

Justyna KAMIŃSKA, Wojciech ZAPAŁA

e-mail: ichwz@prz.edu.pl

Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Rzeszowska, Rzeszów

Wpływ stężenia modyfikatora na retencję w chromatografii oddziaływań hydrofilowych – badania wstępne

Wstęp

Modele retencji stanowią ważną grupę modeli matematycznych stosowanych do doboru i optymalizacji warunków chromatograficznego rozdzielania składników mieszanin związków chemicznych. Wiążą one wartości współczynnika retencji danej substancji $k = (V_r - V_0)/V_0$ (V_r – objętość retencji substancji chromatografowanej, V_0 – objętość retencji substancji niezatrzymywanej) z ułamkiem molowym lub objętościowym, Φ , modyfikatora, tj. składnika fazy ruchomej modyfikującego siłę elucji dwuskładnikowego eluentu. Postać matematyczna równania modelu retencji może bezpośrednio wynikać z przyjętego mechanizmu retencji, albo stanowić zależność czysto empiryczną (nie uwzględniającą żadnego mechanizmu retencji) [Nikitas i Pappa-Louisi, 2009]. Modele te wykorzystuje się w praktyce do wspomaganego komputerowo doboru i optymalizacji fazy ruchomej. Stąd zastosowanie odpowiednio dokładnego modelu retencji jest kluczowe w procedurach optymalizacji, ponieważ jakość tych procedur opiera się na wiarygodności i dokładności przewidywania wartości czasu retencji chromatografowanych substancji. Zdefiniowanie możliwie najdokładniejszego modelu retencji jest szczególnie istotne w przypadku nowych technik chromatograficznych, jak np. chromatografia oddziaływań hydrofilowych (HILIC). Technika ta została zdefiniowana w 1990 roku przez Alperita [1990], jako alternatywny dla chromatografii w odwróconym układzie faz (RP) sposób rozdzielania polarnych (zwykle rozpuszczalnych w wodzie lub innych polarnych rozpuszczalnikach) związków organicznych. Stosowana jest w rozdzielaniu np. węglowodanów, aminokwasów, białek, witamin, leków, itp. [Jandera, 2011]. W HILIC stosuje się polarne fazy stacjonarne [Guo i Gaiki, 2011] oraz fazy ruchome złożone z rozpuszczalnika organicznego (np. metanol, acetonitryl) i wody (lub buforu) będącej modyfikatorem eluentu [Jandera, 2011].

W niniejszej pracy zaproponowano nową postać równania opisującego zależność $k = f(\Phi_{H_2O})$ w HILIC, której poprawność wstępnie zweryfikowano na podstawie doświadczalnie wyznaczonych zależności współczynnika retencji w funkcji stężenia modyfikatora dla kilku substancji testowych o różnych właściwościach fizykochemicznych w kolumnie diolowej *Acclaim™ Mixed-Mode HILIC-1* o wymiarach 4,6 mm × 150 mm i średnicy ziarna 5 μm. Zależności $k = f(\Phi_{H_2O})$ w układach z wodno-metanolowymi fazami ruchomymi wyznaczono dla chryzyny (Ch), kwercetyny (Q), kofeiny (C), fenolu (Ph) i 4-tercbutylofenolu (tPh). Modyfikatorem eluentu była tu woda, której zawartość w eluencie (Φ_{H_2O}) zmieniano w zakresie od 0 do 60% V/V. Zależności $k = f(\Phi_{H_2O, BUF})$ wyznaczono dla kwasu benzoowego (KB) oraz kofeiny (C) w fazach ruchomych zawierających 0,1 M wodny roztwór octanu amonu o $pH = 5,2$ (roztwór buforowy) jako modyfikator oraz acetonitryl jako organiczny składnik eluentu. Ilość modyfikatora ($\Phi_{H_2O, BUF}$) w eluencie zmieniano tu w zakresie od 3 do 98% V/V. Badania przeprowadzono w wysokosprawnym chromatografie cieczowym *Primaide* firmy *Merck-Hitachi* z detektorem UV w warunkach izokratycznych przy natężeniu przepływu eluentu $1,67 \cdot 10^{-8} \text{ m}^3/\text{s}$ w temperaturze 20°C. Objętość próbki wynosiła $2,00 \cdot 10^{-8} \text{ m}^3$. Pomiarzy prowadzono przy długości fali 250 nm. Roztwory poszczególnych substancji testowych sporządzano w badanych eluentach. Stężenia roztworów substancji testowych wynosiły 20 μg/cm^3 . Zmierzone wartości czasu retencji korygowano przez odjęcie czasu martwego przewodów ($t_d = 4,80 \text{ s}$) wyznaczonego dla stosowanej aparatury. Objętość retencji substancji nie zatrzymywanej $V_0 = 1,82 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3$ wyznaczono metodą piknometryczną.

Poprawność zaproponowanego równania w opisie wpływu stężenia modyfikatora na retencję porównano także z dwoma modelami retencji znanymi z literatury. W tym celu wykorzystano wymienione w dalszej części pracy trzy kryteria statystyczne.

Modele retencji w HILIC

Mechanizm retencji w chromatografii oddziaływań hydrofilowych jest obecnie praktycznie nieznan. Jeden z pierwszych proponowanych mechanizmów retencji w HILIC zakłada, że wodna część fazy ruchomej adsorbuje się na powierzchni polarnej fazy stacjonarnej (polarnych ligandów) w postaci cienkiej warstwy, na której następuje podział chromatografowanej substancji pomiędzy tę warstwę i organiczną część fazy ruchomej [Yoshida, 2004]. Wielu autorów wskazuje także, że istotny wpływ na mechanizm retencji, szczególnie dla eluentów o niskiej zawartości wody, mogą mieć również oddziaływania typu adsorpcyjnego, wiązań wodorowych, czy oddziaływania hydrofobowe i elektrostatyczne [Jandera, 2011]. Ponadto w zależności od zawartości w eluencie rozpuszczalnika organicznego, wpływ na globalny mechanizm retencji w HILIC ma kombinacja mechanizmów charakterystycznych dla chromatografii w odwróconym (elenty bogate w wodę) i normalnym układzie faz (elenty bogate w rozpuszczalnik organiczny) [Jandera, 2011]. Względny udział poszczególnych mechanizmów i oddziaływań zależy także od rodzaju i właściwości fazy stacjonarnej i ruchomej oraz efektów związanych ze strukturą i właściwościami chromatografowanej substancji. Reasumując można stwierdzić, że mechanizm retencji w HILIC jest bardzo skomplikowany [Guo i Gaiki, 2011] i tym samym trudny do opisanego w postaci prostego modelu retencji. Przekłada się to z kolei na niewielką liczbę modeli retencji dostępnych w literaturze. Poszukiwania dostatecznie dokładnych modeli retencji są więc w przypadku HILIC w pełni uzasadnione.

W literaturze cytowane są zasadniczo tylko dwa, przedstawione poniżej, wystarczająco dokładne modele retencji:

- model zaproponowany przez Lianga i in. [Jin i in., 2008] oraz Jandereę [2011]:

$$\ln k = p_1 + p_2 \ln \phi_{H_2O} + p_3 \phi_{H_2O} \quad (1)$$

gdzie: k – współczynnik retencji, ϕ_{H_2O} – ułamek objętościowy wody w eluencie, $p_1 - p_3$ – parametry modelu. Parametr p_1 jest związany z objętością molekularną substancji rozpuszczonej, p_2 i p_3 odnoszą się odpowiednio do bezpośrednich oddziaływań substancja chromatografowana – faza stacjonarna oraz do energii oddziaływań pomiędzy rozpuszczalnikiem i substancją rozpuszczoną.

- model zaproponowany przez Jandereę i Hajekę [2009]:

$$\ln k = p_1 + p_2 \phi_{H_2O} - p_3 \ln(1 + p_4 \phi_{H_2O}) \quad (2)$$

gdzie: $p_1 - p_4$ – parametry modelu. Parametr p_1 zależy od substancji chromatografowanej i układu chromatograficznego, parametry p_2 i p_3 odnoszą się do efektów podziałowych i adsorpcyjnych związanych z wpływem stężenia wody na retencję, parametr p_4 jest współczynnikiem poprawkowym retencji dla fazy ruchomej zawierającej bardzo małe ilości wody.

Modele (1) i (2) powstały w wyniku zsumowania modeli opisujących retencję w funkcji stężenia modyfikatora odpowiednio dla chromatografii cieczowej w normalnym i odwróconym układzie faz, przy założeniu addytywności mechanizmów adsorpcyjnego i podziałowego w HILIC.

Do opisu wpływu stężenia modyfikatora na retencję wybranych substancji testowych, zaproponowano w niniejszej pracy sześcioparametrowe, półempiryczne równanie będące modyfikacją przedstawionych powyżej modeli (1) i (2):

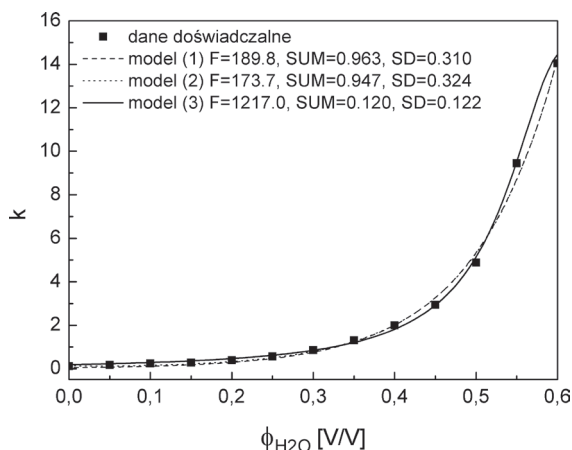
$$k = \frac{1 + p_1 \phi_{H_2O}}{p_2 + p_3 \phi_{H_2O} + p_4 \phi_{H_2O}^2} + \exp(p_5 - p_6 \phi_{H_2O}) \quad (3)$$

Równanie to sformułowano analogicznie jak modele (1) i (2), tj. przy założeniu addytywności mechanizmów adsorpcyjnego i podziałowego w HILIC. Dodatkowo przyjęto, że istotny wpływ na mechanizm retencji może także odgrywać heterogeniczność energetyczna fazy stacjonarnej, co uwzględniono w pierwszym członie opisującym retencję opartą na konkurencyjnej adsorpcji chromatografowanej substancji na heterogenicznej energetycznie powierzchni adsorbentu (model Zapaty [2004]). Drugi człon równania opisuje retencję biegnącą według mechanizmu podziałowego (model Snydera i in. [1979]). Parametry $p_1 - p_4$ nie mają ściśle określonego sensu fizycznego (dotyczą zasadniczo oddziaływań poszczególnych składników fazy ciekłej z powierzchnią adsorbentu) i są wielkościami empirycznymi zależnymi od rozpatrywanego układu chromatograficznego; parametr p_5 opisuje retencję chromatografowanej substancji w eluencie złożonym z czystej wody, p_6 – współczynnik zależny od rodzaju chromatografowanej substancji i modyfikatora eluentu charakteryzujący siłę elucji rozpuszczalnika.

Wartości parametrów, p_i , poszczególnych modeli (1)–(3) wyznaczano metodą regresji nieliniowej przez minimalizację sum kwadratów różnic między danymi doświadczalnymi ($k = f(\Phi_{H_2O})$) albo $k = f(\Phi_{H_2O(BUF)})$ i teoretycznymi. Zastosowano tu metodę Marquardta-Levenberga w wersji zmodyfikowanej przez Fletchera [1971]. Do oceny jakości dopasowania wyników obliczeń uzyskanych według poszczególnych modeli do odpowiednich danych doświadczalnych zastosowano trzy kryteria statystyczne: sumę kwadratów różnic między danymi doświadczalnymi i teoretycznymi (SUM), odchylenie standardowe (SD) oraz test Fischera (F).

Wyniki badań i dyskusja

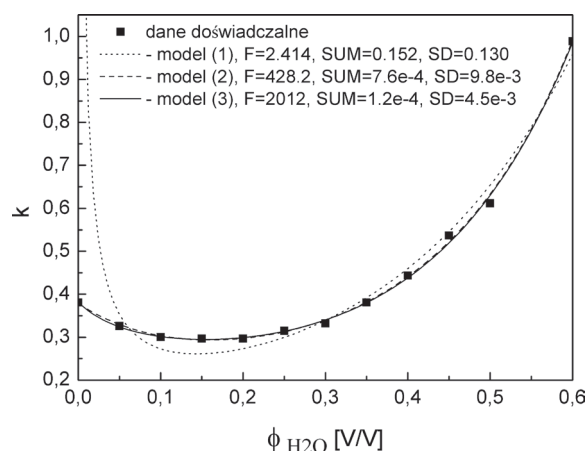
Przykłady wyników badań doświadczalnych pokazano na rys. 1-3. Punkty oznaczają doświadczalnie wyznaczone zależności $k = f(\Phi_{H_2O})$ lub $k = f(\Phi_{H_2O(BUF)})$ dla testowanych substancji. Dla większości substancji badanych w eluentach wodno-metanolowych wzrost zawartości wody wpływa jedynie na wzrost wartości ich czasu retencji (Rys. 1). Dla małych zawartości wody w eluencie współczynniki retencji są dość niskie i obserwuje się mały wzrost ich wartości wraz ze wzrostem stężenia wody. Jest to spowodowane zastosowaniem metanolu jako organicznego składnika fazy ruchomej. Warto zauważyć, że obecność metanolu, szczególnie w zakresie niskich zawartości wody wydaje się być korzystna dla substancji, które są silnie zatrzymane w kolumnie [Sentkowska i in., 2013]. Metanol z silną zdolnością do tworzenia wią-



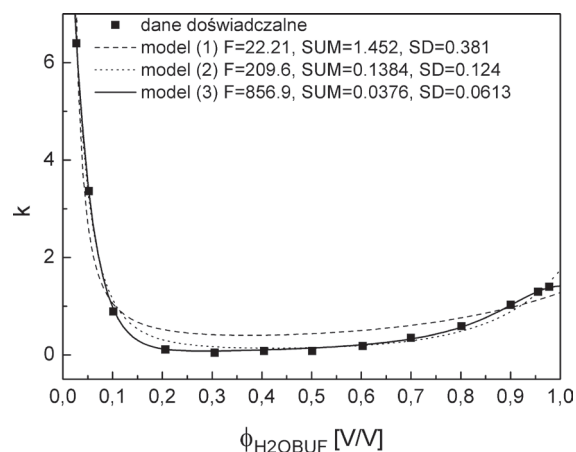
Rys. 1. Porównanie wyników obliczeń modeli (1)–(3) z danymi doświadczalnymi dla kwercetyny w układach z wodno-metanolowymi fazami ruchomymi

zań wodorowych może tu przeszkadzać w tworzeniu się warstwy wody na powierzchni polarnej fazy stacjonarnej, zastępując cząsteczki wody i tworząc w ten sposób bardziej hydrofobową fazę stacjonarną [Zhigang i in., 2008]. W konsekwencji oddziaływania chromatografowanych substancji posiadających silny potencjał do tworzenia wiązań wodorowych z tak wytworzoną fazą stacjonarną będą słabsze i będą one szybciej wymywane z kolumny. Może to wskazywać na istotny wpływ oddziaływań hydrofobowych i wiązań wodorowych na mechanizm retencji w HILIC, szczególnie w układach z wodno-metanolową fazą ruchomą.

Odmienne, U-kształtne przebiegi zależności $k = f(\Phi_{H_2O})$ uzyskano natomiast dla kofeiny (Rys. 2). U-kształtne przebiegi zależności $k = f(\Phi_{H_2O(BUF)})$ otrzymano także dla kwasu benzoowego (Rys. 3) i kofeiny w fazach ruchomych zawierających acetonitryl jako organiczny składnik eluentu. Takie przebiegi są często spotykane w HILIC dla związków chemicznych silnie oraz umiarkowanie polarnych. Minima wskazują zwykle na zmianę mechanizmu retencji z charakterystycznego dla normalnego układu faz na charakterystyczny dla odwróconego układu faz [Jandera, 2011].



Rys. 2. Porównanie wyników obliczeń modeli (1)–(3) z danymi doświadczalnymi dla kofeiny w układach z wodno-metanolowymi fazami ruchomymi



Rys. 3. Porównanie wyników obliczeń modeli (1)–(3) z danymi doświadczalnymi dla kwasu benzoowego w układach z wodno(bufor)-acetonitrylowymi fazami ruchomymi

Na rys. 1–3 liniami przedstawiono przykłady wyników modelowania zależności $k = f(\Phi_{H_2O})$ lub $k = f(\Phi_{H_2O(BUF)})$ otrzymane za pomocą modeli (1)–(3). Wyznaczone wartości parametrów poszczególnych modeli dla substancji testowych zestawiono w tab. 1, a w tab. 2–3 odpowiadające wynikiom dopasowania wartości SUM , SD i F . W większości przypadków (Rys. 1–3 i Tab. 2–3), najlepsze dopasowanie do danych doświadczalnych (najmniejsze wartości SUM i SD oraz największe wartości F) uzyskano za pomocą równ. (3). Modele (1) i (2) wyraźnie gorzej opisują odpowiednie dane doświadczalne (większe wartości SUM i SD oraz mniejsze wartości F – Rys. 1–3 i Tab. 2–3). Jednocześnie model

(1), szczególnie w opisie U-kształtnych przebiegów zależności współczynnika retencji od stężenia modyfikatora (patrz dane doświadczalne oznaczone w tab. 3 numerami 3, 6 i 7), jest w tym porównaniu najmniej odpowiedni. Wyniki powyższych analiz wskazują więc na lepszą adekwatność równ. (3) w stosunku do dwóch pozostałych modeli. Ponieważ porównywane modele znacznie różnią się ilością estymowanych parametrów, ostateczną weryfikację adekwatności równ. (3) przeprowadzono na podstawie oceny wartości stosunków testu *Fishera*. Dla przyjętego poziomu ryzyka popełnienia błędu α , model weryfikowany M_i będzie ewidentnie lepszy (bardziej odpowiedni) niż model odniesienia M_{i+1} , jeśli spełniona będzie zależność:

$$\frac{F_{M_i}}{F_{M_{i+1}}} \geq F_{N-l_i, N-l_{i+1}, \alpha} \quad (4)$$

gdzie: F_{M_i} i $F_{M_{i+1}}$ – wartości testu *Fishera* odpowiednio dla modeli M_i i M_{i+1} , $N-l$ – liczba stopni swobody tj. różnica pomiędzy liczbą punktów doświadczalnych, a liczbą parametrów estymowanych w danym modelu, l_i i l_{i+1} – liczba wyznaczanych parametrów w modelach M_i i M_{i+1} , N – liczba punktów doświadczalnych, $F_{N-l_i, N-l_{i+1}, \alpha}$ – wartości dostępne w tablicach statystycznych dla przyjętego poziomu ryzyka α . W niniejszej pracy przyjęto $\alpha = 5\%$. Zestawione w tab. 3 wartości zależności (4) wskazują, że równ. (3) jest bardziej odpowiednie od modelu (1) w opisie danych doświadczalne oznaczonych w tab. 3 numerami 1-4 oraz 6, 7 (spełniona jest zależność (4)). Z kolei w porównaniu z modelem (2), równ. (3) jest zdecydowanie lepsze (spełniona jest zależność (4)) w opisie danych oznaczonych w tab. 3 numerami 1-3 oraz 6, 7.

Tab. 1. Wyznaczone wartości parametrów modeli (1) – (3)

Model	p_1	p_2	p_3	p_4	p_5	p_6
chryzyna (fazy ruchome: metanol-woda)						
1	6,06±0,86	5,021±0,5	0,15±0,02	-	-	-
2	-6,14±1,5	22,08±2,2	47,33±5,1	1,042±0,8	-	-
3	2874,0±2,0	1892,0±5,3	-6073,0±8,1	5001,0±4,3	-1,43±0,1	5,114±0,5
kwercetyna (fazy ruchome: metanol-woda)						
1	-3,401±0,8	-0,1±0,01	10,01±1,0	-	-	-
2	-1,947±0,5	10,92±1,7	0,588±0,1	43,9±2,9	-	-
3	0,725±0,1	5,428±0,2	-17,52±1,1	1,44±0,15	-5,84±0,2	-5,96±0,2
kofeina (fazy ruchome: metanol-woda)						
1	-3,538±0,1	-0,747±0,1	5,191±0,2	-	-	-
2	-0,972±0,1	14,01±0,3	11,58±0,6	1,503±0,1	-	-
3	7,749±0,5	2,818±0,2	3,803±0,2	35,36±0,8	-3,632±0,9	-5,76±0,3
fenol (fazy ruchome: metanol-woda)						
1	-2,984±0,1	-0,037±0,0	4,784±0,2	-	-	-
2	-2,9±0,1	4,897±0,2	0,263±0,1	1,1±0,15	-	-
3	-12,89±0,6	-94,38±1,0	0	60620±1,8	-2,91±0,3	-4,69±0,4
4-tertbutylofenol (fazy ruchome: metanol-woda)						
1	-3,39±0,2	-0,259±0,1	8,654±0,3	-	-	-
2	-2,66±0,2	10,6±0,4	3,485±0,1	1,1±0,2	-	-
3	13,09±1,5	23,02±1,0	-65,74±0,9	49,35±0,7	-17,31±0,9	-26,95±0,6
kwas benzoesowy (fazy ruchome: acetonitryl-bufor)						
1	-4,209±0,3	-1,66±0,2	4,455±0,2	-	-	-
2	2,821±0,2	14,06±0,5	8,007±0,1	6,68±0,3	-	-
3	0,004±0,01	25,53±0,9	-49,49±1,2	24,64±1,1	2,573±0,1	26,45±0,2
kofeina (fazy ruchome: acetonitryl-bufor)						
1	-15,22±0,1	-3,978±0,1	18,86±0,3	-	-	-
2	0,06±0,01	66,06±0,4	121,4±1,5	0,671±0,2	-	-
3	0,04±0,03	25,23±0,4	-49,49±0,7	24,64±0,4	-2,57±0,6	26,45±0,8

Reasumując można stwierdzić, że zaproponowane równ. (3) poprawnie opisuje wpływ stężenia modyfikatora na retencję w HILIC. W większości przypadków jest ono także bardziej adekwatne od modeli (1) i (2). Świadczą o tym przedstawione wyniki analiz statystycznych.

Szczególnie dokładne wyniki modelowania uzyskano dla U-kształtnych przebiegów zależności $k = f(\Phi_{H_2O})$ oraz $k = f(\Phi_{H_2O(BUF)})$. Poprawność równ. (3) w opisie analizowanych zależności może także wskazywać na istotny wpływ na mechanizm retencji heterogeniczności energetycznej fazy stacjonarnej. Zjawisko to zostało w tym równaniu uwzględnione.

Należy jednak zwrócić uwagę, że adekwatność równ. (3) została zweryfikowana w oparciu o dość małą ilość układów doświadczalnych. Oprócz zastosowanej w niniejszej pracy diolowej fazy stacjonarnej, w HILIC stosowane są także inne sorbenty: obojętne (modyfikowane grupami amidowymi, nitylowymi i diolowymi), z ładunkiem (np. zawierające grupy aminowe, poliaminowe, imidazolowe oraz triazolowe) oraz dwubiegunowe (np. zawierające oddzielone krótkimi grupami alkilowymi silnie kwaśne grupy kwasu sulfonowego i silnie zasadowe grupy czwartorzędowych grup amonowych). Bardzo szeroki jest także zakres związków chemicznych analizowanych techniką HILIC. Oprócz metanolu i acetonitrylu, jako organiczne składniki eluentu stosowane są także inne rozpuszczalniki, takie jak etanol, propan-2-ol czy tetrahydrofuran. Mimo iż przedstawione wyniki są bardzo zachęcające, należy je uznać za wstępne. Konieczna jest dalsza weryfikacja równ. (3) na podstawie danych dla innych układów chromatograficznych z różnymi substancjami chromatografowanymi, fazami stacjonarnymi oraz ruchomymi.

Wnioski

W niniejszej pracy przeanalizowano wpływ stężenia modyfikatora eluentu na retencję wybranych substancji testowych w kolumnie *Acclaim™ Mixed-Mode* HILIC-1. Zaproponowano i wstępnie przetestowano nową postać równania opisującego zależność $k = f(\Phi_{H_2O})$ w HILIC. Wyniki przedstawionych badań wskazują, że w większości analizowanych przypadków, zaproponowane równ. (3) dokładniej od modeli literaturowych opisuje doświadczalne zależności współczynników retencji użytych substancji testowych od stężenia modyfikatora eluentu. Po dalszej weryfikacji, może ono znaleźć zastosowanie praktyczne w procedurach związanych z doбором i optymalizacją składu fazy ruchomej w chromatografii oddziaływań hydrofilowych.

Tab. 2. Wartości *SUM* i *SD* uzyskane z porównania wyników modelowania z danymi doświadczalnymi

Dane	Model Subst. testowa	<i>SUM</i>			<i>SD</i>		
		1	2	3	1	2	3
Fazy ruchome złożone z metanolu i wody							
1	Ch	5,518	4,764	0,604	0,743	0,728	0,294
2	Q	0,963	0,947	0,120	0,310	0,324	0,122
3	C	0,152	7,6e-4	1,2e-4	0,130	9,8e-3	4,5e-3
4	Ph	2,4e-3	6,0e-4	4,5e-4	0,016	8,7e-3	8,0e-3
5	tPh	0,011	7,8e-3	7,3e-3	0,034	0,031	0,035
Fazy ruchome złożone z acetonitrylu i buforu							
6	KB	1,452	0,138	0,037	0,381	0,124	0,061
7	C	0,772	0,210	0,009	0,278	0,153	0,036

Tab. 3. Wartości testu *Fishera* dla modeli (1) – (3) oraz porównanie wartości stosunków testu *Fishera* modelu (3) z modelami (1) i (2) według zależności (4)

Dane	Subst. testowa	Test <i>Fishera</i> F			F_2/F_1 vs.	F_2/F_2 vs.
		F_1	F_2	F_3	$F_{N-l_2, N-l_1, \alpha}$	$F_{N-l_2, N-l_2, \alpha}$
Fazy ruchome złożone z metanolu i wody						
1	Ch	224,5	234,0	1437,0	6,40 > 3,14	6,14 > 3,29
2	Q	189,8	173,7	1217	6,41 > 3,14	7,01 > 3,29
3	C	2,414	428,2	2012	833,5 > 3,37	4,70 > 3,58
4	Ph	242	855,4	1015	4,19 > 3,37	1,19 < 3,58
5	tPh	3308	4048	3233	0,98 < 3,37	0,80 < 3,58
Fazy ruchome złożone z acetonitrylu i buforu						
6	KB	22,21	209,6	856,9	38,6 > 3,14	4,09 > 3,29
7	C	88,45	278,7	5107	60,47 > 3,14	18,32 > 3,29

LITERATURA

- Alpert A. J., 1990. Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds. *J. Chromatogr. A*, **499**, 177-196. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)96972-3
- Fletcher R., 1971. A modified Marquardt sub-routine for nonlinear least-squares. AERE-R6799-Harwell – England
- Guo Y., Gaiki S., 2011. Retention selectivity of stationary phases for hydrophilic interaction chromatography. *J. Chromatogr. A*, **1218**, 5920-5938. DOI: 10.1016/j.chroma.2011.06.052
- Jandera P., 2011. Stationary and mobile phases in hydrophilic interaction chromatography: a review. *Anal. Chim. Acta*, **692**, 1-25. DOI: 10.1016/j.aca.2011.02.047
- Jandera P., Hajek T., 2009. Utilization of dual retention mechanism on columns with bonded PEG and diol stationary phases for adjusting the separation selectivity of phenolic and flavone natural antioxidants. *J. Sep. Sci.*, **32**, 3603-3619. DOI: 10.1002/jssc.200900344
- Jin G., Guo Z., Zhang F., Xue X., Jin Yu, Liang X., 2008. Study on the retention equation in hydrophilic interaction liquid chromatography. *Talanta*, **76**, 522-527. DOI: 10.1016/j.talanta.2008.03.042
- Nikitas P., Pappa-Louisi A., 2009. Retention models for isocratic and gradient elution in reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, **1218**, 5920-5938. DOI: 10.1016/j.chroma.2008.09.051
- Sentkowska A., Biesaga M., Pyrzynska K., 2013. Effects of the operation parameters on HILIC separation of flavonoids on zwitterionic column. *Talanta*, **115**, 284-290. DOI: 10.1016/j.talanta.2013.05.005
- Snyder L.R., Dolan J.W., Gant J.R., 1979. Gradient elution in high-performance liquid-chromatography.1. Theoretical basis for reversed-phase systems. *J. Chromatogr.*, **165**, 3-30. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)85726-X
- Yoshida T., 2004. Peptide separation by Hydrophilic-Interaction Chromatography: a review. *J. Biochem. Biophys. Methods*, **60**, 265-280. DOI: 10.1016/j.jbbm.2004.01.006
- Zapała W., 2004. Zastosowanie bi-Langmuirskiego modelu retencji w analizie wpływu stężenia modyfikatora na przebieg procesu wysokosprawnej chromatografii cieczowej. *Inż. Chem. Proces.*, **25**(3/3), 1843-1848
- Zhigang Hao Z., Xiao B., Weng N., 2008. Impact of column temperature and mobile phase components on selectivity of hydrophilic interaction chromatography (HILIC). *J. Sep. Sci.*, **31**, 1449-1464. DOI: 10.1002/jssc.200700624

CZASOPISMO NAUKOWO-TECHNICZNE

INŻYNIERIA I APARATURA CHEMICZNA

ukazuje się od 1961 roku

Czasopismo jest poświęcone problemom obliczeń procesowych i zagadnieniom projektowo-konstrukcyjnym aparatury i urządzeń stosowanych w przemysłach przetwórczych, w tym szczególnie w przemyśle chemicznym, petrochemicznym, rolno-spożywczym, jak również w energetyce, gospodarce komunalnej i w ochronie środowiska.

Przeznaczone jest zarówno dla pracowników badawczych, projektantów, konstruktorów, jak i dla menadżerów oraz inżynierów ruchowych.

W czasopiśmie publikowane są artykuły o szerokim spektrum tematycznym, obejmującym problematykę procesów i operacji jednostkowych inżynierii chemicznej, bio- i nanotechnologie, inżynierię biomedyczną, recykling, bezpieczeństwo procesowe oraz obliczenia i projektowanie aparatów w aspekcie poprawy wydajności, lepszego wykorzystania surowców, oszczędności energii i ochrony środowiska.

Publikowane prace są recenzowane przez specjalistów. Autorzy artykułów opublikowanych w „Inżynierii i Aparaturze Chemicznej” uzyskują 5 punktów (od 17.09.2012) do oceny parametrycznej Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Czasopismo jest regularnie abstraktowane w CAS (Chemical Abstracts Service – a division of the American Chemical Society, Columbus, Ohio, USA) i jest indeksowane na platformie SciFinder®:

<http://www.cas.org/products/scifindr/index.html>

w Bazie Polskich Czasopism Technicznych – BazTech:

<http://baztech.icm.edu.pl/wysz.html>

a także w bazie tekstów naukowych elektronicznych i drukowanych:

<http://scholar.google.com>