-ти летнего исследования зависимости удерживания триглицеридов от их строения. Показаны возможности метода относительного анализа удерживания, МОАУ, [7-9] для решения поставленных задач.

## Материалы и методы исследования

Для обращено-фазовой ВЭЖХ использовали хроматографическую систему, составленную из насоса Beckman 110В, крана дозатора Rheodyne 7100 с петлей объемом 20 мкл, детектора RI 401 Waters. Для регистрации и обработки хроматограмм использовали ПП Мультихром 1.5 (Ampersand Ltd. 2005). В работе использованы хроматографические колонки размером 250×4 мм, заполненные стационарными фазами: Диасфер-110-С18, 5 мкм (ЗАО "БиоХимМак СТ", Москва) и Separon SGX C18, 5 мкм, («Элсико Лабс» ООО, Москва)

В работе использовали масла различных производителей, а также экстрагированные из соответствующих измельченных семян ацетоном.

Разделение триглицеридов масел исследовали в изократических условиях в нескольких составах подвижных фаз систем «ацетон – ацетонитрил» и «ацетон – метанол» при расходе 1 мл/мин. Для приготовления элюентов использовали ацетонитрил и метанол (ч.) и ацетон (х.ч.). Мертвое время хроматографической системы рассчитывали по способу [10], аналогичному методу с использованием гомологической разности [11], сопоставляя удерживания последовательных триглицеридов в ряду  $X_3 - X_2L - XL_2$ .

В работе использовано символическое обозначение состава триглицеридов, по которому, например, формула  $L_2O$  обозначает наличие в молекуле двух радикалов линолевой (L) и одного радикала олеиновой (O) кислот; П и С – символические обозначения радикалов пальмитиновой и стеариновой кислот, соответственно.

## Результаты и их обсуждение

При знакомстве с любой публикацией, посвященной хроматографическим методам анализа некоторых объектов, возникает вопрос – насколько общими являются получаемые закономерности. Это важно по крайней мере для работ, при выполнении которых были использованы сложные технологии с большими временными затратами и с использованием труднодоступного оборудования. До разработки метода относительного анализа удерживания, по сути дела, не существовало обоснованного способа сопоставления параметров удерживания веществ, полученных в различных хроматографических системах. А главная причина этих различий – неэквивалентность свойств стационарных фаз не только различных производителей, но и фаз одной торговой марки различных партий.

Применение технологии МОАУ позволяет в ряде случаев проводить прямое сопоставление экспериментальных данных. Так, на рис.1 сопоставлено удерживание некоторых триглицеридов относительно трилинолеата,  $L_3$ . Кроме стандартной для МОАУ линейности подтверждается еще одна закономерность: для относительно малополярных веществ функциональная зависимость относительного удерживания мало изменяется при смене стационарных фаз.

Поэтому точки, полученные для одинаковых сорбатов, укладываются на общую прямую линию для двух стационарных фаз различных производителей: Диасфер-110-С18 (БиоХимМак, Москва) и Сепарон-130-С18 SGX. При этом различия в свойствах двух использованных стационарных фаз весьма велики, если в качестве критерия такого различия использовать разность логарифмов факторов удерживания одинаковых сорбатов на сопоставляемых фазах (порядка 0.25) для одного и того же элюента. Удерживание триглицеридов на стационарной фазе

Сепарон-130-C18 SGX существенно меньше, чем на стационарной фазе Диасфер-110-C18, рис.2.

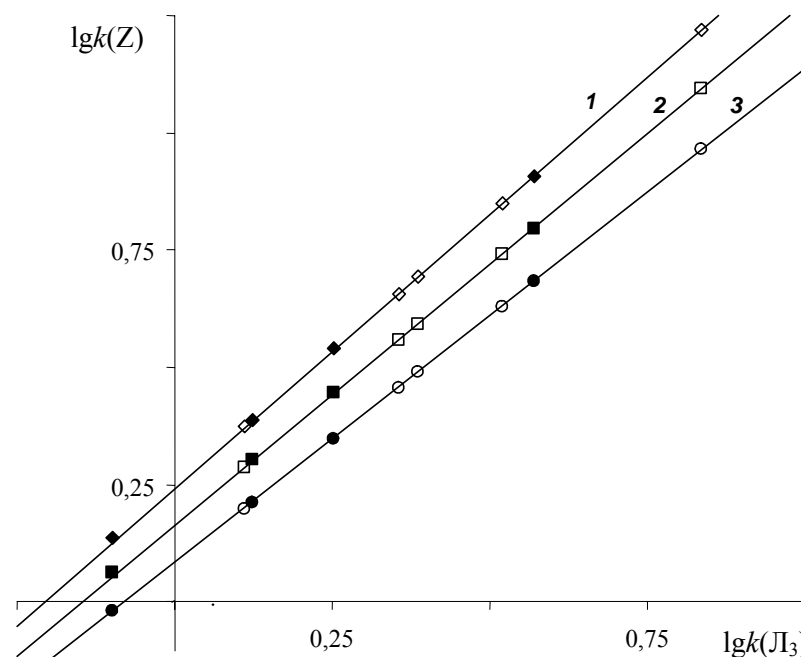


Рис.1. Удерживание триглицеридов относительно удерживания триолеата  $Z =$  триолеат (1), линолеат-диолеат (2); дилинолеат-олеат (3)

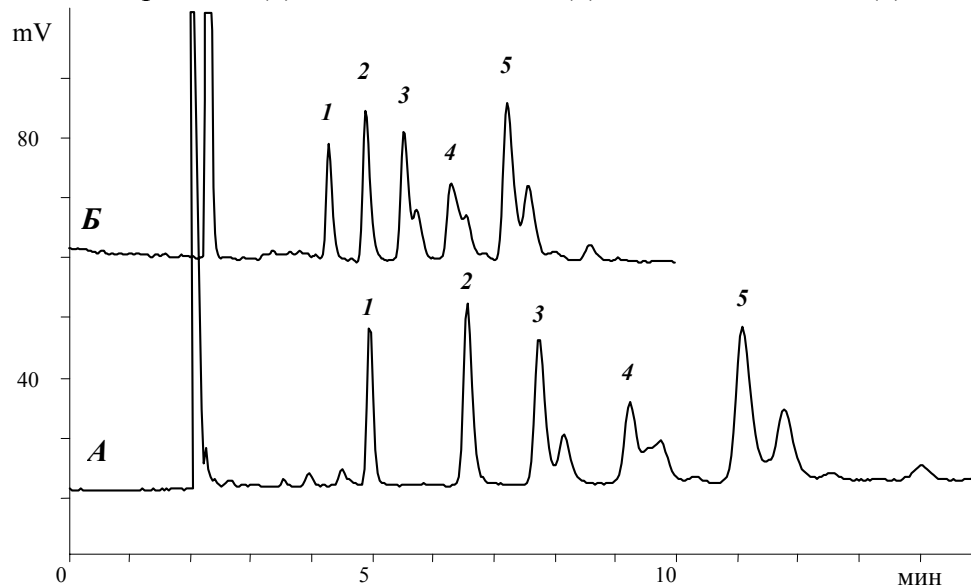


Рис.2. Разделение смеси липофильных веществ на двух стационарных фазах различных производителей

Элюент: 10 об.% ацетонитрила в ацетоне, 1 мл/мин. 1 – сквален, 2 –  $L_3$ ; 3 –  $L_2O$ ; 4 –  $LO_2$ ; 5 –  $O_3$ . Стационарные фазы: А – Диасфер-110-C18, 5 мкм; Б – Сепарон-130-C18 SGX, 5 мкм

Поскольку для стационарных фаз различных партий одного и того же производителя различие в абсолютных величинах удерживания сорбатов не больше найденного для двух сопоставляемых в данной работе стационарных фаз, то найденная функциональная зависимость сохранится для используемой колонки в течение длительного времени (до потери эффективности) колонки.

По физическому смыслу метод анализа относительного удерживания веществ соответствует отказу от исследования закономерностей изменения удерживания в нелинейных координатах «удерживание – состав подвижной фазы». В предлагаемом пространстве графика  $\lg k(B)$  как функции  $\lg k(A)$  каждая точка соответствует конкретной сумме энергий всех видов взаимодействий, характеризующих всю хроматографическую систему. При изменении состава подвижной фазы точка для выбранной пары веществ перемещается в данном пространстве. Причем положение точки и характер ее перемещения должны зависеть от типа модификатора подвижной фазы, если изменение типа модификатора приводит к изменению вклада различных видов взаимодействий (дисперсионных, ориентационных, индукционных, образования водородных связей и т.д.) в суммарный энергетический эффект. Следовательно, сопоставление удерживания веществ на различных фазах имеет смысл только при использовании элюентов одной и той же системы, например «метанол-вода». Результаты, полученные для системы «ацетонитрил-вода», должны рассматриваться отдельно вследствие неэквивалентности вкладов различных видов взаимодействий в подвижной фазе.

Наконец, существенный вклад в суммарное удерживание может вносить способность сорбатов образовывать водородные связи с остаточными силанольными группами, но если в качестве вещества сравнения используется тот же тип соединения, что и в исследуемой группе сорбатов, то такое влияние может быть скомпенсировано [12].

Для относительного удерживания триглицеридов, образованных радикалами  $\alpha$ -линоленовой (Лн), линолевой (Л) и олеиновой кислот (О), различия поведения в системе «ацетон – ацетонитрил» и «ацетон – метанол» очевидны, рис.3. Причем эти различия увеличиваются пропорционально изменению числа двойных связей в молекулах, что, вероятно, соответствует изменению вкладов  $\pi$ -взаимодействий, отсутствующих при введении метанола, но имеющих место при введении ацетонитрила в подвижную фазу.

Удерживание триглицеридов в элюентах на основе ацетона с добавками ацетонитрила или метанола при увеличении их концентрации ( $\Phi$ ) возрастает, а параметр  $q$  соответствует тангенсу угла наклона этой зависимости:

$$\lg k(A) = p + q \cdot \Phi.$$

Пусть в сорбате  $A_n$  содержится  $n$  С=C- связей, а увеличение концентрации метанола приводит к увеличению удерживания, причем это увеличение зависит от числа двойных связей (т.е. замена групп:  $-\text{CH}=\text{CH}-$  на  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ):

$$\frac{d \lg k(A_n)}{d\varphi} = q_n. \quad (1)$$

Если при этом в сорбате  $A_{n-1}$  содержится  $n-1$  С=C-связей, то, аналогично:

$$\frac{d \ln k(A_{n-1})}{d\varphi} = q_{n-1}. \quad (2)$$

Отсюда с учетом увеличения  $q$  при уменьшении  $n$ :

$$\left( \frac{d \ln k(A_{n-1})}{d \ln k(A_n)} \right)_{\text{CH}_3\text{OH}} = \frac{q_{n-1}}{q_n} > 1.$$

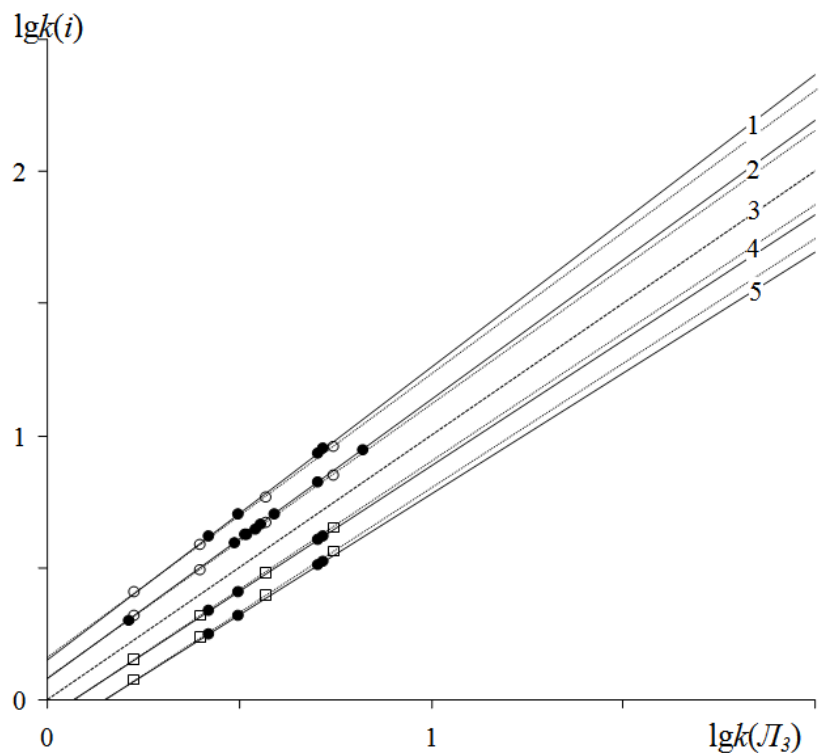


Рис.3. Зависимость удерживания триглицеридов от  $\lg k(J_3)$

Колонка: 250×4 мм, Кромасил С18. 1 –  $\lg k(J_{O_2})$ ; 2 –  $\lg k(J_2O)$ ; 3 –  $\lg k(J_3)$ ; 4 –  $\lg k(J_{nL_2})$ ; 5 –  $\lg k(J_{n_2L})$ . (—) – элюенты системы ацетон – ацетонитрил; (—) – элюенты системы ацетон – метанол

Ацетонитрил в отличие от метанола способен к  $\pi$ -взаимодействиям с сорбатами, поэтому производные (1) и (2) должны уменьшаться пропорционально числу двойных связей. Отметим, что уменьшение в данном случае связано с тем, что и ацетонитрил и метанол используются как добавки к лучшему растворителю – ацетону, а не к худшему – в случае обычных вводно-органических подвижных фаз. Пусть такое уменьшение равно  $r$  на каждую двойную связь, тогда:

$$\left( \frac{d \ln k(A_{n-1})}{d \ln k(A_n)} \right)_{CH_3CN} = \frac{q_{n-1} - r(n-1)}{q_n - r \cdot n}$$

Нетрудно убедиться в том, что при любых (положительных) значениях  $n$  и  $r$  выполняется соотношение:

$$\left( \frac{d \ln k(A_{n-1})}{d \ln k(A_n)} \right)_{CH_3CN} > \left( \frac{d \ln k(A_{n-1})}{d \ln k(A_n)} \right)_{CH_3OH}$$

Тогда, во-первых, становится понятным ход прямых на рис.2, а, во-вторых, появляется новая возможность для количественного сопоставления свойств растворителей. Отметим, что производные логарифмов факторов удерживания триглицеридов относительно триолеата равны тангенсам углов наклона прямых относительного удерживания.

Используя экспериментальные значения тангенсов углов наклонов прямых на рис.3. для метанола в качестве модификатора ацетонового элюента методом наименьших квадратов было найдено значение  $r^* = 0.013$ , которое достаточно

хорошо согласует экспериментальные и расчетные параметры значения для четырех триглицеридов, табл.1.

Таблица 1. Параметры зависимости удерживания некоторых триглицеридов относительно триинолеата ( $L_3$ )

Триглицерид		$\left( \frac{d \ln k(A_{n-1})}{d \ln k(A_n)} \right)_{CH_3OH}$	$\left( \frac{d \ln k(A_{n-1})}{d \ln k(A_n)} \right)_{CH_3CN}$	
Состав	$n$		экспер.	расч.*
O <sub>2</sub> L	4	1.072	1.108	1.106
OL <sub>2</sub>	5	1.036	1.056	1.053
LnL <sub>2</sub>	7	0.971	0.951	0.954
Ln <sub>2</sub> L	8	0.944	0.916	0.911

$n$  – число двойных связей в триглицериде; \* - расчетное значение при оптимальном значении  $r$  (0.013)

Параметр  $r^*$  указывает количественное соотношение между суммарной гидрофобностью и парциальным вкладом  $\pi$ -взаимодействий между ацетонитрилом и двойными связями триглицеридов.

Наконец, еще одно важное свойство линий трендов в координатах относительного анализа – схождение всех гомологических рядов в одной точке может в данной работе использовано для разработки уникального чисто хроматографического неразрушающего метода определения числа двойных связей в радикале триглицерида.

В многочисленных исследованиях было установлено, что удерживание гомологов некоторого ряда ( $i$ ) линейно (см. [13]) зависит от числа метиленовых групп в молекуле:

$$\lg k(i) = a + b \cdot n(CH_2).$$

Но наибольший интерес представляет тот факт, что такие прямые линии для различных соотношений органического модификатора и воды выбранной элюентной системы пересекаются в одной точке, названной точкой конвергенции [14]. С другой стороны, точки конвергенции для различных рядов гомологов не совпадают [9]. Физический смысл точки конвергенции – удерживание сорбатов в элюенте, при котором отсутствует различие между свойствами стационарной и подвижной фаз. Такой состав подвижной фазы является условным или формальным, т.е. определяется благодаря экстраполяции на несуществующие составы подвижных фаз. Однако такая экстраполяция соответствует увеличению не только липофильности подвижной фазы, но и усилению специфических дисперсионных взаимодействий, обусловленных наличием непередельных связей в молекуле ацетонитрила. Соответственно, не все основы различных гомологических рядов будут при этом одинаково изменять свое состояние в подвижной фазе.

Вообще кажущаяся очевидной необходимость равенства метиленовых инкрементов для различных гомологических рядов на самом деле не очевидна. Лишь одинаковое изменение энтальпии сольватации при добавлении химически эквивалентных метиленовых групп, впрочем, имеет очевидное основание. В любом случае, эта гипотеза может быть проверена при анализе термодинамических параметров распределения сорбатов (алкилбензолов,  $n$ -алкилфенолов и  $n$ -алкилацетофенонов) между стационарной и подвижной фазами, приведенных в работе [15].

При сопоставлении энтальпий переноса алкилацетофенонов относительно алкилбензолов (учтены только точки для четырех гомологов – этил-, пропил-, бутил- и пентил-производных, на рис.4) отклонения угла наклона прямолинейной зависимости от единицы не превышает 5%:

$$\Delta H^0(\text{алкилацетофеноны}) = 3.560 + 1.045 \cdot \Delta H^0(\text{алкилбензолы})$$

Лишь немногим большее отличие от единицы получено при сопоставлении энтальпий переноса алкиланилинов относительно алкилбензолов (использованы три точки: для бутил-, гексил- и октил-производных, заполненные значки на рис.4):

$$\Delta H^0(\text{алкиланилины}) = 3.093 + 0.910 \cdot \Delta H^0(\text{алкилбензолы})$$

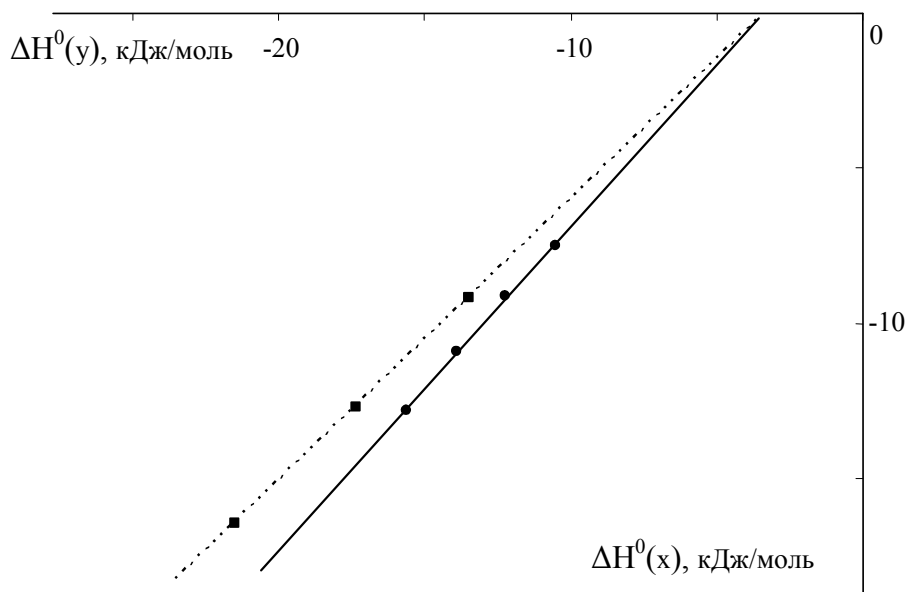


Рис.4. Сопоставление энтальпий переноса гомологов различных рядов  
● - алкилацетофеноны относительно алкилфенолов; ■ - алкиланилины  
относительно алкилбензолов

Аналогичные представленным выше, но уже энтропийные диаграммы (для тех же веществ при таком же сопоставлении) приведены на рис.5. Для этих прямых углы наклона уже существенно больше отличаются от единицы:

$$(\Delta S^0 / R + \ln \varphi)(\text{алкилацетофеноны}) = 1.842 + 1.135 \cdot (\Delta S^0 / R + \ln \varphi)(\text{алкилфенолы}),$$

$$(\Delta S^0 / R + \ln \varphi)(\text{алкиланилины}) = -1.393 + 0.649 \cdot (\Delta S^0 / R + \ln \varphi)(\text{алкилбензолы}).$$

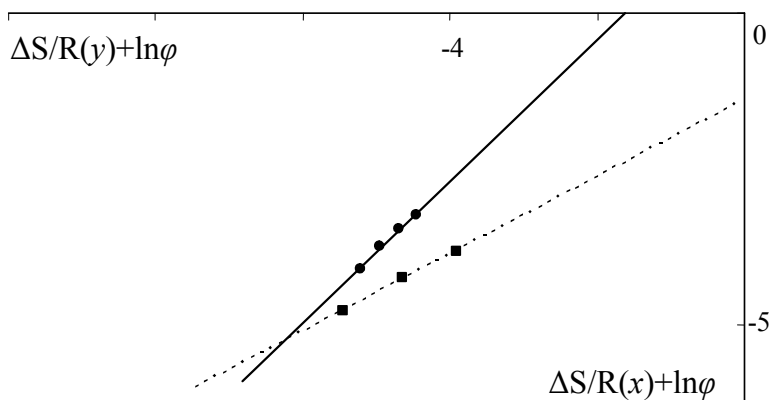


Рис.5. Сопоставление энтропий переноса гомологов различных рядов  
(подписи см. рис.4)

Таким образом, основной причиной различия координат точек конвергенции могут быть энтропийные составляющие, связанные с различиями в типе функциональных групп основы рядов. Возможное объяснение этого явления может быть получено по следующей схеме. К различиям свойств рядов гомологов различных базовых структур можно отнести и сольватацию молекул сорбатов компонентами подвижной фазы. Очевидно, что сольватация алкильных групп будет осуществляться только молекулами органического растворителя,  $S_I$ , в то время как молекулы воды будут концентрироваться в лучшем случае только у функциональных групп основы ряда, причем с большей вероятностью при повышении их полярности. Но тогда сольватная оболочка становится не гомогенной: это эквивалентно уменьшению энтропии сольватированных молекул сорбата  $A$  в подвижной фазе на энтропию смешения компонентов сольватной оболочки. Пусть в простейшем случае алкильный радикал молекулы  $A$  сольватирован  $n$  молекулами  $S_I$  и это число увеличивается на  $\Delta n$  молекул при добавлении метиленовой группы, а основа молекулы сольватирована  $m$  молекулами воды. Энтропия (на 1 моль сорбата  $A$ ) смешения для последовательных гомологов составит (в приближении идеальных и регулярных растворов [16]):

$$\Delta \bar{S}_{см.}(i) = -R \left( (n + \Delta n \cdot i) \cdot \ln \frac{n}{n + \Delta n \cdot i + m} + m \cdot \ln \frac{m}{n + \Delta n \cdot i + m} \right),$$

На рис.6 представлены расчетные данные с использованием параметров, представленных в табл.2.

Таблица 2. Параметры для расчета энтропийных поправок для переноса членов различных рядов гомологов между подвижной и стационарной фазами

№ на рис.3.6	Число молекул $S_I$ , сольватирующих алкильный радикал гомолога, $n$	Число молекул $S_I$ , сольватирующих метиленовую группу, $\Delta n$	Число молекул воды, сольватирующих основу гомологического ряда, $m$
1	4	3	6
2	4	3	3
3	7	3	3

По предложенной модели энтропия сорбатов в подвижной фазе уменьшается, следовательно, численное значение энтропии их переноса в стационарную фазу будет увеличено на энтропию смешения. В целом, по предложенной модели изменение условной энтропии смешения в сольватной оболочке нелинейно зависит от числа метиленовых групп (еще одна причина неэквивалентности последовательных инкрементов, приходящихся на метиленовую группу в гомологических рядах), рис.6.



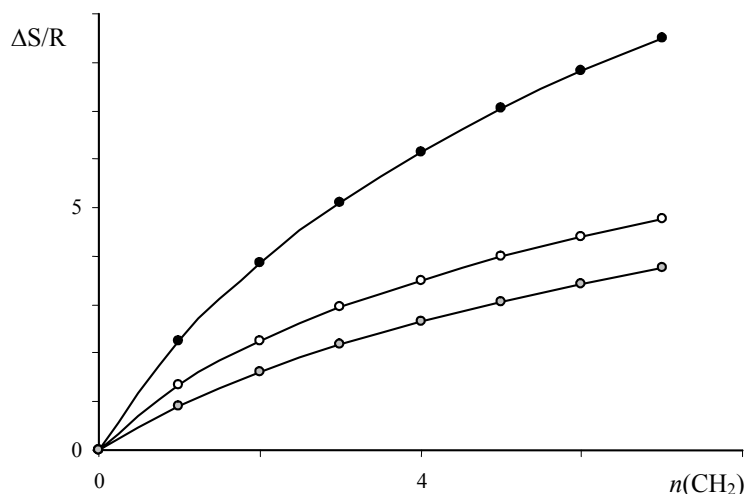


Рис.6. Расчетные значения энтропии смешения для трех рядов гомологов. (параметры, использованные для расчета приведены в табл.2.)

Энтропия смешения существенно меньше зависит от чисел сольватации сорбатов органическим модификатором, но чувствительна к изменению чисел сольватации сорбата молекулами воды. Следовательно, можно предполагать примерно одинаковое изменение энтропии переноса в рядах гомологов – алкилфенолов и алкиланилинов, содержащих по одной сильно полярной функциональной группе, и существенное различие для, например, пары алкиланилины и алкилбензолы (отсутствие гидрофильных групп во втором соединении), что полностью соответствует данным работы [15].

В молекулах триглицеридов, жирнокислотные радикалы которых не содержат полярных функциональных групп, осложнения, вызванные различием энтропий смешения, будут отсутствовать. Однако к гомологам (особенно для ацетонитрил – ацетоновых подвижных фаз) можно отнести только те триглицериды, в которых имеется одинаковое число двойных связей, причем в одинаковой - *цис*-конфигурации (для исключения возможного влияния особенностей пространственного строения).

Рассмотрим, например, триглицериды состава  $L_2X$ , в которых имеется два постоянных радикала (линолевой кислоты,  $L$ ) и только один радикал ( $X$ ) изменяется. Поиск таких образцов в сумме триглицеридов масел обычно не вызывает затруднений. В данной работе исследовано удерживание триглицеридов, содержащих радикалы:

- моноеновых кислот ( $C18:1^{9c}$  и  $C20:1^{11c}$  - в масле семян дельфиниума [17], рис.7а,  $C22:1^{13c}$  – в масле семян настурции [18]),
- диеновых ( $C18:2^{9c12c}$  и  $C20:2^{11c14c}$  – в масле семян нигеллы, [17], рис.7б) и
- триеновых ( $C18:3^{9c12c15c}$  - в льняном масле [19], и  $C18:3^{6c9c12c}$  – в масле семян энотеры двухлетней [20], рис.7).

В качестве реперного соединения был использован трилинолеат,  $L_3$ , рис.8. Для сравнения исследовали также удерживание триглицерида, содержащего циклопропеновую (мальвовую) кислоту (из масла семян лаватеры, рис.7г), и эпокси-кислоту масла семян осота огородного [21].

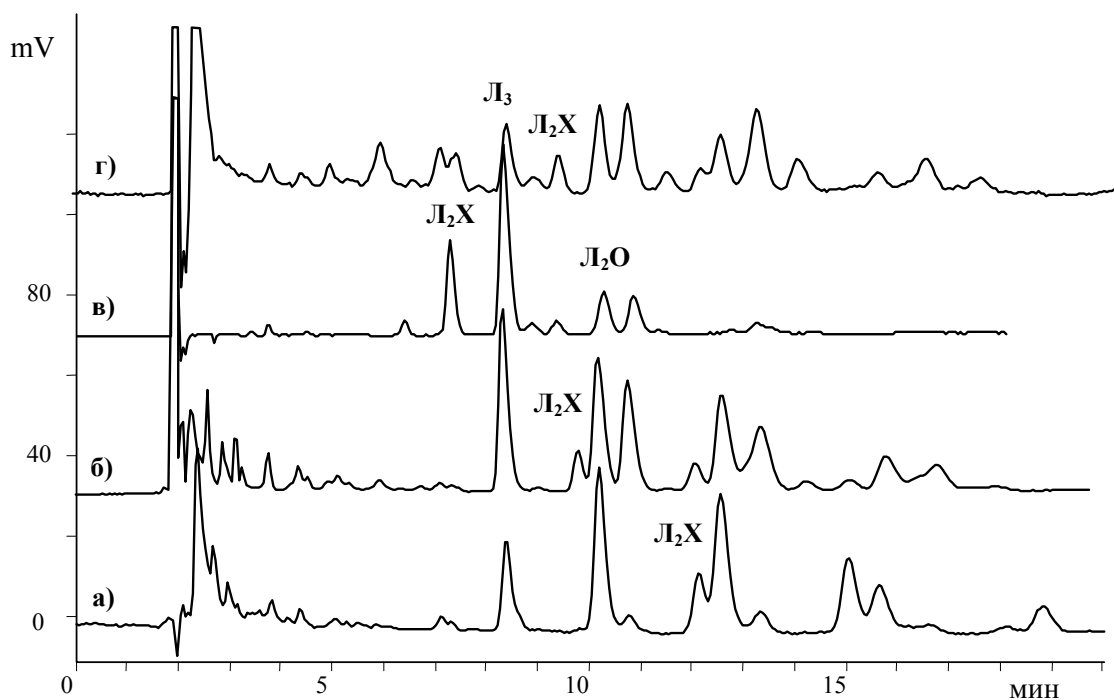


Рис.7. Разделение триглицеридов масел семян дельфиниума (а), нигеллы (б) и энотеры двухлетней (в), лаватеры (г).

Колонка: 250×4 мм, Диасфер-110-С18, 5 мкм; подвижная фаза 20 об % ацетонитрила в ацетоне, 1 мл/мин. Детектор – рефрактометрический

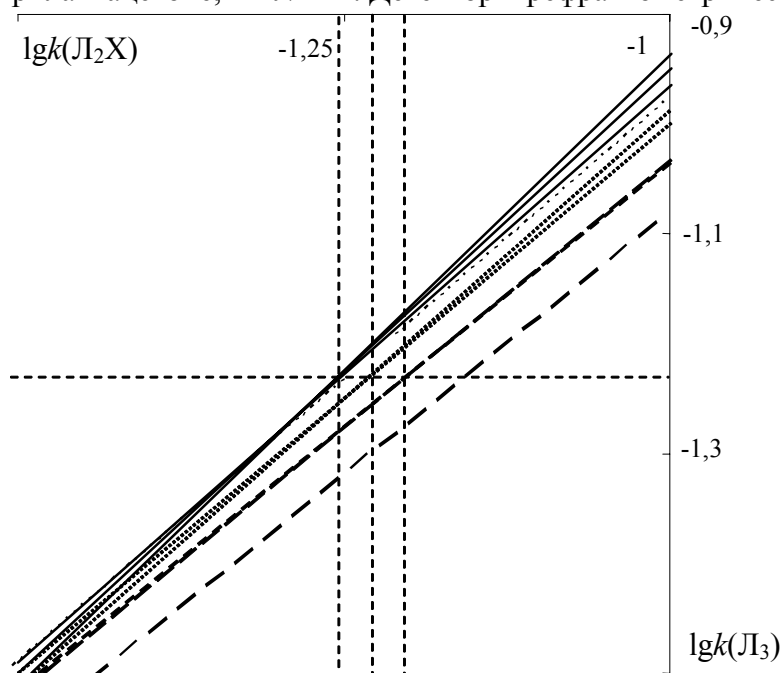


Рис.8. Удерживание триглицеридов Л<sub>2</sub>Х относительно Л<sub>3</sub> (часть 2)

Радикалы X = — - моноеновых, ..... - мальвовой, - - - эпокси-, - · - диеновых, - - - - триеновых кислот

Удерживание исследованных триглицеридов состава Л<sub>2</sub>Х линейно зависели относительно Л<sub>3</sub> в диапазоне подвижных фаз, содержащих от 5 до 20 об. % ацетонитрила в ацетоне в единицах логарифмов факторов удерживания. Но более

интересна в данном случае та часть карты разделения, в которой происходит пересечение полученных прямых линий, рис.8.

В этой части все триглицериды разделились на группы по числу двойных связей в радикале X: моноеновые, диеновые и триеновые. Тенденция изменения абсциссы точки конвергенции пропорционально числу двойных связей в радикале позволяет предложить очевидный хроматографический метод определения строения (т.е. установления числа двойных связей) радикалов жирных кислот – по принадлежности к группе гомологов. Отметим, что для циклопропеновой кислоты (*мальвовой* - октадека-8,9-метилен-8-еновой) линия тренда соответствующего триглицерида также проходит через точку конвергенции для моноеновых радикалов X. Но если X – радикал *эпокси*-кислоты, то поведение соответствующей линии не похоже на поведение полиеновых радикалов (интенсивная пунктирная линия на рис.8).

## Выводы

В работе показаны преимущества использования метода относительного анализа удерживания на примере триглицеридов растительных масел. Во-первых, экспериментально показано, что карта разделения триглицеридов, как мало полярных веществ, практически не зависит от типа использованной стационарной фазы, что открывает возможность использования данных, полученных с использованием труднодоступного оборудования. Во-вторых, показана возможность оценки взаимодействий сорбата с компонентами подвижной фазы при сопоставлении относительного удерживания сорбатов в различных элюентных системах. Приведен вариант объяснения энтропийных различий в удерживании членов различных гомологических рядов. Наконец, предложен метод анализа, позволяющий оценивать число двойных связей в жирнокислотных радикалах триглицеридов.

## Список литературы

1. Stolychwo A., Collin H., Guiochon G. Analysis of triglycerides in oils and fats by liquid chromatography with the laser light scattering detector // *Anal. Chem.* 1985. V.57. P. 1342-1354.
2. Podlaha O., Töregård B. Some new observations on the equivalent carbon numbers of triglycerides and relationship between changes in equivalent carbon numbers and molecular structure // *J. Chromatogr.* 1989. V.482. P. 215-226.
3. Lin J.-T., Snyder L.R., McKeon T.A. Prediction of relative retention times of triacylglycerols in nonaqueous reversed-phase high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 1998. V.808. P. 43-49.
4. Christie W.W. Some recent advances in the chromatographic analysis of lipids // *Analisis magazine.* 1998. V.26. N3. P. M34-M40.
5. Дейнека В.И., Староверов В.М., Фофанов Г.М., Балятинская Л.Н. Инкрементный подход при определении состава триглицеридов. // *Хим.-фарм. ж.* 2002, Т.36. №7. С. 44-47.
6. Дейнека В.И., Фофанов Г.М., Хлебников В.А., Балятинская Л.Н. Инкрементный подход в расчете жирнокислотного состава триглицеридов. // *Хранение и переработка сельхозсырья.* 2002. №11. С.20-23.

7. Дейнека В.И. Экспериментальное обоснование метода относительного анализа удерживания в ВЭЖХ // Ж. физ. химии. 2006. Т.80. №3. С. 507-510.
8. Дейнека В.И. Карта хроматографического разделения и инкрементные зависимости в методе относительного анализа удерживания в ВЭЖХ // Ж. физ. химии. 2006. Т.80. №3. С. 511-516.
9. Дейнека В.И. Метод относительного анализа удерживания в ВЭЖХ. Сопоставление инкрементных зависимостей // Ж. физ. химии. 2006. Т.80. №4. С. 704-708.
10. Дейнека В.И., Староверов В.М., Фофанов Г.М., Балятинская Л.Н. Инкрементный подход при определении состава триглицеридов // Хим.-фарм. ж. 2002, Т.36. №7. С. 44-47.
11. Rimmer C.A., Simmon C.R., Dorsey. The measurement and meaning of void volumes in reversed-phase liquid chromatography // J. Chromatogr. A. 2002. V.965. P. 219-232.
12. Дейнека В.И. Метод анализа относительного удерживания в ВЭЖХ. Определение, применения и роль параметра  $\lg P$  системы *n*-октанол – вода. // Ж. физ. химии. 2006. Т.80. №6. С. 1083-1088.
13. Дейнека В.И. Метиленовая селективность в условиях обращенно-фазовой хроматографии одного ряда гомологов // Сорбц. и хроматогр. процессы. 2007. Т.7. Вып.2. С. 236-243.
14. Colin H., Krstulović A.M., Gonnord M.-F., Guiochon G. Investigation of selectivity in reversed-phase liquid chromatography – effects of stationary and mobile phases on retention of homologous series. // Chromatographia. 1983. V.17(1). P. 9-15.
15. Chen Z., Nakayama T., Nakagama T., Uchiyama K., Hobo T. Thermodynamic approaches to intermolecular interaction and retention behaviour in liquid chromatography. // J. Liq. Chromatogr. RT. 2003. V.26(1). P. 2809-2839.
16. Дуров В.А., Агеев Е.П. Термодинамическая теория растворов. М.: Едиториал УРСС. 2003. 248 с.
17. Deineka V.I., Sirotin A.A., Ospishcheva N.V. Type Composition of Triglyceride Seed Oils. III. Triglycerides from Certain Plants of the Ranunculaceae Family // Chem. Nat. Comp. 2004. V.40(3). P. 295-296.
18. Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Фофанов Г.М., Балятинская Л.Н. Идентификация жирных кислот в составе триглицеридов масел семян растений с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ. // Растит. ресурсы. 2004. Т.40. №1. С. 104-112.
19. Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Габрук Н.Г., Фофанов Г.М., Манохина Л.А., Сидельникова Н.А. Анализ растительных масел с использованием ВЭЖХ. // Ж. аналит. химии. 2003. Т.58. №12. С. 1294-1299.
20. Дейнека В.И., Шапошников А.А., Дейнека Л.А., Сорокопудова О.А., Федлюк П.П., Сорокопудов В.Н. Эссенциальные жирные кислоты в растениях Белгородской флоры // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина и фармация. 2006. №3(23). Вып.4. С. 30-39.
21. Дейнека В.И., Дейнека Л.А. Инкрементный подход в анализе каротиноидов методом ОФ ВЭЖХ. Разделение дизэфиров ксантофиллов. // Сорбц. и хроматограф. процессы. 2006. Т.6. №3. С. 366-375

---

**Method of the relative retention analysis: reversed-phase HPLC of triglycerides**

V.I. Deineka, L.A. Deineka, A.V. Turtygin

*The Belgorod State University, 308015 Belgorod, Pobeda str. 85 Russia*

In the paper, opportunities and advantages of a method of relative retention analysis are shown by the example of reversed-phase HPLC of vegetable oils triglycerides (TG). It is experimentally shown, that the triglycerides resolution map as less polar substances, practically do not depend on the type stationary phase under investigation that indicates the insignificant contribution of solute - residual silanol-group interaction into a total TG retention as well as opens an opportunity of use of the data received with use of the remote equipment. The opportunity of the generalized estimation of specificity of solute interactions with components of a mobile phase has been shown by comparison of relative retention analysis in various mobile phase systems. It is shown, that the increment inequality for homologues of various series correlates with an inequality of entropy members of a solute distribution process between a mobile phase and stationary phases; a possible explanation of the phenomenon been proposed. At last, the method of the analysis is offered, allowing the estimation of a number of double bonds in fatty acid radicals of TG on coordinates of a convergence point.

*Ключевые слова: обращено-фазовая ВЭЖХ, триглицериды*