



УДК 543.5

Алгоритм оптимизации градиентного элюирования в ионной хроматографии

Прудковский А.Г.

Институт геохимии и аналитической химии им. В.И.Вернадского, Москва

Поступила в редакцию 23.08.2012 г.

Аннотация

Построена математическая теория для нахождения оптимального режима элюирования в ионной хроматографии, основанная на обобщении понятия «динамической карты хроматографической системы». На основании развитой теории построен алгоритм оптимизации, который реализован в виде компьютерной программы. Приведён численный расчёт модельной хроматограммы до и после оптимизации.

Ключевые слова: алгоритм, оптимизация, высокоэффективная градиентная ионная хроматография, динамическая карта хроматографической системы

The mathematical theory for finding the optimal elution in ion chromatography, based on the generalization of the concept of "dynamic map of the chromatographic system" was developed. Based on the theory we have developed an algorithm for optimization, realized as a computer program. Numerical model of the chromatogram is calculated before and after optimization.

Keywords: algorithm, optimization, high-gradient, ion chromatography, dynamic map of the chromatographic system

Введение

В работах [1-3] рассмотрены принципы и возможности подхода к моделированию ионной хроматографии (ИХ), базирующегося на достижениях теории динамики сорбции, адаптированной к особенностям ионной хроматографии. В результате компьютерного моделирования была разработана программа IonChrom[©] [4]. С ее помощью были рассмотрены прямая, оптимизационная и обратная задачи многоколоночной ИХ с изократическим, то есть постоянным режимом элюирования [5, 6].

Современные технические средства позволяют с достаточной воспроизводимостью характеристик удерживания осуществлять не только изократическое, но и градиентное элюирование, являющееся удобным способом анализа смесей, сильно различающихся по удерживанию компонентов [7]. В работах по моделированию градиентной хроматографии [8, 9] разрабатываются простые модели удерживания, позволяющие рассчитывать только однокомпонентные элюенты и линейные градиенты. Кроме того, в них уделяется недостаточно внимания вопросам кинетического описания, что не позволяет эффективно

предсказывать критерии разделения исследуемых компонентов в переменных режимах элюирования. Кинетическое описание градиентной хроматографии, данное в наших работах [10-13], позволило создать алгоритм оптимизации градиентного режима ионной хроматографии, предлагаемый в данной работе.

Краткие сведения о математической модели ИХ

Уравнения динамики сорбции в линейном приближении, характерном для процесса ИХ в разделяющей колонке, имеют вид [1]:

$$\theta_i \frac{\partial a_i}{\partial t} = \Gamma_i c_i - a_i ; \quad \varepsilon \frac{\partial c_i}{\partial t} + v \frac{\partial c_i}{\partial l} + \frac{\partial a_i}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} \left(D_{li} \frac{\partial c_i}{\partial l} \right); \quad (1)$$

где t и l — время и координата вдоль колонки, $l \leq L$, где L - длина разделяющей колонки; c_i - мольная концентрация компонента пробы на единицу объема подвижной фазы (ПФ, элюента); a_i - мольная концентрация сорбированного вещества пробы на единицу объема колонки; θ_i - характерное время сорбции, определяемое коэффициентами внешней и внутренней диффузии, размерами зерен сорбента и их внутренним строением; ε - порозность – доля объема в колонке подвижной фазы; $\frac{v}{\varepsilon} = \frac{4w}{\varepsilon \pi d^2}$ - линейная скорость ПФ в колонке с диаметром d при скорости потока w ; D_{li} - коэффициент продольной диффузии; Γ_i - коэффициент распределения i -ого компонента пробы. Для «простого» компонента пробы коэффициент распределения выражается формулой:

$$\Gamma_i = K_i^{z_i} \varphi^{-z_i}, \quad (2)$$

где K_i - константа ионного обмена i -го компонента пробы на некоторый однозарядный ион сравнения, z_i — заряд ионов пробы в атомных единицах, φ — сила элюента, которая определяется его качественным и количественным составом [2].

В градиентных режимах сила элюента зависит от времени $\varphi = \varphi(t)$. Важными характеристиками, описывающие этот процесс, являются интегралы от степеней силы элюента:

$$r_z(t) = \int_0^t \varphi^z(\xi) d\xi \quad (3)$$

В работах [11-13] развита теория моментов для решения систем типа (1) и получены выражения для первых двух моментов решения. Уравнение для первого момента приводится к виду:

$$l_i(t) = v \int_0^t \frac{d\xi}{\Gamma_i(\xi)} = \frac{v}{K_i^{z_i}} \int_0^t \varphi^{z_i}(\xi) d\xi = \frac{v}{K_i^{z_i}} r_{z_i}(t) \quad (4)$$

Обратная функция $t_i(l)$, найденная из (4), определяет относительное время прохождения зоны i -ого компонента через точку l , при $l = L$ функция $t_i(L)$ численно совпадает с исправленным временем удерживания i -го компонента t'_i ,

равным разности времени удерживания пика t_i и t_0 — времени выхода свободного объёма хроматографической системы: $t'_i = t_i - t_0$.

Формула для второго момента решения:

$$\sigma_i^2 = \frac{\Gamma_i^2(t'_i) t'_i}{v} \int_0^{t'_i} h_i(t) \frac{[\Gamma_i(t) + \varepsilon]^2}{\Gamma_i^3(t)} dt = \frac{\varphi^{2z_i}(t'_i) t'_i}{K_i^{z_i} v} \int_0^{t'_i} h_i(t) (K_i^{z_i} + \varepsilon \varphi^{z_i}(t))^2 \varphi^{z_i}(t) dt \quad (5)$$

определяет временную дисперсию i -го пика пробы на выходе из разделяющей колонки; h_i - высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ), является локальной величиной:

$$h_i(t) = \frac{2v\Gamma_i(t)\theta_i(t)}{[\Gamma_i(t) + \varepsilon]^2} + \frac{2D_{li}(t)}{v} \quad (6)$$

ВЭТТ удобна в вычислениях тем, что она сравнительно медленно изменяется при вариациях коэффициента распределения Γ_i , в последующих вычислениях мы будем пренебрегать зависимостью ВЭТТ от времени, считая величину h_i константой, отношение $L/h_i = N_i \gg 1$ - «число теоретических тарелок» определяет эффективность разделительной колонки в хроматографе.

Ширина пика на середине высоты $\tau_i = \sigma_i 2\sqrt{2 \ln 2}$ используется при оценке степени разделения R_{ij} близких пиков:

$$\tau_i = \sigma_i 2\sqrt{2 \ln 2} = \varphi^{z_i}(t'_i) 2\sqrt{\frac{2 \ln 2}{K_i^{z_i} v} \int_0^{t'_i} h_i(t) (K_i^{z_i} + \varepsilon \varphi^{z_i}(t))^2 \varphi^{z_i}(t) dt} \quad (7)$$

$$R_{ij} = \frac{|t'_i - t'_j|}{\tau_i + \tau_j} \quad (8)$$

Для вычисления R_{ij} здесь используется упрощённая формула, не учитывающая степень отношения высот близких пиков:

Если состав элюента постоянен во времени, то такой хроматографический режим называется изократическим; при этом формулы (4, 5, 7, 8) упрощаются:

$$L = \frac{v}{\Gamma_i} t'_i = \frac{\varphi^{z_i}}{K_i^{z_i}} v t' \Rightarrow t'_i = \frac{L}{v} \frac{K_i^{z_i}}{\varphi^{z_i}};$$

$$\sigma_i^2 = h_i \frac{(\Gamma_i + \varepsilon)^2}{v\Gamma_i} t'_i = L h_i \frac{(\Gamma_i + \varepsilon)^2}{v^2} = \frac{1}{N_i} (\Gamma_i + \varepsilon)^2 \frac{L^2}{v^2} \quad (9)$$

$$\tau_i = \sigma_i 2\sqrt{2 \ln 2} = 2 \frac{\sqrt{2 \ln 2}}{\sqrt{N_i}} (\Gamma_i + \varepsilon) \frac{L}{v} = 2 \frac{\sqrt{2 \ln 2}}{\sqrt{N_i}} \frac{K_i^{z_i} + \varepsilon \varphi^{z_i}}{\varphi^{z_i}} \frac{L}{v} = 2 \frac{\sqrt{2 \ln 2}}{\sqrt{N_i}} \frac{K_i^{z_i} + \varepsilon \varphi^{z_i}}{\varphi^{z_i}} t'_i \quad (10)$$

$$R_{ij} = \frac{|K_i^{z_i} - K_j^{z_j}|}{2\sqrt{2 \ln 2} \left(\left(K_i^{z_i} + \varepsilon \varphi^{z_i} \right) / \sqrt{N_i} + \left(K_j^{z_j} + \varepsilon \varphi^{z_j} \right) / \sqrt{N_j} \right)} \quad (11)$$

Динамическая карта хроматографической системы

Описание изократического режима можно представить в виде графика — динамической карты хроматографической системы (ДКХС). ДКХС удобна как характеристика и инструмент исследования хроматографической системы. На рис. 1 показана ДКХС для смеси неорганических анионов в модельной системе с характеристиками хроматографа фирмы DIONEX [7].

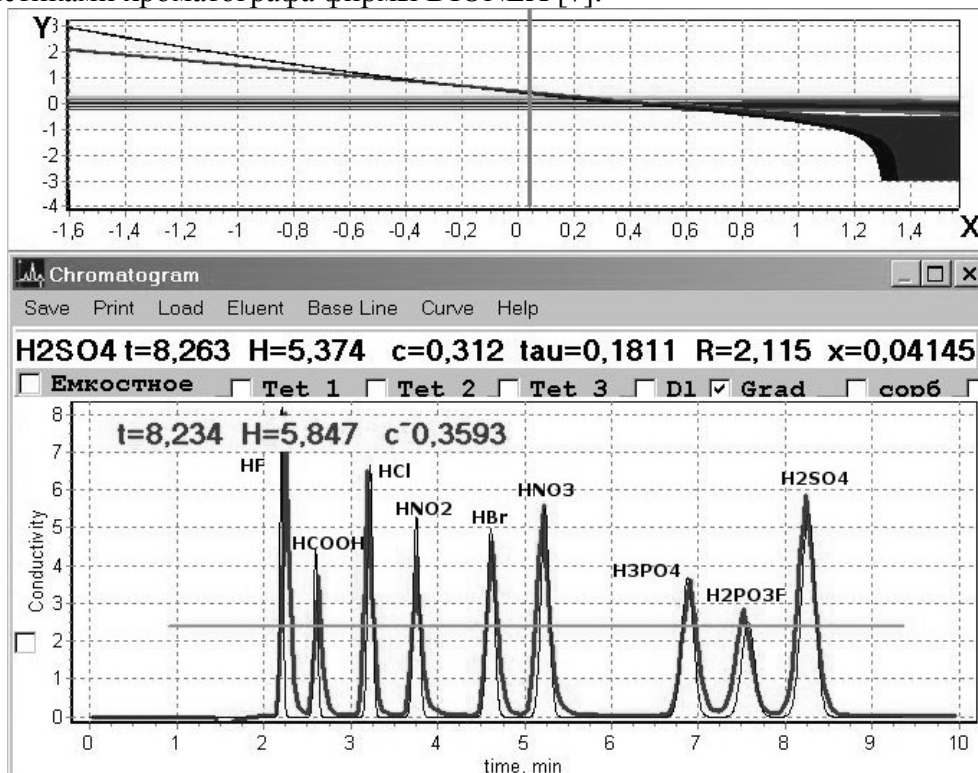


Рис. 1. Динамическая карта хроматографической системы и хроматограмма, полученная в хроматографе на разделяющей колонке 180x3 мм с сорбентом со структурой поверхностно-привитого ионита AS-14a, зернением 5 ± 0.5 мкм, и толщиной оболочки 140 нм, емкостью 0.038 мэкв/мл; подавитель-электродиализатор ASRS-ULTRA2-мм; элюент: 8.0 мМ Na_2CO_3 / 1.0 мМ NaHCO_3 (pH=10.82), расход элюента 0.5 мл/мин., логарифм силы элюента $x = 0.4145$; для сравнения толстой линией на график нанесена экспериментальная кривая, полученная на хроматографе фирмы DIONEX [7]. Над хроматограммой выведены параметры последнего пика H_2SO_4 .

В качестве аргумента на динамической карте используется $x = \lg \varphi$, где φ — сила элюента, вторым независимым аргументом является водородный показатель pH , так что ДКХС представляет собой сечение зависимости $y(x, pH)$ плоскостью $pH = const$. На оси ординат (ось y) откладывается логарифм относительного удерживания, за нуль принята характеристика опорного однозарядного компонента с единичной константой обмена $K_O = 1$:

$$y_i = \lg(\Gamma_i / \Gamma_O) = \lg(t'_i / t'_O) = \lg(K_i^z \varphi^{1-z}) \quad (12)$$

Каждому компоненту пробы на ДКХС соответствует полоса, построенная вокруг средней линии $y_i(x)$. Границы полосы связаны с характеристиками

хроматограммы — исправленным временем удерживания t'_i и полушириной пика τ_i — выражением:

$$y_{i\pm} = y_i + \lg(1 \pm \delta_i), \quad \delta_i = R\tau_i/t'_i \ll 1, \quad (13)$$

где R — требуемая степень (критерий) разделения пиков. Зоны пересечения полос на ДКХС соответствуют пикам на хроматограмме, не разделенным в необходимой степени. Средние линии полос, обозначающих компоненты пробы на ДКХС, согласно (2, 9) описываются в изократике уравнением:

$$y_i = z_i \lg K_i - (z_i - 1)x, \quad (14)$$

где учтены единичные значения константы и заряда для опорного иона. Исправленное время связано с координатами карты формулой:

$$\lg t = \lg \frac{L}{v} + y - x \quad (15)$$

Отметим, что на ДКХС можно отразить только исправленное (или смещенное) время - время, отличающееся от значений на хроматограмме на постоянную величину мертвого времени t_0 . Это замечание важно для понимания отсутствия какого-либо влияния на результат хроматографии начального объема ПФ, выходящего из колонки за время t_0 .

Из уравнений (14, 15) следует, что ионы с различающимися зарядами всегда можно разделить, подобрав соответствующий режим на динамической карте, так как их полосы идут под разными углами и пересекаются только в окрестности одной точки. Также можно заметить, что с разных сторон от точки пересечения средних линий лежат области режимов с разным порядком выхода этих компонентов.

Средние линии двух одинаково заряженных ионов пробы параллельны, так что их последовательность выхода не может быть изменена. От величины силы элюента зависит только ширина полос. В силу формулы (11) степень разделения таких компонентов убывает с ростом силы элюента и с некоторого критического значения перестаёт удовлетворять заданной степени разделения R . Таким образом, на изократической ДКХС можно легко найти запрещённые интервалы на оси x (отрезки пересечения полос в случае разнозарядных ионов и полупрямые – в случае однозарядных), остальные области – будут разрешёнными для задания изократического режима элюирования, причём оптимальным по времени в каждой такой подобласти в силу (15) будет её правая граница, определяемая точкой пересечения полос двух или более критичных компонентов.

Траектория хроматографического опыта на динамической карте

Траектория какого-либо хроматографического опыта на ДКХС — это линия, пересечение которой с полосами компонентов соответствует их пикам на хроматограмме этого опыта. В частности, значения времени для точек пересечения траектории со средними линиями полос равны исправленным временам удерживания соответствующих компонентов. Траектория задается в виде параметрической зависимости координат карты от времени для изократических режимов это прямая вертикальная линия $x = \lg \varphi$, заметим, что для ионов единичного заряда $y = \lg K$. Это соотношение можно взять для определения параметрического задания траектории режима на карте:

$$x(t) = \lg \varphi(t); y(t) = -\lg \frac{L}{v} + \lg r_1(t) \quad (16)$$

Подставляя (4, 12) в соотношение (16), получим координаты на карте для произвольного компонента (K_i, z_i):

$$x(t) = \lg \varphi(t); y_i(t) = z_i \lg K_i - \lg r_{z_i}(t) + \lg r_1(t), \quad (17)$$

Уравнение (17) эквивалентно уравнению (14) для изократики и для единичных зарядов, как и ожидалось, получаем $y = \lg K_i$. Для построения полос на карте в переменном режиме осталось определить временную координату на карте, найти соотношение аналогичное (15). Действовать будем также, как в изократике, проводя вертикальные линии постоянного режима над каждой точкой x , но если в изократике эти линии рассчитываются от нулевого момента времени, то на градиентной карте - от некоего произвольного момента времени t_x , связанного с координатой x соотношением $x = \varphi(t_x)$. Итак, зададим траекторию совпадающей с заданной до момента t_x , а далее – вертикальную линию $x = \varphi(t_x)$ и найдём время удерживания компонента с единичным зарядом и константой обмена K , тогда вертикальная координата по определению будет иметь значение $y = \lg K$, а время можно будет найти из уравнения:

$$y = -\lg \left(\frac{L}{v} \right) + \lg [r_1(t_x) + 10^x(t - t_x)], \quad (18)$$

Заметим, что в случае изократики $r_1(t_x) = 10^x t_x$ и формула (18) переходит в формулу (15). Таким образом, для каждого значения x , принадлежащего траектории (16), с помощью соотношения (18) можно найти зависимость между координатами (x, y, t), время удерживания компонента можно найти из уравнения (17), которое при постоянстве режима при $t > t_x$ будет иметь вид:

$$x = \lg \varphi(t_x), \quad (19)$$

$$y_i(t) = z_i \lg K_i - \lg [r_{z_i}(t_x) + \varphi^{z_i}(t_x)(t - t_x)] + \lg [r_1(t_x) + \varphi(t_x)(t - t_x)]$$

Уравнения (18 - 19) задают центр полосы на градиентной ДКХС, а с помощью (7, 8, 13) можно найти ширину полосы. Сложность расчёта ДКХС в градиентном режиме связана с расчётом интегралов $r_z(t)$, заданными в (3), их можно рассчитывать численно, однако, для кусочно-линейных режимов принятых в хроматографии, когда сила элюента $\varphi(t)$ является кусочно-линейной функцией, интегралы (3), а вместе с ними и формулы (7, 8, 13, 16 - 19) могут быть вычислены аналитически.

Алгоритм оптимизации градиентной ионной хроматографии

В рамках компьютерной программы Ionchrom [4], реализована функция построения градиентной ДКХС, которая позволяет вручную, в полуавтоматическом режиме, выбирать режимы работы хроматографа. В рамках той же программы реализован упрощенный **двухкомпонентный** алгоритм градиентной оптимизации, основанный на математической теории оптимизации режимов хроматографии для двух компонентов (см. Приложение). Так в лемме П1 доказано, что усиление элюента после выхода первого компонента сохраняет неизменным критерий

разделения (8), но уменьшает общее время анализа, в леммах П2-П5 приложения доказано, что для двух компонентов на отрезке от начала опыта до момента выхода первого из двух компонентов оптимальным по времени при заданной степени разрешения является изократический режим. На основании лемм, доказанных в приложении, можно построить методику **двухкомпонентный** градиентной оптимизации, состоящей из следующих шагов:

1. Изократическая оптимизация, состоящая в том, что на оси абсцисс ДКХС находятся все разрешённые интервалы (для изократических режимов) и в качестве оптимального режима выбирается самая правая точка выбранного интервала, то есть максимально сильный элюент на разрешённом участке.

2. Второй этап оптимизации состоит в выборе критичных компонентов на выбранном интервале. Если этих компонентов одна пара, то выбор единственный, если несколько, то выбор зависит от нашего желания сохранять или не сохранять последовательность выхода компонентов. В первом случае берётся самая верхняя (по оси y) пара, во втором – самая нижняя.

3. Из точки выхода первого компонента $t = t_1$ выбранной критической пары строим на ДКХС линию максимального градиента α по формулам (3, 16):

$$r_1(t) = \int_0^t \varphi(t) dt = r_1(t_1) + \varphi(t_1)(t - t_1) + \frac{\alpha}{2}(t^2 - t_1^2); x(t) = \lg \varphi(t);$$

$$y(t) = -\lg \frac{L}{v} + \lg r_1(t)$$
(20)

4. Перерисовываем карту в соответствии с формулой (19), исключая из рассмотрения те компоненты, которые уже вышли из хроматографа, затем возвращаемся к первому пункту оптимизации, проводя изократическую оптимизацию на вновь построенной карте над линией максимального градиента с оставшимися компонентами.

5. После перебора всех критичных компонентов мы получаем результирующий оптимальный режим элюирования.

Обсуждение результатов

Предложенный **двухкомпонентный** алгоритм градиентной оптимизации, позволяет автоматически выбирать оптимальные режимы элюирования в соответствии с вышеописанным алгоритмом. В качестве примера на рис. 2 приведём результаты модельной оптимизации хроматографического эксперимента, представленного ранее на рис. 1.

Представленный в работе **двухкомпонентный** алгоритм эффективен и может быть использован для моделирования реальных задач, однако он не исчерпывает все возможности, которые даёт для оптимизации градиентная ДКХС. Одновременный учёт нескольких компонентов на градиентной ДКХС позволяет находить и более сложные режимы градиентной оптимизации задачи. Так, например, с помощью режима с переменным усилением и ослаблением элюента в некоторых случаях возможно добиться разрешения пиков на «запрещённых» участках ДКХС.

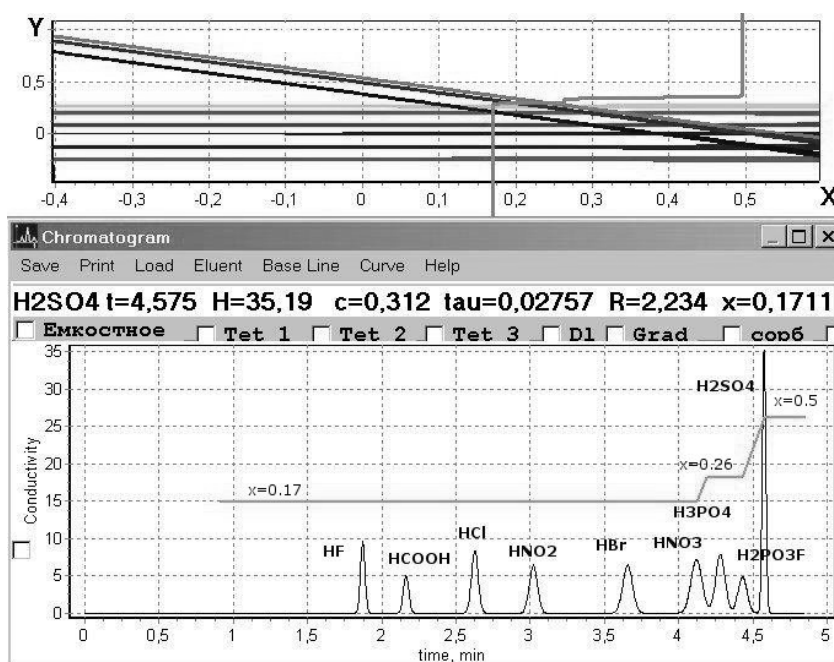


Рис. 2. Условия эксперимента повторяют условия предыдущего расчёта, показанные на рис.1, однако сила элюента и его кислотность pH – переменны. Результирующая траектория эксперимента нанесена серой линией на верхний график ДКХС, а сила элюента – в виде серой линии на хроматограмму. На хроматограмме виден результат воздействия градиентной фокусировки в соответствии с формулой (5) на последний пик хроматограммы.

Список литературы

1. Долгоносов А.М., Сенявин М.М., Волощик И.Н. Ионный обмен и ионная хроматография // М: Наука, 1993. 222 с.
2. Долгоносов А.М., Ипполитова О.Д. Расчет и оптимизация хроматографического разделения смесей ионов // Журн. аналит. химии. 1993. Т.48, №8. С.1361-1372.
3. Прудковский А.Г., Долгоносов А.М. Теория ионной хроматографии: универсальный подход к описанию параметров пика // Журн. аналит. химии. 1999. Т.54, №2. С. 118-122.
4. Прудковский А.Г., Долгоносов А.М. Программа для моделирования ионной хроматографии IONCHROM. // Роспатент: свид. № 2000610520 (РФ), выд. 19.06.2000.
5. Долгоносов А.М., Прудковский А.Г. Программа адекватного моделирования IONCHROM - эффективное средство решения практических задач ионной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2002. Т.57, №12. С. 1276-1283.
6. Долгоносов А.М., Прудковский А.Г., Колотилина Н.К. Прямая и обратная задачи моделирования градиентной ионной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2007. Т.62, №11. С. 1162-1171.
7. Dionex Catalog, www.dionex.com
8. Madden J.E., Avdalovic N., Haddad P.R., et al. Prediction of retention times for anions in linear gradient elution ion chromatography with hydroxide eluents using artificial neural networks // J. Chromatogr. A. 2001. V.910, No 1. P. 173-179.

9. Lloyd R. Snyder, John W. Dolan, High-performance gradient elution (The practical application of the linear-solvent-strength model). Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2007.

10. Прудковский А.Г. Ширина пика пробы в градиентной ионной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2008. Т.63, № 2. С. 184-188.

11. Прудковский А.Г. Теоретическое описание градиентной высокоэффективной хроматографии на основе метода статистических моментов // Сорбц. хроматогр. процессы. 2011. Т. 11, № 3. С. 323-334.

12. Прудковский А.Г. Асимптотическое решение системы уравнений высокоэффективной хроматографии для мультисорбентных систем // Математическое моделирование. 2011. Т. 23, №8, С. 3-18.

13. Прудковский А.Г. Метод моментов в применении к системе уравнений высокоэффективной колоночной хроматографии систем // Математическое моделирование. 2012. Т. 24, №5. С. 81-96.

Приложение

Математическая теория оптимизации разделения двух компонентов

Выбор режима оптимизации хроматографического процесса обычно ограничен теми или иными параметрами аппаратуры, например, быстродействием смесителя, изменяющего параметры элюента, химическими ограничениями на свойства элюента, например, ограничение силы элюента. Все эти ограничения учитываются в результирующем алгоритме оптимизации, однако, имеет смысл рассмотреть сначала задачу построения некоего «идеального» оптимального процесса, к которому может стремиться реальный процесс. Рассмотрим оптимизацию разделения двух произвольных компонентов. Покажем, что оптимальным режимом для разделения двух компонентов является изократический режим до момента выхода первого компонента, а далее – режим с максимальным усилением элюента.

Целью оптимизации будем считать минимизацию времени анализа (П1) при заданном критерии разрешения (8) этих двух компонентов $R_{12} = \frac{|t'_2 - t'_1|}{\tau_1 + \tau_2} \leq R$ и пусть $t'_2 > t'_1$.

Заметим, что любые изменения элюента после выхода первого пика влияют только на время удерживания второго пика. Этот факт можно использовать для оптимизации общего времени анализа:

$$t_a = t'_2 + \tau_2 \quad (\text{П1})$$

Лемма П1

Ступенчатое изменение силы элюента в момент времени удерживания первого компонента t_1 в первом приближении не меняет критерий разделения со вторым компонентом, изменяя пропорционально только разность их времён удерживания и сумму полуширин.

Доказательство

Действительно, пусть в момент выхода первого компонента t'_1 сила элюента равняется величине φ_1 , тогда ступенчатое изменение силы элюента в этот момент до значения φ_2 в первом приближении не меняет критерий разделения со вторым компонентом, изменяя пропорционально в силу (4, 7) только разность их времён удерживания и сумму полуширин:

Время анализа $t_a = t'_2 + \tau_2$ в силу (П2) изменится на величину:

$$\tilde{t}_a \approx t'_1 + (t'_2 - t'_1 + \tau_2)\varphi_1 / \varphi_2 \quad (\text{П3})$$

Докажем соотношения (П2). Если формулы $\tilde{t}'_2 - t'_1 = (t'_2 - t'_1)\varphi_1/\varphi_2$ и $\tilde{\tau}_1 \approx \tau_1\varphi_1/\varphi_2$ следуют непосредственно из формул (4, 7), то оценку $\tilde{\tau}_2 \approx \tau_2\varphi_1/\varphi_2$ следует доказать. Для простоты будем считать, что до момента времени t'_1 режим элюирования был изократическим с силой φ_1 , а после – тоже изократический, но с силой φ_2 , тогда согласно формуле (9) имеем:

$$L = \frac{\varphi_1^{z_1}}{K_1^{z_1}} v t'_1; \quad t'_1 = \frac{LK_1^{z_1}}{v\varphi_1^{z_1}}; \quad l = \frac{v\varphi_1^{z_2}}{K_2^{z_2}} t'_1; \quad \text{где } t'_1 + R\tau_1 = t'_2 - R\tau_2$$

$$t'_2 = \frac{LK_2^{z_2}}{v\varphi_1^{z_2}}; \quad t'_2 = \frac{\varphi_1^{z_1} K_2^{z_2}}{\varphi_1^{z_2} K_1^{z_1}}; \quad \tilde{t}'_2 = \frac{LK_2^{z_2}}{v\varphi_1^{z_2}} + (L-l)\frac{K_2^{z_2}}{v\varphi_2^{z_2}}; \quad \tilde{t}'_2 - t'_1 = (t'_2 - t'_1)\frac{\varphi_1^{z_2}}{\varphi_2^{z_2}},$$

где l - расстояние, пройденное вторым компонентом за время t'_1 . Тогда:

$$\tilde{\tau}_2 = \tau_2 \frac{\varphi_1^{z_2}}{\varphi_2^{z_2}} \sqrt{1 + \frac{R(\tau_1 + \tau_2)\varepsilon}{\ln 2\tau_2^2 v K_2^{z_2}} (\varphi_2^{z_2} - \varphi_1^{z_2}) h_i \left[K_2^{z_2} + \varepsilon \left(\frac{\varphi_2^{z_2} + \varphi_1^{z_2}}{2} \right) \right]} \approx$$

$$\approx \tau_2 \frac{\varphi_1^{z_2}}{\varphi_2^{z_2}} \sqrt{1 + O\left(\frac{h_i(\tau_1 + \tau_2)}{v\tau_2^2}\right)} \approx \tau_2 \frac{\varphi_1^{z_2}}{\varphi_2^{z_2}} \sqrt{1 + O\left(\sqrt{\frac{h}{L}}\right)} \quad (\text{П4})$$

Лемма доказана

Замечание 1.

Оптимизация времени анализа за счёт краевых эффектов, описанная в лемме П1, даёт небольшой выигрыш времени порядка ширины пика $R\tau$. Основной выигрыш времени анализа можно получить только за счёт правильного выбора режима элюирования в течение всего эксперимента. Для исключения влияния краевых эффектов во всех последующих леммах будем считать постоянным режим элюирования от времени выхода первого компонента t'_1 до конца эксперимента.

При этих условиях будет доказано, что оптимальным по времени является изократический режим элюирования.

Лемма П2

Любые вариации состава элюента при фиксированном времени удерживания ухудшают степень разделения двух одинаково заряженных компонентов, по сравнению с оптимальным изократическим режимом.

Доказательство.

Пусть найден оптимальный изократический режим с силой элюента φ_0 , сравним его с произвольным переменным режимом с силой элюента $\varphi(t)$.

На основании формул (4, 7, 8) можно записать степень разделения двух простых одинаково заряженных компонентов в виде:

$$R_{12}^{-1} \approx B_{12} \sum_{i=1}^2 \sqrt{\int_0^{t'_i} \frac{h_i}{K_i^z} (K_i^z + \varepsilon\varphi^z)^2 \varphi^z dt}; \quad B_{12} = \frac{2\sqrt{2 \ln 2v}}{L|K_1^z - K_2^z|} = const \quad (\text{П5})$$

Найдем значения степени разделения компонентов при условии равенства времен удерживания первого компонента в изократическом и градиентном режимах. Условие леммы запишем в виде:

$$\frac{LK_i^z}{v} = \int_0^{t'_i} \varphi^z(t) dt = \varphi_0^z t'_i, \quad (\text{П6})$$

Обозначим вариацию z -степени силы элюента через $\phi(t)$:

$$\varphi^z(t) = \varphi_0^z + \phi(t) > 0 \quad (\text{П7})$$

Подставляя это выражение в (П6), получим:

$$\int_0^{t'_i} \phi(t) dt = 0, \quad (\text{П8})$$

при выводе условия (П8) используется тот факт, что сила элюента после выхода первого компонента должна быть постоянной $\phi(t) = \phi_0$ при $t > t'_1$. Подставляя (П7) в (П5), получим:

$$\begin{aligned} \int_0^{t'_i} h_i (K_i^z + \varepsilon \phi^z)^2 \phi^z dt &= \int_0^{t'_i} h_i (K_i^z + \phi_0^z + \phi)^2 (\phi_0^z + \phi) dt = \\ &= h_i (K_i^z + \phi_0^z)^2 \phi_0^z t' + 2(K_i^z + \phi_0^z) \int_0^{t'_i} h_i \phi^2 dt + \int_0^{t'_i} h_i \phi^2 (\phi_0^z + \phi) dt \geq h_i (K_i^z + \phi_0^z)^2 \phi_0^z t' \end{aligned} \quad (\text{П9})$$

Здесь учтено, что h_i — положительная функция, близкая к константе; интеграл от первой степени $\phi(t)$, в силу (П9), равен нулю; интеграл от $\phi^2(t)$ положителен; величина $(\phi_0^z + \phi)$ также положительна в силу неравенства (П7).

Лемма доказана

Лемма П3

Любые вариации состава элюента при фиксированной степени разделения ухудшают время удерживания этих компонентов по сравнению с оптимальным изократическим режимом.

Доказательство

Пусть найден некий оптимальный градиентный режим, обеспечивающий исправленное время удерживания t'_i и степень разделения R_{12} , тогда в силу леммы П2 найдётся такой изократический режим, который обеспечит то же время выхода t'_1 и коэффициент разделения $R_{12Izo} > R_{12}$. В соответствии с формулами (9, 11) степень разделения и время удерживания в изократическом режиме уменьшаются при увеличении силы элюента ϕ . Увеличиваем силу элюента ϕ до выполнения равенства $R_{12Izo} = R_{12}$, уменьшение времени удерживания при этом доказывает оптимальность получившегося изократического режима по сравнению с градиентным.

Лемма доказана

Для рассмотрения условий разделения компонентов с разными зарядами $z_2 > z_1$ воспользуемся результатами уже доказанных лемм для одинаково заряженных компонентов.

Лемма П4

Изократический режим является оптимальным по времени для двух компонентов с разными зарядами $z_1 < z_2$, но имеющими одинаковое время удерживания.

Доказательство

Полосы на динамической карте, соответствующие разнозаряженным компонентам, в силу (14) идут под разными углами и пересекаются. Проведя изократическую оптимизацию, найдём оптимальный изократический режим $\phi(t) = \phi_0$, при котором заданные два компонента имеют одно и то же время удерживания t' :

$$t' = Lv^{-1} K_1^{z_1} \phi_0^{-z_1} = Lv^{-1} K_2^{z_2} \phi_0^{-z_2} \quad (\text{П10})$$

Докажем, что этот изократический режим является оптимальным по времени в условиях леммы. Действительно, предположим, что существует некоторый переменный режим, обеспечивающий меньшее время удерживания \tilde{t}' :

$$L = \frac{v}{K_1^{z_1}} \int_0^{t'} \phi^{z_1} dt = \frac{v}{K_2^{z_2}} \int_0^{\tilde{t}'} \phi^{z_2} dt \quad (\text{П11})$$

Заменим интегралы в (П11) интегральными суммами:

$$L = \frac{v}{\tilde{K}_i^{z_i}} \int_0^{t'} \varphi^{z_i} dt = \frac{v}{\tilde{K}_i^{z_i}} \sum_{m=1}^M \varphi_m^{z_i} \Delta t_m = \frac{v}{\tilde{K}_i^{z_i}} \left[\sum_{m=1}^{M-1} \varphi_m^{z_i} \Delta t_m + \varphi_M^{z_i} \Delta t_M \right], \quad (\text{П12})$$

Докажем, что переменный градиентный режим не является оптимальным по времени, то есть последний отрезок времени Δt_M можно уменьшить, не нарушая условия леммы. Для этого запишем условия равенства времён удерживания для заданных компонентов в виде условия равенства последних отрезков $\Delta t_{M_1} = \Delta t_{M_2}$.

$$l_{\alpha i} = \frac{v}{K_i^{z_i}} \sum_{m=1}^{M-1} \varphi_m^{z_i} \Delta t_m; \quad \Delta t_{M_i} = (L - l_{\alpha i}) \frac{K_i^{z_i}}{v \varphi_M^{z_i}} = \left(Lv^{-1} K_i^{z_i} - \sum_{m=1}^{M-1} \varphi_m^{z_i} \Delta t_m \right) \varphi_M^{-z_i} \quad (\text{П13})$$

$$\Delta t_{M_2} - \Delta t_{M_1} = 0; \quad \left(\frac{L}{\varphi_M^{z_2}} v^{-1} K_2^{z_2} - \sum_{m=1}^{M-1} \frac{\varphi_m^{z_2}}{\varphi_M^{z_2}} \Delta t_m \right) = \left(\frac{L}{\varphi_M^{z_1}} v^{-1} K_1^{z_1} - \sum_{m=1}^{M-1} \frac{\varphi_m^{z_1}}{\varphi_M^{z_1}} \Delta t_m \right)$$

Найдём такой способ варьирования силы элюента на каждом шаге φ_m , чтобы минимизировать общее время удерживания $t' = \sum_{m=1}^{M-1} \Delta t_m + \Delta t_M$, а в силу того, что первый

член суммы $\sum_{m=1}^{M-1} \Delta t_m$ мы считаем фиксированным, то вся минимизация будет касаться только последнего члена Δt_M . Введём варьируемый вектор в виде $d\varphi_m = \chi_m d\varphi$, где вектор χ_m определим следующим образом:

$$\chi_m = \begin{cases} 1 & \text{при } \varphi_m < \varphi_M \\ 0 & \text{при } \varphi_m = \varphi_M \\ -1 & \text{при } \varphi_m > \varphi_M \end{cases} \quad (\text{П14})$$

Рассчитаем производную $d\varphi_M / d\varphi$:

$$d(\Delta t_{M_1}) = d \left(\frac{L}{\varphi_M^{z_1}} v^{-1} K_1^{z_1} - \sum_{m=1}^{M-1} \frac{\varphi_m^{z_1}}{\varphi_M^{z_1}} \Delta t_m \right) =$$

$$= -z_2 \varphi_M^{-z_2-1} \left(Lv^{-1} K_1^{z_2} - \sum_{m=1}^{M-1} \varphi_m^{z_2} \Delta t_m \right) d\varphi_M - z_2 \varphi_M^{-z_2} \left(\sum_{m=1}^{M-1} \varphi_m^{z_2-1} \Delta t_m \chi_m \right) d\varphi$$

Откуда:

$$\frac{d\varphi_M}{d\varphi} = \frac{z_1 \varphi_M^{-z_1} \left(\sum_{m=1}^{M-1} \varphi_m^{z_1-1} \Delta t_m \chi_m \right) - z_2 \varphi_M^{-z_2} \left(\sum_{m=1}^{M-1} \varphi_m^{z_2-1} \Delta t_m \chi_m \right)}{\varphi_M^{-z_1-1} \left(Lv^{-1} K_1^{z_1} - \sum_{m=1}^{M-1} \varphi_m^{z_1} \Delta t_m \right) (z_2 - z_1)} \quad (\text{П15})$$

Вычислим теперь производную $\frac{d(\Delta t_M)}{d\varphi}$ и докажем, что она отрицательна:

$$\frac{d(\Delta t_M)}{d\varphi} = \frac{d}{d\varphi} \left(\frac{L}{\varphi_M^{z_1}} v^{-1} K_1^{z_1} - \sum_{m=1}^{M-1} \frac{\varphi_m^{z_1}}{\varphi_M^{z_1}} \Delta t_m \right) = \frac{z_1 z_2}{(z_2 - z_1)} \left(\sum_{m=1}^{M-1} \left[\frac{\varphi_m^{z_2}}{\varphi_M^{z_2}} - \frac{\varphi_m^{z_1}}{\varphi_M^{z_1}} \right] \varphi_m^{-1} \Delta t_m \chi_m \right) \quad (\text{П16})$$

Учитывая, что по условию $z_2 > z_1$, получаем, что при $\varphi_m > \varphi_M$ величина $\left[\frac{\varphi_m^{z_2}}{\varphi_M^{z_2}} - \frac{\varphi_m^{z_1}}{\varphi_M^{z_1}} \right] > 0$ положительна, но в силу условия (П14) величина $\chi_m < 0$ - отрицательна, поэтому всё слагаемое, соответствующее данному индексу m - отрицательно, если же $\varphi_m < \varphi_M$, то $\left[\frac{\varphi_m^{z_2}}{\varphi_M^{z_2}} - \frac{\varphi_m^{z_1}}{\varphi_M^{z_1}} \right] < 0$, то $\chi_m > 0$ в силу (П14), так что это слагаемое также отрицательно, следовательно, время удерживания убывает при положительных вариациях $d\varphi$. Рассмотрим, как изменяются величины φ_m при добавлении к ним вариации $\chi_m d\varphi$: если $\varphi_m > \varphi_M$, величина $\chi_m < 0$ и $\varphi_m + \chi_m d\varphi$ уменьшается, приближаясь к φ_M , если же $\varphi_m < \varphi_M$, то $\chi_m > 0$ и величина $\varphi_m + \chi_m d\varphi$ увеличивается, также приближаясь к φ_M . Таким образом, оптимум достигается только при условии, что все $\varphi_m = \varphi_M$, то есть при изократическом режиме. В силу единственности изократического режима, обеспечивающего равные времена удерживания, имеем $\varphi_M = \varphi_0$

Лемма доказана

Лемма П5

Пусть для двух компонентов с разными зарядами $z_2 > z_1$ задана некоторая степень разделения $R_{12} = R$ и порядок их выхода $t'_1 < t'_2$, тогда оптимальным по времени будет изократический режим элюирования.

Доказательство

Полосы на динамической карте, соответствующие разнозаряженным компонентам в силу (14), идут под разными углами, поэтому они обязаны пересекаться. Проведя изократическую оптимизацию, найдём оптимальный изократический режим $\varphi(t) = \varphi_0$, при котором заданные два компонента разделяются с заданным критерием разделения R , в соответствии с (11) получим:

$$\frac{\sqrt{N_1} \Delta K_1}{2\sqrt{2 \ln 2} (K_1^{z_1} + \varepsilon \varphi_0^{z_1})} = R, \quad \frac{\sqrt{N_2} \Delta K_2}{2\sqrt{2 \ln 2} (K_2^{z_2} + \varepsilon \varphi_0^{z_2})} = R \quad (\text{П17})$$

причём первым выходит компонент с меньшим зарядом, тогда в силу (9) имеем:

$$t'_1 + R\tau_1 = t'_2 - R\tau_2; \quad \Rightarrow LK_1^{z_1} v^{-1} \varphi_0^{-z_1} + R\tau_1 = LK_2^{z_2} v^{-1} \varphi_0^{-z_2} - R\tau_2 = t^* \quad (\text{П18})$$

Введём два фиктивных бесконечно узких компонента $h_i \approx 0$ с теми же зарядами z_1, z_2 и с константами обмена $K_1 + \Delta K_1, K_2 - \Delta K_2$ такими, чтобы эти два компонента имели одинаковое время удерживания при найденном изократическом режиме φ_0 , то есть:

$$\begin{aligned} Lv^{-1} K_1^{z_1} \varphi_0^{-z_1} + R\tau_1 &= Lv^{-1} (K_1 + \Delta K_1)^{z_1} \varphi_0^{-z_1} = \\ &= Lv^{-1} (K_2 - \Delta K_2)^{z_2} \varphi_0^{-z_2} = Lv^{-1} K_2^{z_2} \varphi_0^{-z_2} - R\tau_2 \end{aligned} \quad (\text{П19})$$

Согласно лемме П4, изократический режим является оптимальным по времени при условии равенства времен удерживания этих фиктивных компонентов.

Предположим, что лемма неверна и существует некоторый переменный режим элюирования с меньшим временем анализа, при котором первоначальные компоненты разделяются с тем же критерием R и имеют тот же порядок выхода. В качестве оптимизируемого возьмём время \tilde{t}^* - время касания двух пиков (знаком \sim будем отмечать параметры этого режима):

$$\tilde{t}^* = \tilde{t}'_1 + R\tilde{\tau}_1 = \tilde{t}'_2 - R\tilde{\tau}_2$$

Итак, предположим, что $\tilde{t}^* < t^*$. Как и ранее, введём два фиктивных бесконечно узких компонента с теми же зарядами z_1, z_2 и с константами обмена $K_1 + \tilde{\Delta}K_1, K_2 - \tilde{\Delta}K_2$ такими, чтобы эти два компонента имели одинаковое время удерживания \tilde{t}^* . Тогда согласно лемме П2 для каждого из этих двух фиктивных компонентов найдётся изократический режим с силой элюента φ_1 для первого и φ_2 для второго такой, что критерий разделения с основными компонентами того же заряда будет равен R , а время удерживания менее \tilde{t}^* :

$$Lv^{-1}K_1^{z_1} \varphi_1^{-z_1} + R\tau_1 = Lv^{-1}(K_1 + \tilde{\Delta}K_1)^{z_1} \varphi_1^{-z_1} < \tilde{t}^* < t^* \quad (\text{П20})$$

$$Lv^{-1}(K_2 - \tilde{\Delta}K_2)^{z_2} \varphi_2^{-z_2} = Lv^{-1}K_2^{z_2} \varphi_2^{-z_2} - R\tau_2 < \tilde{t}^* < t^*$$

В соответствии с формулой (11) запишем критерии разделения, которые должны равняться заданному значению R :

$$\frac{\sqrt{N_1} \tilde{\Delta}K_1}{2\sqrt{2 \ln 2} (K_1^{z_1} + \varepsilon\varphi_1^{z_1})} = R, \quad \frac{\sqrt{N_2} \tilde{\Delta}K_2}{2\sqrt{2 \ln 2} (K_2^{z_2} + \varepsilon\varphi_2^{z_2})} = R \quad (\text{П21})$$

Рассмотрим систему уравнений, получаемую из (П17 – П21):

$$\frac{K_1 + \tilde{\Delta}K_1}{\varphi_1} < \frac{K_1 + \Delta K_1}{\varphi_0}, \quad \frac{\tilde{\Delta}K_1}{K_1^{z_1} + \varepsilon\varphi_1^{z_1}} = \frac{\Delta K_1}{K_1^{z_1} + \varepsilon\varphi_0^{z_1}} \quad (\text{П22})$$

Выразим $\tilde{\Delta}K_1$ из второго уравнения в (П22) и подставим в первое, получим

$$\left[K_1 + \Delta K_1 \frac{K_1^{z_1} + \varepsilon\varphi_1^{z_1}}{K_1^{z_1} + \varepsilon\varphi_0^{z_1}} \right] \varphi_0 < (K_1 + \Delta K_1) \varphi_1, \quad \text{откуда следует } K_1(\varphi_0 - \varphi_1) < \Delta K_1 \left(\varphi_1 - \frac{K_1^{z_1} + \varepsilon\varphi_1^{z_1}}{K_1^{z_1} + \varepsilon\varphi_0^{z_1}} \varphi_0 \right).$$

Подставим ΔK_1 из (П17) и получим:

$$K_1(\varphi_0 - \varphi_1) < \frac{R}{\sqrt{N_1}} 2\sqrt{2 \ln 2} \left[K_1^{z_1} (\varphi_1 - \varphi_0) + \varepsilon\varphi_1\varphi_0 (\varphi_0^{z_1-1} - \varphi_1^{z_1-1}) \right] \quad (\text{П23})$$

В правой части неравенства (П23) стоит малая величина $\sim 1/\sqrt{N}$, умноженная на $(\varphi_0 - \varphi_1)$ слева величина порядка единицы также умноженная на $(\varphi_0 - \varphi_1)$, поэтому единственным вариантом соблюдения условия (П23) является условие $\varphi_1 > \varphi_0$. Подставим это условие во второе уравнение в (П22) и получим, что $\tilde{\Delta}K_1 > \Delta K_1$.

Аналогично рассмотрим систему уравнений для величин $\Delta K_2, \tilde{\Delta}K_2$:

$$\frac{K_2 - \tilde{\Delta}K_2}{\varphi_2} < \frac{K_2 - \Delta K_2}{\varphi_0}, \quad \frac{\tilde{\Delta}K_2}{K_2^{z_2} + \varepsilon\varphi_2^{z_2}} = \frac{\Delta K_2}{K_2^{z_2} + \varepsilon\varphi_0^{z_2}} \quad (\text{П24})$$

Второе уравнение в (П24) предполагает два варианта неравенств: либо $\tilde{\Delta}K_2 < \Delta K_2$ и $\varphi_2 < \varphi_0$, либо $\tilde{\Delta}K_2 > \Delta K_2$ и $\varphi_2 > \varphi_0$, но первый вариант противоречит первому уравнению в (П24), остаётся вариант $\tilde{\Delta}K_2 > \Delta K_2$.

В результате, из градиентного режима мы получили два фиктивных компонента с константами обмена $K_1 + \tilde{\Delta}K_1$ и $K_2 + \tilde{\Delta}K_2$, причём и $\tilde{\Delta}K_1 > \Delta K_1$, и $\tilde{\Delta}K_2 > \Delta K_2$. Согласно лемме П4 существует некоторый изократический режим φ_{00} , при котором эти два фиктивных компонента имеют одно и то же время удерживания t^{**} и это время удерживания минимально $t^{**} < t^*$:

$$\begin{aligned}
 Lv^{-1}(K_1 + \tilde{\Delta}K_1)^{z_1} \varphi_{00}^{-z_1} &= Lv^{-1}(K_2 - \tilde{\Delta}K_2)^{z_2} \varphi_{00}^{-z_2} = t^{**} < t^* = \\
 &= Lv^{-1}(K_1 + \Delta K_1)^{z_1} \varphi_0^{-z_1} = Lv^{-1}(K_2 - \Delta K_2)^{z_2} \varphi_0^{-z_2}
 \end{aligned}
 \tag{П25}$$

Но условие $\tilde{\Delta}K_1 > \Delta K_1$ требует в силу (П25), чтобы $\varphi_{00} > \varphi_0$. Можно также найти величины φ_{00} и φ_0 из уравнения (П25):

$$\varphi_{00}^{z_2-z_1} = \frac{(K_2 - \tilde{\Delta}K_2)^{z_2}}{(K_1 + \tilde{\Delta}K_1)^{z_1}} ; \varphi_0^{z_2-z_1} = \frac{(K_2 - \Delta K_2)^{z_2}}{(K_1 + \Delta K_1)^{z_1}}
 \tag{П26}$$

Из условий $z_2 > z_1$, $\tilde{\Delta}K_1 > \Delta K_1$, $\tilde{\Delta}K_2 > \Delta K_2$ и из (П26) следует, что $\varphi_{00} < \varphi_0$, что противоречит предыдущей оценке. Полученное противоречие доказывает, что наше предположение, что $\tilde{t}^* < t^*$ ложно и изократический режим $\varphi = \varphi_0$ обеспечивает минимальное время t^* .

Лемма доказана

Прудковский Андрей Гаральдович — к.ф.-м.н., ст. научный сотрудник, лаб. сорбционных методов, ГЕОХИ РАН, 119991, Москва

Prudkovskiy Andrey G. — PhD, senior scientist., Lab. of sorption methods, GEOKHI RAS