Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie

Doktorský studijní program: Analytická chemie

Autoreferát dizertační práce

Aplikace solvatačního modelu k popisu retence vybraných látek v kapalinové a plynové chromatografii

Mgr. Štěpán Jirkal

Školitel: doc. RNDr. Radomír Čabala, Dr.

Školitel-konzultant: prof. Ing. Jiří Ševčík, DrSc.

Praha, 2016

Tato dizertační práce vznikla na základě výsledků získaných v letech 2000 až 2016 během mého Ph.D. studia na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 2030, 128 43, Praha 2.

Tato dizertační práce vznikla za finanční podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (projekt MSM 113100002) a projektů SVV Univerzity Karlovy v Praze.

Školitel: doc. RNDr. Radomír Čabala, Dr.
Katedra analytické chemie
Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Školitel-konzultant: prof. Ing. Jiří Ševčík, DrSc.
Katedra analytické chemie
Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze

ABSTRAKT

Solvatační model (LSER) byl použit ke studiu retenčního chování látek v kapalinové a plynové chromatografii. V první kapitole byl studován popis retence 21 látek solvatačním modelem na reverzní stacionární fázi, v širokém rozmezí složení mobilní fáze methanol-voda a acetonitril-voda. Retence aromatických sloučenin byla obecně lépe popsána solvatačním modelem, než alifatických sloučenin.

Byl sledován vliv jednotlivých analytů, použitých pro formulaci LSER modelu, na celkovou schopnost popisu retence modelem. Odlišných výsledků v odhadu retence bylo dosaženo použitím regresního souboru látek obsahujícím pouze sloučeniny aromatické, nebo naopak jen alifatické. Rozdílné výsledky také poskytoval solvatační model formulovaný pouze z kyslíkatých derivátů, nebo naopak dusíkatých derivátů organických látek.

Druhá kapitola práce, tematicky zaměřená na plynovou chromatografii, se zabývala popisem retence 152 izomerů C5-C8 alkenů LSER modelem. Solvatační deskriptor *L* alkenů byl získán odhadovými metodami Havelec-Ševčík (HS) a Platts-Butina (PB), deskriptor *E* byl přímo vypočten podle jeho definice.

Na základě použitých metod k odhadu deskriptorů byly sestaveny dva modely k popisu retence alkenů, model HS a model PB. Byla zjištěna vyšší chyba odhadu retence pro cis izomery alkenů, počítané modelem HS. Po úpravě modelu HS odstraněním příspěvku pro cis interakce, bylo dosaženo významného zlepšení v popisu retence.

Oba modely byly použity k odhadu retence 59 alkenů C5-C7. Model HS s deskriptory $L_{,\mathrm{HS\ no\ cis}}$ a $E_{,\mathrm{calc}}$ poskytnul přesnější popis retence, ve srovnání s modelem PB. Dále byla popisována retence skupiny 93 oktenů, nejlepších výsledků bylo dosaženo modelem PB pomocí deskriptorů $L_{,\mathrm{PB}}$ a $E_{,\mathrm{calc}}$. Na závěr byla studována retence celé skupiny C5-C8 alkenů, kde se výrazněji projevovala heteroskedasticita reziduí u dvou-deskriptorových modelů. V případě jedno-deskriptorových modelů HS a PB nebyla heteroskedasticita jednoznačně prokázána. Nejlepší popis retence 152 alkenů s jediným deskriptorem *L* poskytnul model HS.

OBSAH

1. ÚVOD 5
2. CÍLE PRÁCE 5
3. MATERIÁL A METODIKA 6
3.1 Retenční modely v chromatografii 6
3.1.1 Abrahamův solvatační model (LSER) 6
3.1.2 LSST model (Linear solvent strength theory) 7
3.2 Odhadové metody výpočtu solvatačních deskriptorů 7
3.2.1 Metoda Havelec-Ševčík 8
3.2.2 Metoda Platts-Butina 8
4. VÝSLEDKY A DISKUZE 9
4.1 Popis retence skupiny 21 látek LSER modelem v mobilních fázích methanol-voda a acetonitril-voda 9
4.2 Popis retence C5-C8 alkenů LSER modelem: použití dvou metod výpočtu deskriptoru *L* 14
4.2.1 Popis retence C5-C7 alkenů 15
4.2.2 Popis retence C8 alkenů 18
4.2.3 Popis retence C5-C8 alkenů 20
5. ZÁVĚRY 23
6. POUŽITÁ LITERATURA 24
SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK 25
Seznam publikací 27
Seznam přednášek 27
Curriculum Vitae 28

1. ÚVOD

Kapalinová a plynová chromatografie patří mezi nejvýznamnější separační metody používané v analytické chemii. Dělení látek těmito metodami je složitý proces, založený na různorodých interakcích mezi analyty a separačním prostředím, tvořeným stacionární a mobilní fází. Celkový popis tohoto děje zatím není zcela objasněn.

Vzhledem k rozsahu použití separačních metod je studium mechanismu retence v chromatografii významným směrem přispívajícím k rozvoji analytické chemie. Vhodná volba experimentálních podmínek je základem pro provedení kvalitní analýzy. Znalost mechanismu dělení látek v chromatografii může hrát klíčovou roli ve volbě metody a optimalizaci podmínek separace.

Solvatační model odvozený od teorie linear solvation energy relationships (LSER) popisuje separaci látek v chromatografii z kvalitativního a kvantitativního hlediska. V současné době patří mezi nejpoužívanější a nejvíce vyhledávané přístupy k popisu retence. Model znázorňuje jednotlivé interakce separačního děje pomocí parametrů analytu a mobilní či stacionární fáze.

Předložená práce se zabývá popisem retence látek v kapalinové a plynové chromatografii použitím solvatačního modelu. Výsledky experimentální práce jsou tematicky znázorněny ve dvou hlavních kapitolách. První část se zabývá studiem solvatačního modelu v kapalinové chromatografii s různým složením mobilní fáze typu methanol-voda a acetonitril- voda. Je sledována schopnost popisu retence solvatačním modelem vybrané skupiny 21 látek v širokém rozmezí složení mobilní fáze, od 1 % do 100 % organického rozpouštědla. Druhá část je věnována popisu retence alkenů solvatačním modelem v plynové chromatografii. Pro všech 152 izomerů C5-C8 alkenů jsou vypočítány solvatační deskriptory *L, E* pomocí odhadových metod a následně použity pro popis retence skupiny alkenů.

2. CÍLE PRÁCE

Cílem práce v kapitole 4.1 je studium popisu HPLC retence různorodé skupiny 21 látek pomocí LSER modelu. Pozornost je zaměřena na široké rozmezí složení mobilní fáze,

zejména na krajní oblasti, kde výrazně převažuje jedna složka nad druhou. Cílem práce v kapitole 4.2 je popsat retenci všech izomerů C5-C8 alkenů pomocí vypočtených LSER deskriptorů a zároveň porovnat dvě metody použité k výpočtu deskriptoru *L*.

3. MATERIÁL A METODIKA

3.1 Retenční modely v chromatografii

V této kapitole je znázorněn LSER model, který je hlavním tématem této práce. Dále je zmíněn další retenční model (LSST), neboť byl použit v kombinaci s LSER modelem k popisu retence skupiny 21 látek v kapitole 4.1.

3.1.1 Abrahamův solvatační model (LSER)

Současná podoba LSER vztahu, formulovaného Michaelem H. Abrahamem, pro popis retence v kapalinové a plynové chromatografii je vyjádřena [1,2]:

$$\log k = vV + eE + sS + aA + bB + c \qquad \text{LC (kapalina-kapalina)} \qquad (1)$$

$$\log k = lL + eE + sS + aA + bB + c \qquad \text{GC (plyn-kapalina)} \qquad (2)$$

k retenční faktor analytu,
V McGowanův charakteristický objem,
E přebytková molární refrakce,
S deskriptor dipolarity/polarizovatelnosti,
A celková acidita vodíkové vazby analytu,
B celková bazicita vodíkové vazby analytu,
L logaritmus rozdělovacího koeficientu plyn-hexadekan ($\log L^{16}$).

V rovnicích (1) a (2) velká písmena *V*, *E*, *S*, *A*, *B*, *L* označují deskriptory (parametry) analytu podle specifických typů interakcí. Malá písmena *v*, *e*, *s*, *a*, *b*, *l, c* jsou regresní koeficienty, které zahrnují vlastnosti stacionární fáze, mobilní fáze a teploty. Retence

analytu (log*k*) může být ve vztazích (1) a (2) vyjádřena i jinými veličinami, jako např. retenčním indexem (*RI*) nebo logaritmem specifického retenčního objemu.

3.1.2 LSST model (Linear solvent strength theory)

Tento velmi rozšířený model v kapalinové chromatografii popisuje závislost retence analytu na objemovém zlomku organického rozpouštědla v mobilní fázi [3,4,2]:

$$\log k = \log k_w - S\phi \qquad (3)$$

k retenční faktor solutu pro dané složení mobilní fáze, tvořené binární směsí vody a organického rozpouštědla,
k_w retenční faktor solutu v mobilní fázi tvořené čistou vodou,
ϕ objemový zlomek organického rozpouštědla v mobilní fázi,
S parametr zahrnující vlastnosti solutu a daného organického rozpouštědla.

Použitelnost vztahu (3) je omezena platností na úzký rozsah složení mobilní fáze, největší odchylky nastávají v krajních koncentracích organického rozpouštědla ($\phi \rightarrow 0$ a $\phi \rightarrow 1$). Určitého zlepšení rovnice (3) lze dosáhnout kvadratickou závislostí, která je platná v celém rozsahu složení mobilní fáze [2,5]:

$$\log k = \log k_w + S_1\phi + S_2\phi^2 \qquad (4)$$

Varianta modelu LSST uvedená v rovnici (4) bývá nejčastěji v praxi používána.

3.2 Odhadové metody výpočtu solvatačních deskriptorů

Databáze solvatačních deskriptorů v rovnicích (1) a (2) obsahuje více než 5000 sloučenin. Deskriptory látek, které nejsou zahrnuty v zmíněné databázi, lze vypočítat s určitou přesností pomocí odhadových metod. Odhad deskriptorů *S*, *A*, *B* bývá zatížen větší chybou [1,6,7], ale parametry *L* a *E* je možné těmito metodami určit poměrně

přesně. V současnosti existují také programy pro výpočet LSER deskriptorů (ACD/Labs Absolv). V této části jsou popsány dvě metody použité k výpočtu deskriptoru *L* v kapitole 4.

3.2.1 Metoda Havelec-Ševčík

Metoda autorů Havelec a Ševčík (HS) je určená pouze pro odhad deskriptoru *L*. Byla vyvinuta na základě výsledků vícenásobné lineární regrese, prováděné na 939 alifatických a 1075 aromatických sloučeninách z databáze LSER deskriptorů [8,9]. Výsledná hodnota deskriptoru *L* pro studovanou látku (X) je určena rovnicí (5):

$$L_{,X} = \sum_{i=1}^{n} l_i * FG_i + \sum_{j=1}^{n} m_j * SC_j + \sum_{k=1}^{n} n_k * IC_k \qquad (5)$$

FG, *SC*, *IC* počet jednotlivých funkčních skupin (*FG*), strukturních příspěvků (*SC*) a interakčních příspěvků (*IC*) tvořících sloučeninu X,

i, *j*, *k* identifikační čísla daných funkčních skupin (*i*), strukturních příspěvků (*j*) a interakčních příspěvků (*k*),

l, *m*, *n* regresní koeficienty pro příspěvky funkčních skupin (*l*), strukturních příspěvků (*m*) a interakčních příspěvků (*n*).

Hodnoty jednotlivých příspěvků jsou uvedeny v tabulce 1.

3.2.2 Metoda Platts-Butina

Metoda vyvinutá autory Platts, Butina a ostatní (PB) je určena pro výpočet 6 LSER deskriptorů (*L*, *E*, *S*, *A*, *B*, B_0) s různou přesností odhadu jednotlivých parametrů [10,11]. Výpočet deskriptoru *L* metodou PB je podobný jako v případě metody HS. Hodnoty jednotlivých příspěvků této metody jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1

Fragmenty (skupiny) a hodnoty jejich příspěvků se směrodatnou odchylkou (*sd*) použité k výpočtu deskriptoru *L* pomocí metod HS a PB

Skupina	**Metoda HS**		**Metoda PB**	
	hodnota	*sd*	hodnota	*sd*
(-CH_3)	0,340	0,006	0,321	0,009
(-CH_2-)	0,502	0,001	0,499	0,002
(-CH<)	0,467	0,012	0,449	0,011
(>C<)	0,443	0,021	0,443	0,025
(=CH_2)	0,249	0,016	0,244	0,021
(=CH-)	0,504	0,013	0,469	0,004
(>C=)	0,658	0,020	0,624	0,008
cis izomer	0,112	0,040	-	-
Interakce alkylů [1]	0,119	0,013	-	-
Konstanta[2]	-	-	0,130	0,025

[1] interakce sousedících alkylů: jsou-li na uhlíkatém řetězci navázány vedle sebe alkylové skupiny, přičítá se tento příspěvek. Netýká se alkylů navázaných na uhlíky, mezi nimiž je dvojná vazba

[2] tato konstanta se automaticky přičítá ke každé počítané hodnotě deskriptoru

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Popis retence skupiny 21 látek LSER modelem v mobilních fázích methanol-voda a acetonitril-voda

Tato část navazuje na výsledky diplomových prací [12,13], kde byla zpracovávána data z HPLC retence na reverzní stacionární fázi v širokém rozsahu složení mobilní fáze. V uvedených pracích byla měřena vybraná skupina 21 látek, zahrnující různé druhy organických sloučenin, v mobilních fázích methanol-voda a acetonitril-voda v rozmezí 1 až 100 % obj. obsahu organického rozpouštědla. Cílem zmíněných prací byla predikce retence daných analytů LSER modelem v různém složení mobilní fáze.

Podmínkou výběru sloučenin byla dostupnost LSER deskriptorů, možnost UV detekce a alespoň částečná rozpustnost ve vodě. Byla vybrána reverzní stacionární fáze s navázaným C-8 uhlovodíkovým řetězcem (LiChrospher 60 RP-select B, 125 mm x 4 mm,

velikost částic 5 µm). Výsledky v této části čerpají ze stejných experimentálních dat, použitých v uvedených diplomových pracích. V kapitole 4.1 bylo studováno několik různých hledisek popisu retence skupiny 21 látek LSER modelem.

Byla vyhodnocena velikost chyby predikce retence (absolutní hodnota) pro jednotlivé analyty ze všech mobilních fází. Pořadí sloučenin podle rostoucí chyby predikce je znázorněno v tabulce 2.

Tabulka 2
Pořadí látek podle rostoucí chyby predikce pro mobilní fáze methanol-voda a acetonitril-voda

	MeOH-voda	Chyba predikce
1	Nitrobenzen	0,031
2	Ethylformiát	0,043
3	Chloroform	0,048
4	Nitroethan	0,053
5	Anilin	0,054
6	Cyklohexanon	0,072
7	Benzaldehyd	0,075
8	Propylformiát	0,085
9	Benzylalkohol	0,091
10	Nitromethan	0,113
11	Benzamid	0,113
12	Benzonitril	0,118
13	2-Pentanon	0,124
14	2-Nitroanilin	0,135
15	Benzen	0,164
16	Dichlormethan	0,167
17	*o*-Kresol	0,176
18	Butyraldehyd	0,190
19	Fenol	0,274
20	Diethylether	0,305
21	N,N-Dimethylformamid	0,374
	Průměr aromatické	***0,123***
	Průměr alifatické látky	***0,143***

	ACN-voda	Chyba predikce
1	Propylformiát	0,031
2	Nitrobenzen	0,049
3	Anilin	0,053
4	Benzaldehyd	0,054
5	Cyklohexanon	0,060
6	Benzylalkohol	0,063
7	Ethylformiát	0,067
8	Benzonitril	0,068
9	2-Pentanon	0,068
10	Chloroform	0,080
11	Nitroethan	0,085
12	Benzamid	0,104
13	2-Nitroanilin	0,104
14	Nitromethan	0,109
15	*o*-Kresol	0,123
16	Benzen	0,150
17	Fenol	0,165
18	Dichlormethan	0,174
19	Butyraldehyd	0,205
20	*N,N*-Dimethylformamid	0,226
21	Diethylether	0,284
	Průměr aromatické	***0,093***
	Průměr alifatické látky	***0,126***

V prostředí mobilní fáze methanol-voda průměrná chyba predikce činila hodnotu 0,123 pro aromáty a 0,143 pro alifatické látky. V případě mobilní fáze acetonitril-voda ukazuje podobný trend, hodnota chyby predikce je rovna 0,093 pro aromáty a 0,126 pro alifatické sloučeniny. Ukázalo se, že aromatické sloučeniny byly lépe popsané solvatačním modelem, než alifatické sloučeniny.

Dále byl použit model LSST (kap. 3.1.2) k znázornění závislosti retenčního chování látek na složení mobilní fáze. V prostředí mobilní fáze methanol-voda byla retence látek modelem LSST lépe popsaná, než v případě acetonitril-voda.

Byla sledována podobnost modelů LSER a LSST v popisu retence jednotlivých látek, na základě velikosti reziduí analytů. Ukázala se poměrně malá shoda obou modelů v popisu retence. Nelze říci, že látky dobře popsané modelem LSER byly zároveň dobře popsané i modelem LSST. Z hlediska popisu retence, model LSST se ukázal citlivější na složení mobilní fáze v prostředí acetonitril-voda. V krajních oblastech složení mobilní fáze, kde výrazněji převažuje jedna složka nad druhou, je vyšší chyba popisu retence, než v prostřední oblasti složení. V případě methanol-voda, model LSST vykazoval vyrovnanou hodnotu chyby popisu retence v celém složení mobilní fáze.

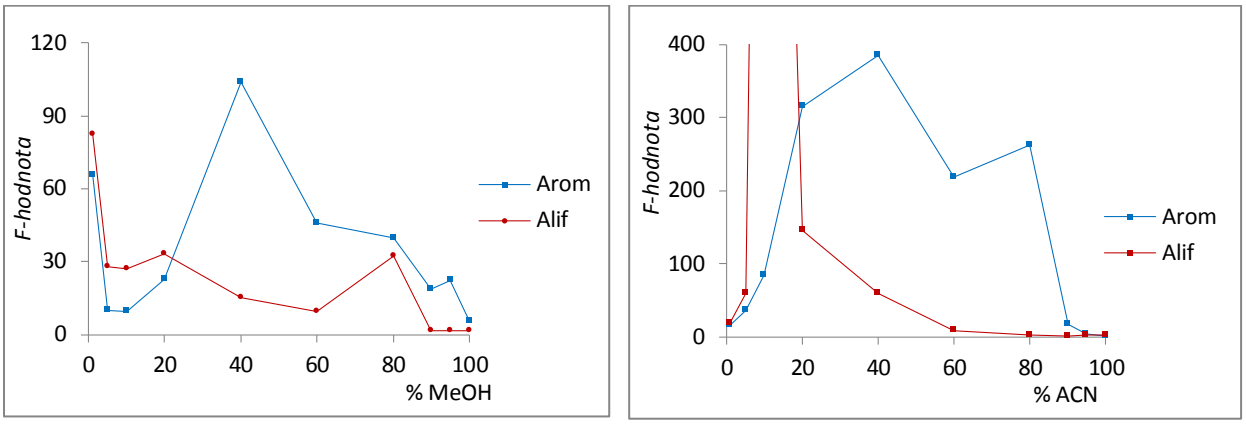
Následně byla použita kombinace modelů LSST a LSER pro popis retence. Důvodem byla možnost kompenzace odchylek od pravidelného retenčního chování analytů v krajních oblastech složení mobilní fáze. Nahrazením měřené retence látek hodnotami vypočtenými pomocí modelu LSST, který předpokládá pravidelné chování analytů, by se zmíněné odchylky eliminovaly.

Hodnoty retence látek vypočtené modelem LSST byly dosazeny místo měřené retence (log*k*) v regresním modelu. Byla provedena MLR a sestaven upravený LSER model. Na základě hodnot *F*-statistiky regrese byla vyhodnocena schopnost popisu modelu a porovnána s původním LSER modelem. Ukázalo se, že zavedením upravených hodnot retence do modelu LSER, vypočtených pomocí modelu LSST, nedošlo k zlepšení popisu retence. Model LSER lépe popisoval experimentální hodnoty log*k*, i přes jejich odlehlost od pravidelného průběhu retence znázorněného LSST vztahem.

Na závěr kapitoly 4.1 bylo studováno, jaký má vliv výběr látek použitých ke konstrukci LSER modelu na výsledný popis retence modelem. Skupina 21 analytů

obsahuje látky aromatické i alifatické, stejně tak kyslíkaté a dusíkaté deriváty organických sloučenin. Analyty byly rozděleny podle chemické struktury na skupiny zahrnující podobné sloučeniny.

Nejprve bylo 21 látek uspořádáno do dvou souborů, obsahujících pouze aromatické sloučeniny a pouze alifatické sloučeniny. V každé skupině byla provedena MLR postupně pro všechny mobilní fáze. Výsledná hodnota *F*-statistiky regrese byla použita ke srovnání popisu retence LSER modelem v obou skupinách.



a) b)

Obr. 1a,b)

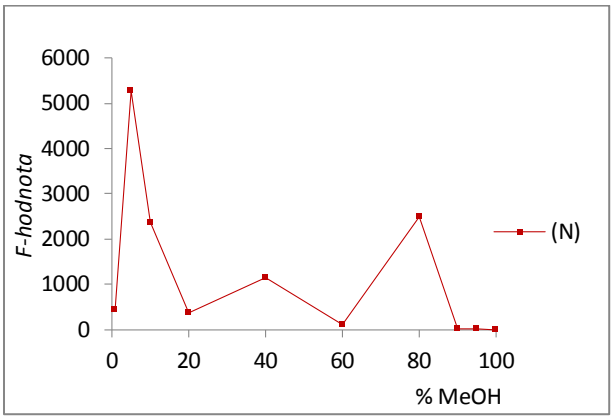
Znázornění hodnot *F*-statistiky regrese LSER modelu podle složení mobilní fáze pro skupinu látek aromatických (Arom) a alifatických (Alif) v prostředí:

a) methanol-voda,

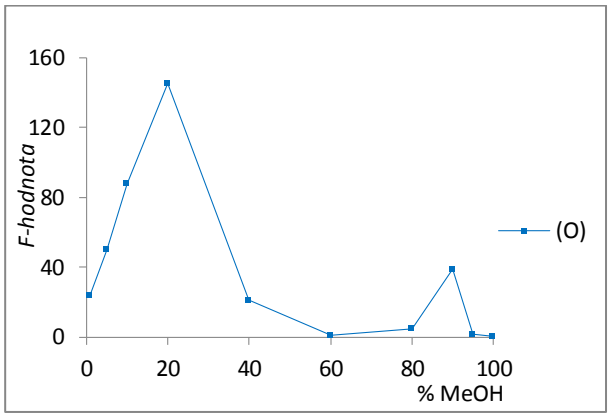
b) acetonitril-voda (bod odpovídající 10 % acetonitrilu (Alif) má *F*-hodnotu = 1896,2)

V obou mobilních fázích, methanol-voda a acetonitril-voda, se na základě hodnot *F*-statistiky ukázalo, že skupina aromatických látek vykazuje lepší popis retence LSER modelem v porovnání s alifatickými sloučeninami (obr. 1a,b).

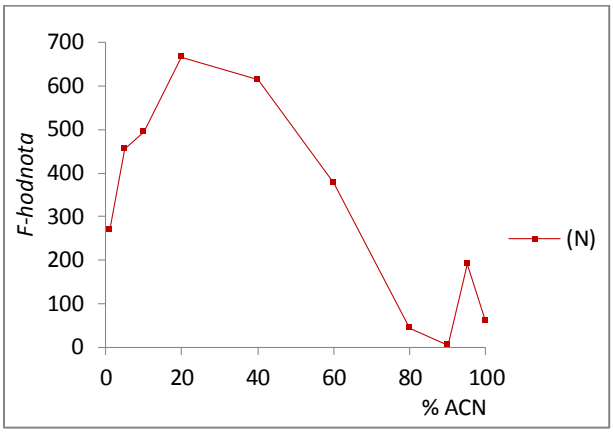
Dále byly látky rozděleny na dvě skupiny kyslíkatých sloučenin a dusíkatých. Následující postup byl stejný jako v předchozím případě. Na obr. 2 je zobrazena *F*-statistika regrese pro skupiny kyslíkatých a dusíkatých derivátů podle složení mobilní fáze methanol-voda a acetonitril-voda.



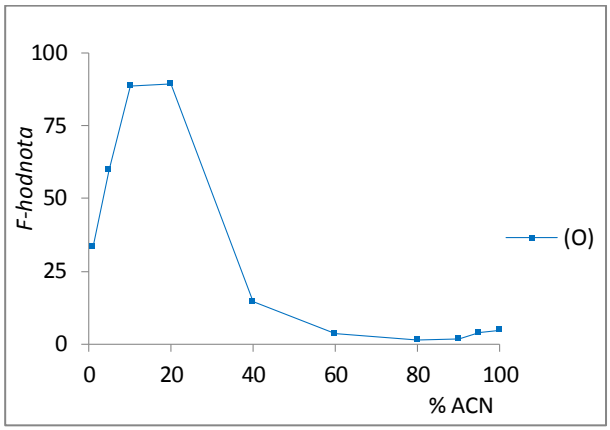
a)



b)



c)



d)

Obr. 2a,b,c,d)

Znázornění hodnot *F*-statistiky regrese LSER modelu pro skupiny látek podle složení mobilní fáze:

a) dusíkaté deriváty (N) pro mobilní fázi methanol-voda,

b) kyslíkaté deriváty (O) pro mobilní fázi methanol-voda,

c) dusíkaté deriváty (N) pro mobilní fázi acetonitril-voda,

d) kyslíkaté deriváty (O) pro mobilní fázi acetonitril-voda

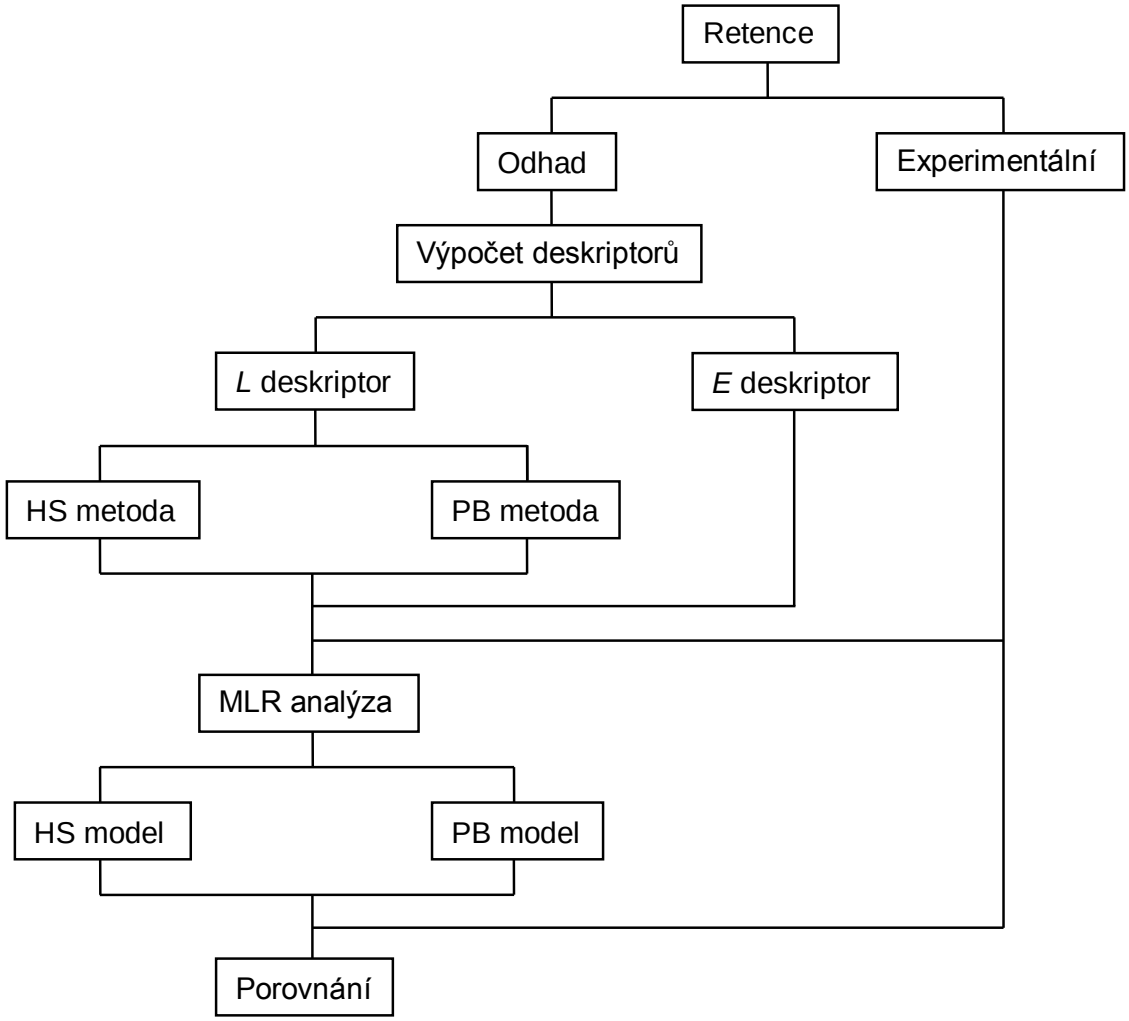
V mobilní fázi methanol-voda soubor dusíkatých analytů ukázal vysoké hodnoty *F*-statistiky (obr. 2a), dalece převyšující hodnoty původního souboru 21 sloučenin. Kyslíkaté sloučeniny poskytly podstatně menší *F*-hodnoty (obr. 2b). V mobilní fázi acetonitril-voda dusíkaté látky rovněž ukázaly vyšší *F*-hodnoty (obr. 2c), v porovnání s původním souborem všech analytů. Skupina kyslíkatých sloučenin (obr. 2d) vykazovala podstatně menší *F*-statistiku, znázorňující významnost LSER modelu pouze pro polovinu měřených mobilních fází (v rozmezí složení 1 - 40 % acetonitrilu).

Na základě uvedených výsledků je patrná citlivost LSER modelu na volbu analytů pro konstrukci regresního modelu.

4.2 Popis retence C5-C8 alkenů LSER modelem: použití dvou metod výpočtu deskriptoru *L*

V současnosti není žádná práce, která by se zabývala popisem retence celé skupiny izomerů alkenů LSER modelem v plynové chromatografii. Důvodem může být nedostupnost experimentálních deskriptorů analytů. Databáze solvatačních deskriptorů alkenů s 5 až 8 uhlíky v molekule (C5-C8) zahrnuje pouze 39 látek z celkového počtu 152 sloučenin. Proto zde byly použity odhadové metody (kap. 3.2) k získání hodnot deskriptorů *L*, *E* potřebných k popisu retence alkenů na nepolárních stacionárních fázích.

Deskriptor *E* byl přímo vypočten podle definice ze znalosti indexu lomu alkenu a McGowanova charakteristického objemu V_X [14]. Deskriptor *L* byl získán pomocí metod Havelec-Ševčík (HS) a Platts-Butina (PB). Experimentální hodnoty retence alkenů na stacionárních fázích skvalanu a polydimethylsiloxanu (PDMS) byly získány na základě prací skupiny Soják-Kubinec [15,16]. Na základě MLR měřených hodnot retence alkenů a jejich deskriptorů byly sestaveny dva LSER modely pro odhad retence alkenů, podle původu deskriptoru *L*, model HS a model PB. Schématický postup práce je znázorněn na obr. 3.



Obr. 3
Diagram schématického postupu práce

4.2.1 Popis retence C5-C7 alkenů

Vypočtené hodnoty deskriptorů $L_{,HS}$ a $L_{,PB}$ byly použity k popisu retence 59 alkenů C5-C7. Na základě analýzy reziduí jednotlivých látek, byla zjištěna vyšší chyba odhadu retence pro cis izomery alkenů, počítané modelem HS. Následně byla provedena korekce deskriptoru $L_{,HS}$ vyloučením příspěvku cis interakce (tab. 1). Poté byla vypočtena nová hodnota $L_{,HS\ no\ cis}$ bez příspěvku cis interakce pro všechny alkeny. Takto upravený model HS poskytoval podstatně lepší odhad retence, než původní model. Retence všech 59 alkenů byla počítána rovnicemi s jedním deskriptorem (L) a poté s oběma deskriptory (L, E), jak je uvedeno ve vztazích (6) až (9):

$RI_{,\text{calc SQ}} = 185{,}0(\pm 3{,}3)L_{,\text{HS no cis}} + 72{,}9(\pm 30{,}9)E_{,\text{calc}} + 94{,}3(\pm 8{,}8)$ (6)

(model HS $R^2 = 0{,}985$; $F = 1804$; $SE(RI) = 8{,}1$; $Q^2 = 0{,}983$; $n = 59$)

$RI_{,\text{calc SQ}} = 189{,}1(\pm 4{,}5)L_{,\text{PB}} + 105{,}3(\pm 40{,}4)E_{,\text{calc}} + 79{,}5(\pm 12{,}0)$ (7)

(model PB $R^2 = 0{,}974$; $F = 1032$; $SE(RI) = 10{,}6$; $Q^2 = 0{,}971$; $n = 59$)

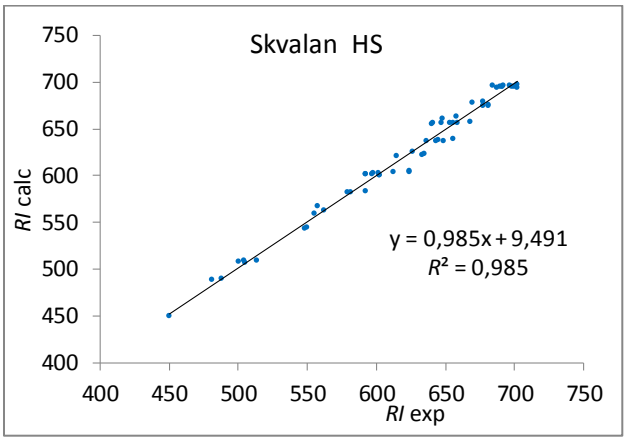
$RI_{,\text{calc PDMS}} = 187{,}4(\pm 3{,}0)L_{,\text{HS no cis}} + 69{,}9(\pm 27{,}4)E_{,\text{calc}} + 97{,}1(\pm 7{,}8)$ (8)

(model HS $R^2 = 0{,}988$; $F = 2354$; $SE(RI) = 7{,}1$; $Q^2 = 0{,}987$; $n = 59$)

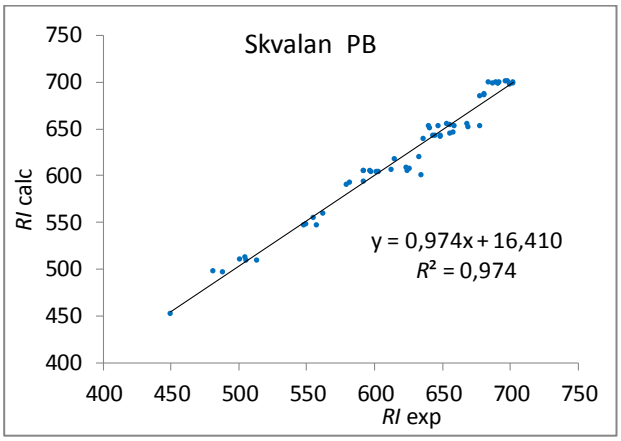
$RI_{,\text{calc PDMS}} = 191{,}6(\pm 4{,}3)L_{,\text{PB}} + 102{,}9(\pm 38{,}4)E_{,\text{calc}} + 82{,}2(\pm 11{,}4)$ (9)

(model PB $R^2 = 0{,}977$; $F = 1171$; $SE(RI) = 10{,}1$; $Q^2 = 0{,}975$; $n = 59$)

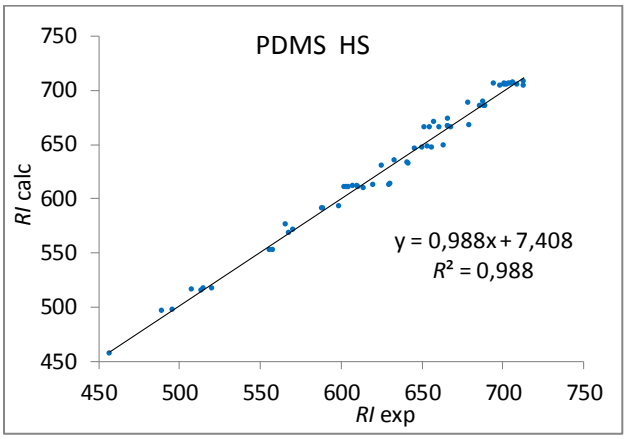
V rovnicích (6) až (9) je $RI_{,\text{calc SQ}}$ vypočtený retenční index alkenů na skvalanu, $RI_{,\text{calc PDMS}}$ vypočtený retenční index alkenů na PDMS, hodnoty v závorkách (±) jsou chyby odhadu regresních koeficientů, dále R^2 je koeficient determinace, F je hodnota Fisherovy F-statistiky, $SE(RI)$ označuje směrodatnou odchylku odhadu závisle proměnné (RI), Q^2 je predikovaný koeficient determinace (R^2_{CV}) a n je počet bodů (látek) v regresi. Na obr. 4 je znázorněna vypočtená retence (RI calc) C5-C7 alkenů v porovnání s experimentální retencí (RI exp) podle rovnic (6) až (9).



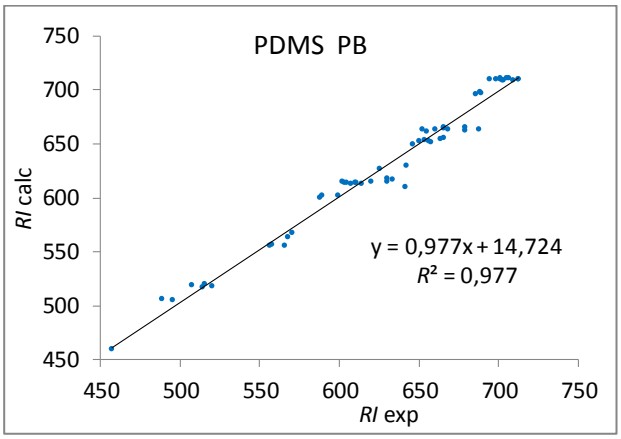
a)



b)



c)



d)

Obr. 4a,b,c,d)

Porovnání vypočtené retence (*RI* calc) s naměřenou retencí (*RI* exp) pomocí dvou-deskriptorového modelu:

a) retence na skvalanu počítaná modelem HS,

b) retence na skvalanu počítaná modelem PB,

c) retence na PDMS počítaná modelem HS,

d) retence na PDMS počítaná modelem PB.

Celkově dvou-deskriptorový model lépe popisoval retenci C5-C7 alkenů. V obou případech model HS poskytoval lepší odhad retence.

4.2.2 Popis retence C8 alkenů

Byly získány deskriptory $L_{,HS}$, $L_{,PB}$ a E pro 93 izomerů oktenů, podobně jako v kap. 4.1.2. Deskriptor $L_{,HS\ no\ cis}$ se rovněž ukázal jako vhodnější k popisu retence alkenů, porovnáním s $L_{,HS}$. Dále byl použit další model k odhadu deskriptorů, založený na programu ADME Absolv 2.0. Tento model se nakonec ukázal jako málo vyhovující k popisu retence alkenů, v porovnání s původními modely HS a PB. V rovnicích (10) až (13) jsou zobrazeny modely HS a PB pro popis retence s oběma deskriptory:

$$RI_{,calc\ SQ} = 135{,}2(\pm 10{,}4)L_{,HS\ no\ cis} + 103{,}6(\pm 44{,}3)\ E_{,calc} + 264{,}6(\pm 33{,}5) \quad (10)$$

(model HS $R^2 = 0{,}775$; $F = 155$; $SE(RI) = 12{,}9$; $Q^2 = 0{,}757$; $n = 93$)

$$RI_{,calc\ SQ} = 114{,}2(\pm 7{,}4)L_{,PB} + 222{,}2(\pm 34{,}8)E_{,calc} + 327{,}5(\pm 24{,}0) \quad (11)$$

(model PB $R^2 = 0{,}825$; $F = 212$; $SE(RI) = 11{,}4$; $Q^2 = 0{,}810$; $n = 93$)

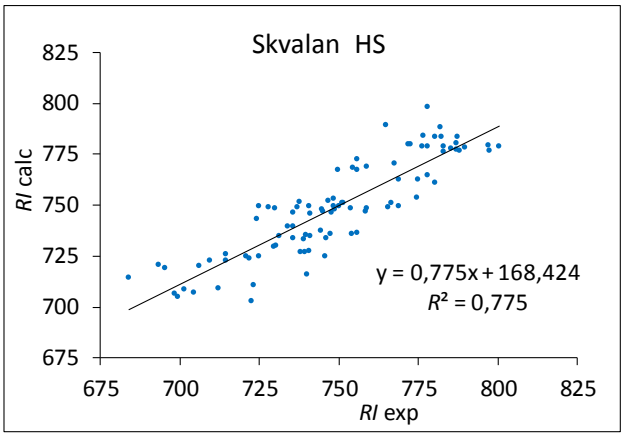
$$RI_{,calc\ PDMS} = 143{,}3(\pm 9{,}2)L_{,HS\ no\ cis} + 102{,}5(\pm 38{,}8)\ E_{,calc} + 246{,}7(\pm 29{,}3) \quad (12)$$

(model HS $R^2 = 0{,}833$; $F = 224$; $SE(RI) = 11{,}3$; $Q^2 = 0{,}757$; $n = 93$)

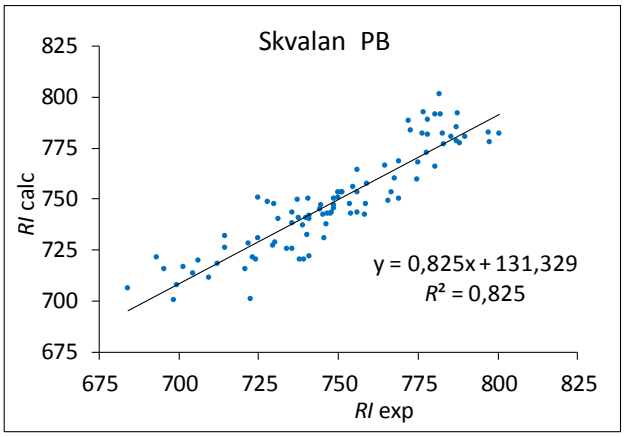
$$RI_{,calc\ PDMS} = 119{,}6(\pm 6{,}4)L_{,PB} + 231{,}1(\pm 30{,}0)E_{,calc} + 318{,}2(\pm 20{,}7) \quad (13)$$

(model PB $R^2 = 0{,}874$; $F = 311$; $SE(RI) = 9{,}8$; $Q^2 = 0{,}863$; $n = 93$)

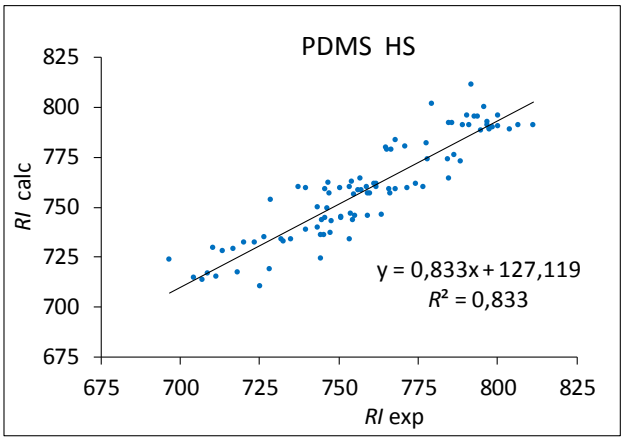
V rovnicích (10) až (13) je význam jednotlivých symbolů stejný jako v předchozích vztazích. Na obr. 5 jsou znázorněny hodnoty vypočtené a experimentální retence oktenů podle uvedených rovnic (10) až (13).



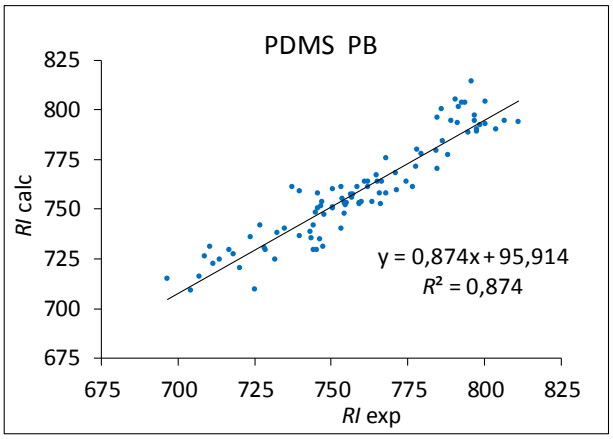
a)



b)



c)



d)

Obr. 5a,b,c,d)

Porovnání vypočtené retence (*RI* calc) s naměřenou retencí (*RI* exp) pomocí dvou-deskriptorového modelu:

a) retence na skvalanu počítaná modelem HS,

b) retence na skvalanu počítaná modelem PB,

c) retence na PDMS počítaná modelem HS,

d) retence na PDMS počítaná modelem PB

Model PB s použitím deskriptorů $L_{,PB}$ a $E_{,calc}$ poskytnul lepší popis retence 93 oktenů, ve srovnání s modelem HS. Dvou-deskriptorový LSER model pro popis retence oktenů ukázal výraznější rozdíly mezi modely HS a PB, především ve velikosti regresních koeficientů a významu jednotlivých členů rovnic. Deskriptor $L_{,HS\ no\ cis}$ nejlépe koreloval s retencí oktenů, lze jej považovat za optimální proměnnou pro použití v jedno-deskriptorovém modelu.

4.2.3 Popis retence C5-C8 alkenů

V poslední části kapitoly 4 byla použitá retenční data spojena v jeden celek a byl studován popis retence všech C5-C8 alkenů, zahrnující 152 sloučenin. V rovnicích (14) až (17) jsou zobrazeny modely HS a PB s jediným deskriptorem *L*:

$$RI_{,\text{calc SQ}} = 183{,}8(\pm 2{,}4)L_{,\text{HS no cis}} + 107{,}7(\pm 7{,}9) \quad (14)$$

(model HS $R^2 = 0{,}974$; $F = 5709$; $SE(RI) = 12{,}3$; $Q^2 = 0{,}974$; $n = 152$)

$$RI_{,\text{calc SQ}} = 189{,}3(\pm 3{,}1)L_{,\text{PB}} + 95{,}2(\pm 9{,}9) \quad (15)$$

(model PB $R^2 = 0{,}962$; $F = 3743$; $SE(RI) = 15{,}1$; $Q^2 = 0{,}961$; $n = 152$)

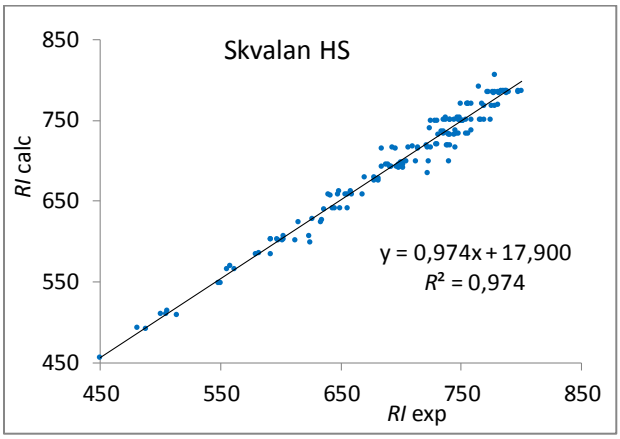
$$RI_{,\text{calc PDMS}} = 186{,}2(\pm 2{,}1)L_{,\text{HS no cis}} + 109{,}8(\pm 6{,}9) \quad (16)$$

(model HS $R^2 = 0{,}981$; $F = 7579$; $SE(RI) = 10{,}9$; $Q^2 = 0{,}980$; $n = 152$)

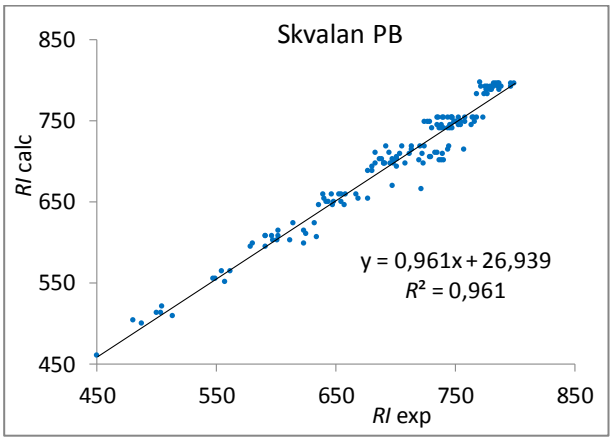
$$RI_{,\text{calc PDMS}} = 191{,}7(\pm 2{,}9)L_{,\text{PB}} + 97{,}3(\pm 9{,}3) \quad (17)$$

(model PB $R^2 = 0{,}967$; $F = 4421$; $SE(RI) = 14{,}1$; $Q^2 = 0{,}966$; $n = 152$)

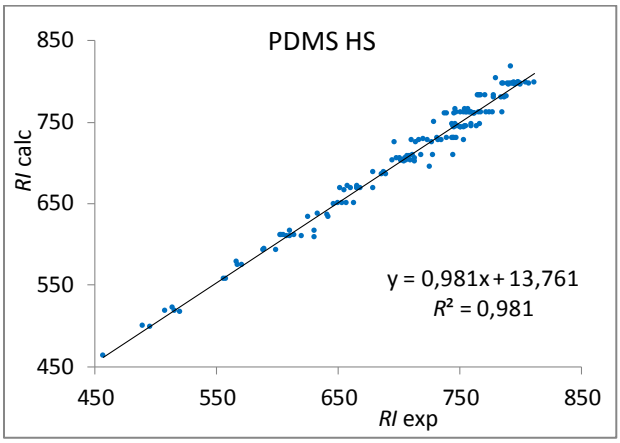
V rovnicích (14) až (17) je význam jednotlivých symbolů stejný jako v předchozích vztazích. Podle uvedených rovnic, model HS poskytuje lepší popis retence v porovnání s modelem PB. Rozdíl mezi oběma modely s jedním deskriptorem je výraznější, než u skupiny oktenů. Hodnoty vypočtené retence C5-C8 alkenů jedno-deskriptorovými modely HS a PB podle rovnic (14) až (17) byly porovnány s experimentální retencí a graficky znázorněny (obr. 6a, b, c, d).



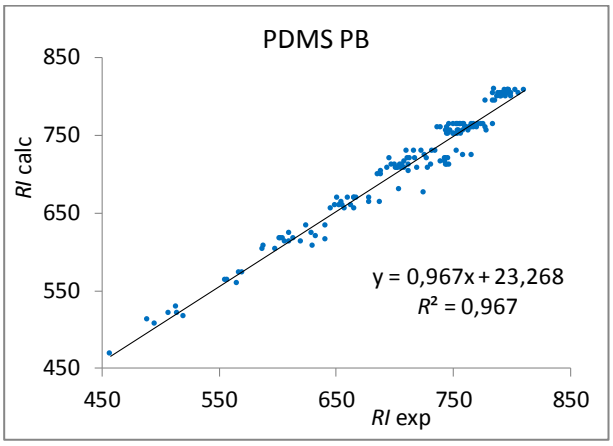
a)



b)



c)



d)

Obr. 6a,b,c,d)

Porovnání vypočtené retence (*RI* calc) s naměřenou retencí (*RI* exp) pomocí jedno-deskriptorového modelu:

a) retence na skvalanu počítaná modelem HS,

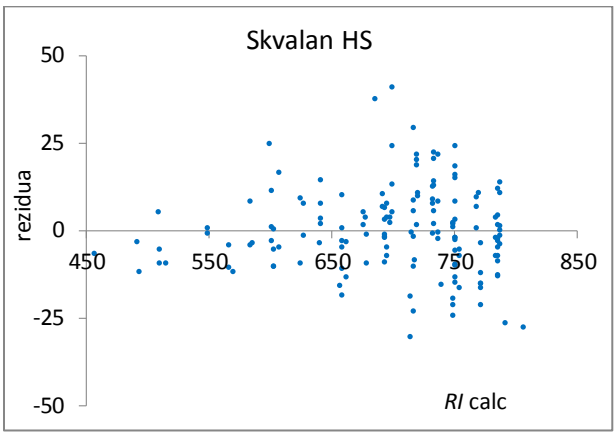
b) retence na skvalanu počítaná modelem PB,

c) retence na PDMS počítaná modelem HS,

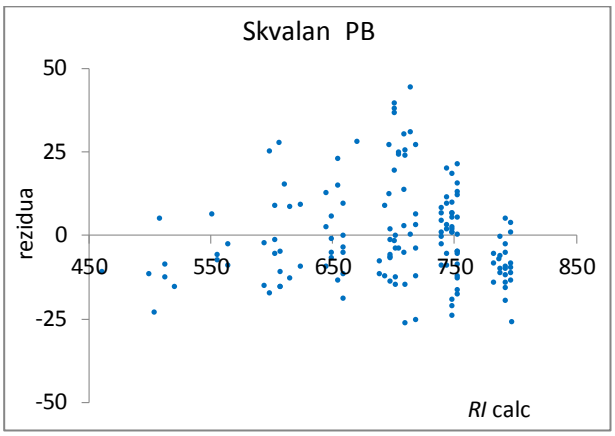
d) retence na PDMS počítaná modelem PB.

Dále byla ověřována statistická platnost regresních modelů v rovnicích (14) až (17). Byla provedena analýza reziduí podle testů homoskedasticity (náhodnost a nezávislost reziduí) pomocí 5 různých testů. Na základě výsledků testů nelze jednoznačně rozhodnout o platnosti modelů, neboť zhruba polovina z pěti testů prokázala heteroskedasticitu. Výsledné hodnoty se u většiny testů pohybují blízko kritických hodnot.

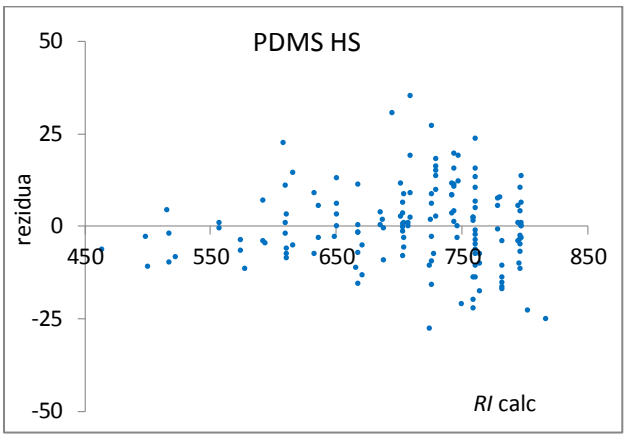
Rezidua obou modelů v rovnicích (14) až (17) jsou znázorněny na obr. 7. V uvedených grafech je patrné nerovnoměrné rozložení bodů.



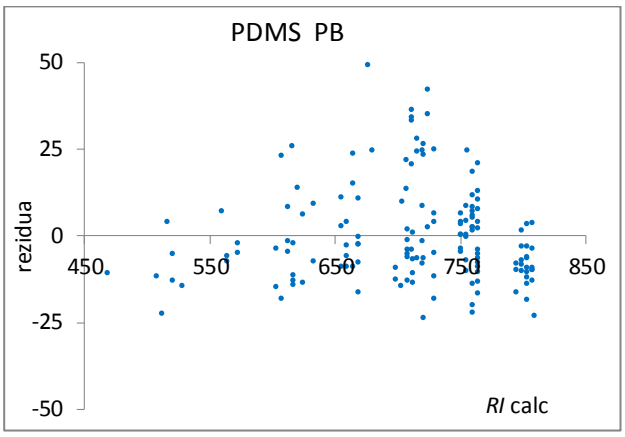
a)



b)



c)



d)

Obr. 7a,b,c,d)

Hodnoty reziduí vypočtené retence C5-C8 alkenů (*RI* exp - *RI* calc) podle rovnic (14) až (17) pro:

a) odhad retence na skvalanu modelem HS,

b) odhad retence na skvalanu modelem PB,

c) odhad retence na PDMS modelem HS,

d) retence na PDMS modelem PB.

V případě rovnic s oběma deskriptory *L*, *E* byla heteroskedasticita reziduí prokázána ve všech případech. Závěrem lze shrnout, že žádný z modelů HS a PB při použití dvou deskriptorů *L*, *E* nesplňuje podmínky platnosti regresního modelu. Modely HS a PB

s jedním deskriptorem *L* lze považovat za platné, ale celkově méně vhodné pro popis retence C5-C8 alkenů.

5. ZÁVĚRY

Solvatační model byl použit ke studiu retenčního chování látek v kapalinové a plynové chromatografii. V první kapitole, zabývající se kapalinovou chromatografií, byl studován popis retence 21 látek solvatačním modelem na reverzní stacionární fázi v širokém rozmezí složení mobilní fáze methanol-voda a acetonitril-voda. Ukázalo se, že aromatické sloučeniny byly lépe popsané solvatačním modelem, než alifatické sloučeniny.

Retenční chování jednotlivých analytů bylo studováno pomocí modelu LSST. V prostředí mobilní fáze methanol-voda byla retence látek lépe popsaná modelem LSST, než v případě acetonitril-voda. Dále byla použita kombinace modelů LSER a LSST, za účelem zlepšit popis retence látek v krajních oblastech složení mobilní fáze, kde analyty vykazují nepravidelnou retenci. Takto upravený model neposkytnul lepší popis retence oproti původnímu LSER modelu.

Byl sledován vliv jednotlivých analytů, použitých pro formulaci LSER modelu, na celkovou schopnost popisu retence modelem. Odlišných výsledků v odhadu retence bylo dosaženo použitím regresního souboru látek obsahujícího pouze sloučeniny aromatické, nebo naopak jen alifatické. Rozdílné výsledky také poskytoval solvatační model formulovaný pouze z kyslíkatých derivátů, nebo naopak dusíkatých derivátů organických látek.

Druhá kapitola práce, tematicky zaměřená na plynovou chromatografii, se zabývala popisem retence skupiny 152 izomerů C5-C8 alkenů LSER modelem, na stacionárních fázích skvalanu a polydimethylsiloxanu. Solvatační deskriptory alkenů byly získány pomocí odhadových metod. Deskriptor *L* byl počítán metodami Havelec-Ševčík (HS) a Platts-Butina (PB), deskriptor *E* byl přímo určen podle hodnot indexu lomu a McGowanova charakteristického objemu V_X alkenů.

Na základě použitých metod k odhadu deskriptorů byly sestaveny dva modely k popisu retence alkenů, model HS a model PB. Byla zjištěna vyšší chyba odhadu retence

pro cis izomery alkenů, počítané modelem HS. Po úpravě modelu HS odstraněním příspěvku cis interakce, bylo dosaženo podstatného zlepšení v popisu retence.

Oba modely byly použity k odhadu retence 59 alkenů C5-C7. Model HS s oběma deskriptory $L_{,\text{HS no cis}}$ a $E_{,\text{calc}}$ poskytnul přesnější popis retence, ve srovnání s modelem PB. Dále byla popisována retence skupiny 93 oktenů, nejlepších výsledků bylo dosaženo modelem PB pomocí deskriptorů $L_{,\text{PB}}$, a $E_{,\text{calc}}$. Na závěr byla studována retence celé skupiny C5-C8 alkenů, kde se výrazněji projevovala heteroskedasticita reziduí, zvláště u dvou-deskriptorových modelů. V případě jedno-deskriptorových modelů HS a PB nebyla heteroskedasticita jednoznačně prokázána. Nejlepší popis retence 152 alkenů s jediným deskriptorem *L* poskytnul model HS.

6. POUŽITÁ LITERATURA

[1] M. Vitha, P.W. Carr: The chemical interpretation and practice of linear solvation energy relationships in Chromatography, J. Chromatogr. A 1126 (2006) 143-194

[2] C.F. Poole, S.K. Poole: Column selectivity from the perspective of the solvation parameter model, J. Chromatogr. A 965 (2002) 263-299

[3] L. R. Snyder, J. W. Dolan, J. R. Gant: Gradient elution in high-performance liquid chromatography: I. Theoretical basis for reversed-phase systems, J. Chromatogr. 165 (1979) 3-30

[4] K. Valkó, L. R. Snyder, J. L. Glajch: Retention in reversed-phase liquid chromatography as a function of mobile-phase composition, J. Chromatogr. A 656 (1993) 501-520

[5] L. C. Tan, P. W. Carr: Extra-thermodynamic relationships in chromatography—study of the relationship between the slopes and intercepts of plots of ln k' vs. mobile phase composition in reversed-phase chromatography, J. Chromatogr. A 656 (1993) 521-535

[6] C. F. Poole, S. N. Atapattu, S. K. Poole: Determination of solute descriptors by chromatographic methods, Anal. Chim. Acta 652 (2009) Sp. Iss. 32-53

[7] A. Stenzel, S. Endo, K. U. Goss: Measurements and predictions of hexadecane/air partition coefficients for 387 environmentally relevant compounds, J. Chromatogr. A 1220 (2012)132-142

[8] P. Havelec, J. G. K. Ševčík: Extended additivity model of parameter logL16, J. Phys. Chem. Ref. Data 25(6) (1996) 1483-1493

[9] P. Havelec, J. G. K. Ševčík: Concept of additivity for a non-polar solute-solvent criterion log L16

[10] J. A. Platts, D. Butina, A. Hersey: Estimation of Molecular Linear Free Energy Relation Descriptors Using a Group Contribution Approach, J. Chem. Inf. Comput. Sci. 39 (1999) 835-845

[11] J. A. Platts, M. H. Abraham, D. Butina, A. Hersey: Estimation of Molecular Linear Free Energy Relationship Descriptors by a Group Contribution Approach. 2. Prediction of Partition Coefficients, J. Chem. Inf. Comput. Sci. 40 (2000) 71-80

Non-aromatic compounds, J. Chromatogr. A 677 (1994) 319-329

[12] Š. Jirkal: Diplomová práce, Přf UK, Praha (2000)

[13] M. Machovcová: Diplomová práce, Přf UK, Praha (2005)

[14] M. H. Abraham, J. C. McGowan: The use of characteristic volumes to measure cavity terms in reversed phase liquid chromatography, Chromatographia 23,4 (1987) 243-246

[15] L. Soják, G. Addová, R. Kubinec: Gas chromatographic–mass spectrometric characterization of all acyclic C5 - C7 alkenes from fluid catalytic cracked gasoline using polydimethylsiloxane and squalane stationary phases, J. Chromatogr. A 947(2002) 103-117

[16] L. Soják, G. Addová, R. Kubinec, A. Kraus, A. Boháč: Capillary gas chromatography–mass spectrometry of all 93 acyclic octenes and their identification in fluid catalytic cracked gasoline, J. Chromatogr. A 1025(2) (2004) 237-253

SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK

A	celková acidita vodíkové vazby analytu
a	regresní koeficient LSER rovnice
B	celková bazicita vodíkové vazby analytu
B_0	celková bazicita vodíkové vazby solutu (proměnlivá bazicita)
b	regresní koeficient LSER rovnice
c	konstanta LSER rovnice

C5-C8 organická sloučenina s 5 až 8 uhlíky v molekule

E přebytková molární refrakce

$E_{,calc}$ vypočtený deskriptor E

e regresní koeficient LSER rovnice

F Fisherova F-statistika

FG počet funkčních skupin

ϕ objemový zlomek organického rozpouštědla v mobilní fázi

GC plynová chromatografie

HPLC vysokoúčinná kapalinová chromatografie

HS metoda Havelec-Ševčík

IC počet interakčních příspěvků

k retenční faktor analytu

k_w retenční faktor solutu v mobilní fázi tvořené čistou vodou

L logaritmus rozdělovacího koeficientu plyn-hexadekan ($\log L^{16}$)

$L_{,HS}$ deskriptor L počítány metodou Havelec-Ševčík

$L_{,HS\ no\ cis}$ deskriptor L počítány metodou Havelec-Ševčík bez cis interakce

$L_{,PB}$ deskriptor L počítány metodou Platts-Butina

l regresní koeficient LSER rovnice

LC kapalinová chromatografie

LSER Linear solvation energy relationships

n počet bodů (látek) v regresi

PB metoda Platts-Butina

PDMS polydimethylsiloxan

Q^2 predikovaný koeficient determinace (R^2_{cv})

R^2 koeficient determinace

RI retenční index

S deskriptor dipolarity/polarizovatelnosti

S parametr zahrnující vlastnosti solutu a organického rozpouštědla

s regresní koeficient LSER rovnice

sd směrodatná odchylka

$SE(RI)$ směrodatná odchylka odhadu závisle proměnné (RI)

SC počet strukturních příspěvků

V McGowanův charakteristický objem

v regresní koeficient LSER rovnice

V_X McGowanův charakteristický objem

Seznam publikací

Š. Jirkal, M. Machovcová, J. G. K. Ševčík: Application of solvation model to prediction of the solute retention in liquid chromatography over a wide range of mobile-phase compositions, *Acta Chromatogr*. 28(1) (2016) 59-78

Š. Jirkal, J. G. K. Ševčík: Application of two methods of calculation of solvation descriptor *L* to estimate C5–C7 alkenes retention, *J. Sep. Sci* 38 (2015) 2447–2454

Š. Jirkal, J. G. K. Ševčík: Comparison of two methods of calculation LSER descriptor *L* on retention ata of octenes, příspěvek ve sborníku *6th ISC Modern Analytical Chemistry*, ISBN 978-80-7444-005-2 (2010)

Seznam přednášek

Š. Jirkal: Using of LSER in chromatography, Second joint seminar, Německo, Bayreuth, 12. 04. 2002.

Š. Jirkal: Prediction of retention behaviour of alkenes, Third joint seminar, Česká Republika, Praha, 18. 11. 2002.

Š. Jirkal: Comparison of two methods of calculation LSER descriptor *L* on retention data of octenes, 6th International Students Conference “Modern Analytical Chemistry“: Česká republika, Praha, 23. - 24. 9. 2010.

Curriculum Vitae

Osobní údaje:

Jméno: Mgr. Štěpán Jirkal
Datum narození: 21. 09. 1976
Místo narození: Praha
Adresa: Na Beránce 3, Praha 6, 160 00
Kontakt: stepan.jirkal@gmail.com

Vzdělání:

Od 2008	Doktorské studium: Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, školitel: prof. Ing. Jiří Ševčík, DrSc. (do 2014), doc. RNDr. Radomír Čabala, Dr. (od 2014), konzultant: prof. Ing. Jiří Ševčík, DrSc. (od 2014)
2000 – 2008	Doktorské studium: Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, školitel: prof. Ing. Jiří Ševčík, DrSc., studium nedokončeno
1995 – 2000	Magisterské studium: Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, obor Analytická chemie
1991 – 1995	Gymnázium Jana Keplera, Praha

Pracovní zkušenosti:

2000 – 2003 Vědecký pracovník, Katedra analytické chemie, Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta

Semináře a kurzy:

Albertov Comprehensive Days, Teorie a praxe komprehensivních separačních metod, Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta UK v Praze, 07.- 08. 02. 2012

Jazykové znalosti:

Anglický jazyk – (certifikát PET, úroveň B1, datum zkoušky: červen 2010)
Německý jazyk – pasivní znalost

Charles University in Prague, Faculty of Science
Department of Analytical chemistry

Ph.D. study program: Analytical chemistry

Summary of the Ph.D. Thesis

Application of solvation model to retention description of selected compounds in liquid and gas chromatography

Mgr. Štěpán Jirkal

Supervisor: doc. RNDr. Radomír Čabala, Dr.

Supervisor-consultant: prof. Ing. Jiří Ševčík, DrSc.

Prague, 2016

This thesis summarizes the results obtained in the years 2000 – 2016 during my Ph.D. studies at the Department of Analytical chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague, Hlavova 2030, 128 43, Praha 2.

The work was financially supported by projects of the Ministry of Education, Youth and Sports (MSM 113100002), and SVV projects of Charles University in Prague.

Supervisor: doc. RNDr. Radomír Čabala, Dr.
Department of Analytical chemistry,
Faculty of Science, Charles University in Prague

Supervisor-consultant: prof. Ing. Jiří Ševčík, DrSc.
Department of Analytical chemistry,
Faculty of Science, Charles University in Prague

ABSTRACT

The solvation model based on LSER was applied to study the retention behaviour of analytes in liquid and gas chromatography. In a first chapter, a retention description of 21 solutes was investigated by using the solvation model in a wide range of mobile phase composition methanol-water and acetonitrile-water. Generally, the retention of aromatic compounds was better described by the solvation model, compared to aliphatic compounds.

Effect of the particular analytes used to formulate the LSER model on ability of retention description was studied. Different results of a retention estimation was achieved by using the regression set of compounds including aromatic solutes only or by contrast aliphatic solutes only. The solvation model developed on the basis of oxygen derivatives provided distinct results in comparison to model formulated with nitrogen derivatives only.

The second chapter of this work, focused on gas chromatography, dealt with a description of retention of 152 isomers C5-C8 alkenes by the LSER model. The solvation descriptor *L* was obtained by using two estimation methods Havelec-Ševčík (HS) and Platts-Butina (PB), the descriptor *E* was calculated according to its definition.

Two models for retention description of alkenes were constructed, the HS model and the PB model, derived from the methods for estimation of descriptors. Higher error of the estimated retention calculated by the HS model was found for cis isomers of alkenes. After a modification of the HS model by omitting the contribution for cis interaction was achieved a significant improvement in the retention description.

Both the models were used to estimate the retention of 59 alkenes C5-C7. The HS model with descriptors $L_{\text{HS no cis}}$ and E_{calc} provided the more accurate retention description compared to the PB model. Next, a retention description of 93 octenes was carried out and the best results were achieved by the PB model using the descriptors L_{PB} and E_{calc}. Finally, retention of all 152 alkenes C5-C7 was studied, where noticeable heteroscedasticity of residuals occurred at the two-descriptor models. In case of the one-descriptor models HS and PB, heteroscedasticity was not entirely proved. The best retention description of 152 alkenes with only single descriptor *L* provided the HS model.

CONTENTS

1. INTRODUCTION 5
2. AIMS OF THE STUDY 6
3. MATERIALS AND METHODS 6
3.1 Retention models in chromatography 6
3.1.1 Abraham solvation model (LSER) 6
3.1.2 LSST model (Linear solvent strength theory) 7
3.2 Estimation methods of calculation of solvation descriptors 8
3.2.1 The Havelec-Ševčík method 8
3.2.2 The Platts-Butina method 8
4. RESULTS AND DISCUSSION 9
4.1 Retention description of 21 analytes by LSER model in methanol-water and acetonitrile-water mobile phases 9
4.2 Retention description of C5-C8 alkenes by LSER model: application of two methods of calculation of descriptor *L* 14
4.2.1 Retention description of C5-C7 alkenes 15
4.2.2 Retention description of C8 alkenes 18
4.2.3 Retention description of C5-C8 alkenes 20
5. CONCLUSIONS 23
6. REFERENCES 24
LIST OF ABBREVIATIONS 25
Selected publications 27
Oral presentations 27
Curriculum Vitae 28

1. INTRODUCTION

Liquid and gas chromatography rank among the most important separation methods used in analytical chemistry. Separation of compounds by these methods is a complex process based on various interactions among the analytes, the stationary phase and the mobile phase. A general description of this phenomenon has not been completely explained yet.

Considering a range of the separation methods applications, research on the chromatographic retention mechanism is an important direction contributing to progress in analytical chemistry. Appropriate choice of the experimental conditions is basis for performance of good analysis. Understanding of the mechanism of analytes separation in chromatography can play an essential role in selection of suitable methods and optimization the separation conditions.

The solvation model derived from the linear solvation energy relationships (LSER) theory describes the chromatographic separation of compounds from a qualitative and quantitative point of view. Nowadays, it ranks among the most employed and the most frequented approaches to retention description. The model represents particular interactions of the separation process with parameters of the analyte, the stationary phase and the mobile phase.

The presented work deals with retention description of compounds in liquid and gas chromatography by using the solvation model. The experimental results are thematically depicted in two main chapters. The first part is focused on a study of the solvation model in liquid chromatography with different mobile phase composition of methanol-water and acetonitrile-water mixtures. The ability of retention description by the solvation model of selected group of 21 compounds is investigated in a wide range of mobile phase composition, from 1 % to 100 % of organic solvent. The second part is aimed at retention description of alkenes by the solvation model in gas chromatography. For all 152 isomers of C5-C8 alkenes, the solvation descriptors *L*, *E* are calculated by using estimation methods and subsequently applied to the retention description of the alkenes group.

2. AIMS OF THE STUDY

The aim of the work in Chapter 4.1 is to study of HPLC retention description of a varied group of 21 analytes using the solvation model. Attention is focused on a wide range of mobile phase composition, especially in border areas, where one component predominates over the other one.

The aim of the work in Chapter 4.2 is to describe retention of all isomers of C5-C8 alkenes by the calculated LSER descriptors and simultaneously compare two methods employed to calculate the descriptor *L*.

3. MATERIALS AND METHODS

3.1 Retention models in chromatography

The LSER model, which is the main subject of this thesis, is represented in Chapter 3.1.1. Next, another retention model (LSST) is mentioned, because it has been used in a combination with the LSER model for a retention description of the group of 21 compounds in Chapter 4.1.

3.1.1 Abraham solvation model (LSER)

The contemporary form of the LSER relation developed by Michael H. Abraham for retention description in liquid and gas chromatography is expressed [1,2]:

$\log k = vV + eE + sS + aA + bB + c$ LC (liquid-liquid) (1)

$\log k = lL + eE + sS + aA + bB + c$ GC (gas- liquid) (2)

k retention factor of the analyte,
V the McGowan characteristic volume,
E the excess molar refraction,
S the dipolarity–polarizability descriptor,
A the overall hydrogen-bond acidity of the analyte,
B the overall hydrogen-bond basicity of the analyte,

L logarithm of the partition coefficient gas-hexadecane ($\log L^{16}$).

In Equations (1) and (2), the capital letters *V*, *E*, *S*, *A*, *B*, *L* denote descriptors (parameters) of the analyte according to the specific interactions. The small letters *v*, *e*, *s*, *a*, *b*, *l, c* are the regression coefficients including properties of the stationary phase, the mobile phase and temperature. Retention of the analyte in Eq. (1) and (2) can also be described by other quantities as retention index (*RI)* or logarithm of the specific retention volume.

3.1.2 LSST model (Linear solvent strength theory)

This very frequently used model in liquid chromatography describes dependence of the analyte retention on the volume fraction of organic solvent in the mobile phase [3,4,2]:

$$\log k = \log k_w - S\phi \qquad (3)$$

k the solute retention factor for the mobile phase composition consisting of binary mixture of water and organic solvent,
k_w the solute retention factor for the mobile phase consisting of pure water,
ϕ the volume fraction of organic solvent in the mobile phase,
S parameter including properties of the solute and the organic solvent.

Application of Equation (3) is limited to a narrow range of mobile phase composition, the highest deviations occur in the border concentrations of organic solvent ($\phi \rightarrow 0$ a $\phi \rightarrow 1$). Some improvements of Eq. (3) can be achieved by quadratic relation which is valid for the whole range of the mobile phase composition [2,5]:

$$\log k = \log k_w + S_1\phi + S_2\phi^2 \qquad (4)$$

The variant of the LSST model mentioned in Eq. (4) is most frequently used in practical applications.

3.2 Estimation methods of calculation of solvation descriptors

The database of the solvation descriptors in Eq. (1) and (2) includes more than 5000 compounds. Descriptors of substances not involved in the mentioned database can be calculated with limited accuracy by using the estimation methods. Calculation of the descriptors *S*, *A*, *B* is performed with a higher deviation [1,6,7], but the parameters *L* and *E* can be determined quite precisely by these methods. Nowadays, programs for calculation of the LSER descriptors are also available (ACD/Labs Absolv). Two methods used to calculate the descriptor *L* are represented in this chapter.

3.2.1 The Havelec-Ševčík method

A method of the authors Havelec and Ševčík (HS) is intended only to estimate the descriptor *L.* It was established on the basis of the results of MLR analysis performed on 939 aliphatic and 1075 aromatic substances from the LSER descriptor database [8,9]. The resultant descriptor value of the studied compound (X) is derived from Equation (5):

$$L_{,X} = \sum_{i=1}^{n} l_i * FG_i + \sum_{j=1}^{n} m_j * SC_j + \sum_{k=1}^{n} n_k * IC_k \qquad (5)$$

FG, *SC*, *IC* the number of particular functional groups (*FG*), structural contributions (*SC*) and interactional contributions (*IC*) forming the compound X,

i, *j*, *k* the identification numbers of the functional groups (*i*), structural contributions (*j*) and interaction contributions (*k*),

l, *m*, *n* the regression coefficients for the contributions of the functional groups (*l*), structural contributions (*m*) and interactional contributions (*n*).

The values of the particular contributions are given in Table 1.

3.2.2 The Platts-Butina method

A method developed by Platts, Butina et al. (PB) is intended to calculate six LSER descriptors (*L*, *E*, *S*, *A*, *B*, B_0) with various precisions of estimation of the individual

parameters [10,11]. Calculation of the descriptor *L* by the PB method is similar to that using the HS method. The values of the particular contributions from this method are given in Table 1.

Table 1
Fragments and their values with the standard deviation *(sd)* used to calculate the descriptor *L* using the HS and PB methods

Group	**HS method**		**PB method**	
	value	*sd*	value	*sd*
(-CH_3)	0.340	0.006	0.321	0.009
(-CH_2-)	0.502	0.001	0.499	0.002
(-CH<)	0.467	0.012	0.449	0.011
(>C<)	0.443	0.021	0.443	0.025
(=CH_2)	0.249	0.016	0.244	0.021
(=CH-)	0.504	0.013	0.469	0.004
(>C=)	0.658	0.020	0.624	0.008
cis isomer	0.112	0.040	-	-
Alkyl interaction[1]	0.119	0.013	-	-
Intercept[2]	-	-	0.130	0.025

[1] Interactions of adjacent alkyls; this contribution is added if they are bonded next to one another on the carbon chain. This does not apply to alkyls on carbons connected by a double bond.
[2] This constant is automatically added to each calculated descriptor value.

4. RESULTS AND DISCUSSION

4.1 Retention description of 21 analytes by LSER model in methanol-water and acetonitrile-water mobile phases

This part follows results of diploma theses [12,13] where HPLC retention data on reverse stationary phase in a broad range of mobile phase composition were evaluated. In the mentioned works, a selected group of 21 analytes including various types of organic compounds was measured in methanol-water and acetonitrile-water mobile phases in a range of 1 - 100 % vol. content of organic solvent. The aim of these works was retention prediction of the analytes using the LSER model in different compositions of mobile phase.

All the substances met the conditions of availability of the LSER descriptors, detectability in UV range and at least partial solubility in water. A reversed stationary phase with bonded C-8 alkyl chain (LiChrospher 60 RP-select B, 125 mm x 4 mm, particle size 5 µm) was selected. Results in this part originate from the same experimental data used in the mentioned diploma theses. In Chapter 4.1, there were investigated several viewpoints of retention description of 21 analytes by using the LSER model.

Firstly, the error of retention prediction (absolute value) of particular analytes was evaluated in the all measured mobile phases. An order of compounds according to increasing the error of prediction is displayed in Table 2.

Table 2
An order of compounds according to increasing error of prediction for the methanol-water and acetonitrile-water mobile phases

	MeOH-water	Error of prediction		**ACN-water**	Error of prediction
1	Nitrobenzene	0.031	1	Propylformate	0.031
2	Ethylformate	0.043	2	Nitrobenzene	0.049
3	Chloroform	0.048	3	Aniline	0.053
4	Nitroethane	0.053	4	Benzaldehyde	0.054
5	Aniline	0.054	5	Cyclohexanone	0.060
6	Cyclohexanone	0.072	6	Benzylalcohol	0.063
7	Benzaldehyde	0.075	7	Ethylformate	0.067
8	Propylformate	0.085	8	Benzonitrile	0.068
9	Benzylalcohol	0.091	9	2-Pentanone	0.068
10	Nitromethane	0.113	10	Chloroform	0.080
11	Benzamide	0.113	11	Nitroethane	0.085
12	Benzonitrile	0.118	12	Benzamide	0.104
13	2-Pentanone	0.124	13	2-Nitroaniline	0.104
14	2-Nitroaniline	0.135	14	Nitromethane	0.109
15	Benzene	0.164	15	*o*-Cresol	0.123
16	Dichloromethane	0.167	16	Benzene	0.150
17	*o*-Cresol	0.176	17	Phenol	0.165
18	Butyraldehyde	0.190	18	Dichloromethane	0.174
19	Phenol	0.274	19	Butyraldehyde	0.205
20	Diethyl ether	0.305	20	*N,N*-Dimethylformamide	0.226
21	N,N-Dimethylformamide	0.374	21	Diethyl ether	0.284
Average aromatic compounds		***0.123***	***Average aromatic compounds***		***0.093***
Average aliphatic compounds		***0.143***	***Average aliphatic compounds***		***0.126***

For the methanol-water mobile phase, the average error of prediction provided value 0.123 for aromatic compounds and 0.143 for aliphatic compounds. In case of the acetonitrile-water mobile phase the similar trend occurred, value of the error of prediction was 0.093 for aromatic compounds and 0.126 for aliphatic compounds. It turned out that aromatic substances were described by the solvation model better than aliphatic.

Next, the LSST model (Chapter 3.1.2) was used to express relations between the retention behaviour of analytes and the mobile phase composition. The retention of compounds in the methanol-water mobile phase was described using the LSST model better than in case of the acetonitrile-water mobile phase.

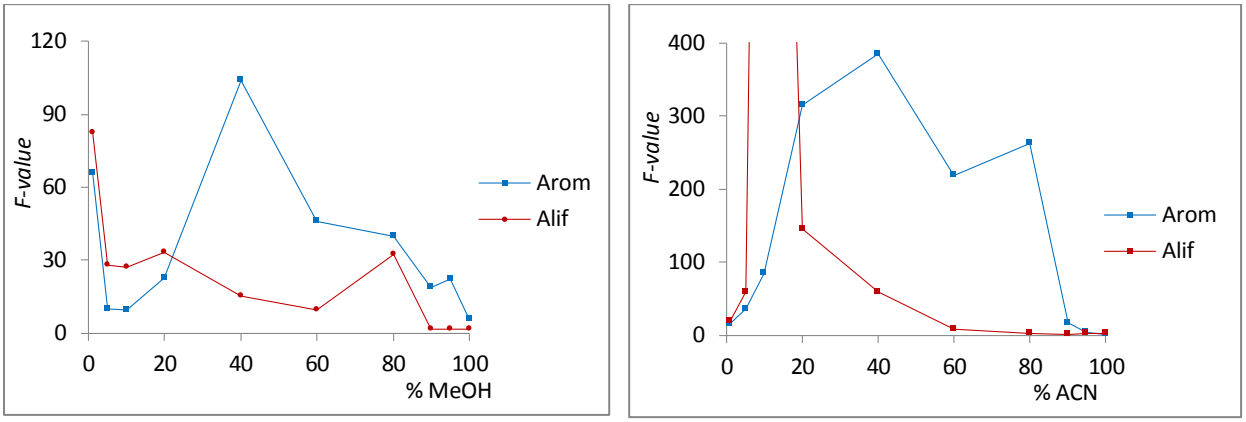
Similarity of the LSER and LSST model in the retention description of individual analytes was studied according to residuals of the compounds. Both the models turned out to be rather less similar to each other in the retention description. It cannot be stated that analytes well described by the LSER model were well described by the LSST model. From the point of view of retention description, the LSST model turned out to be more susceptible to mobile phase composition in the acetonitrile-water system. In the border areas of this mobile phase composition, where one component predominates over the other one, the error of description was higher, than in the intermediate area of the composition. In the methanol-water mobile phase, the LSST model provided balanced values of the description error in whole range of the mobile phase composition.

Subsequently a combination of the LSER and LSST model was used to describe the retention. The reason was a possibility of compensation of deviations from regular retention behaviour in the border areas of the mobile phase composition. A substitution of the measured retention of analytes for the calculated retention values by using the LSST model would eliminate the mentioned deviations.
The measured retention values (log*k*) were replaced with the retention values calculated by the LSST model. Next, MLR was carried out and a modified LSER model was constructed. On the basis of *F*-statistics value of regression, the ability of the retention description of the model was evaluated and compared to the original LSER model. It turned out that the retention description was not improved by the substitution of the

measured retention for corrected retention values calculated by the LSST model. The LSER model better described the experimental values log*k* in spite of their deviation from the regular retention behaviour expressed by the LSST relationship.

At the end of Chapter 4.1, an influence of analytes selection used to construct the LSER model on resulting retention description by the model was investigated. The group of 21 analytes includes both aromatic and aliphatic compounds as well as derivatives of organic compounds with oxygen and nitrogen atoms. The analytes were split in groups containing similar compounds from the point of view of chemical structure.

Firstly the 21 analytes were arranged in two sets including aromatic compounds only and aliphatic compounds only. For each group, MLR was carried out in the all mobile phase compositions. Resultant *F*-statistics value of regression was applied to compare the retention description by the LSER model for both the groups.



a) b)

Fig. 1a,b)

F-statistics value of regression for the LSER model according to the mobile phase composition for the aromatic group (Arom) and aliphatic group (Alif) of analytes:

a) methanol-water,

b) acetonitrile-water (a point assigned to 10 % acetonitrile (Alif): *F*-value = 1896.2)

For both the mobile phases methanol-water and acetonitrile-water, it turned out that the aromatic group of analytes provided better retention description using the LSER model compared to the aliphatic group on the basis of *F*-statistics (Fig. 1a,b).

Next, the analytes were split in two sets including oxygen derivatives only and nitrogen derivatives only. The procedure was similar to the previous case. *F*-statistics of regression for the oxygen derivatives and nitrogen derivatives group is depicted in Fig. 2.

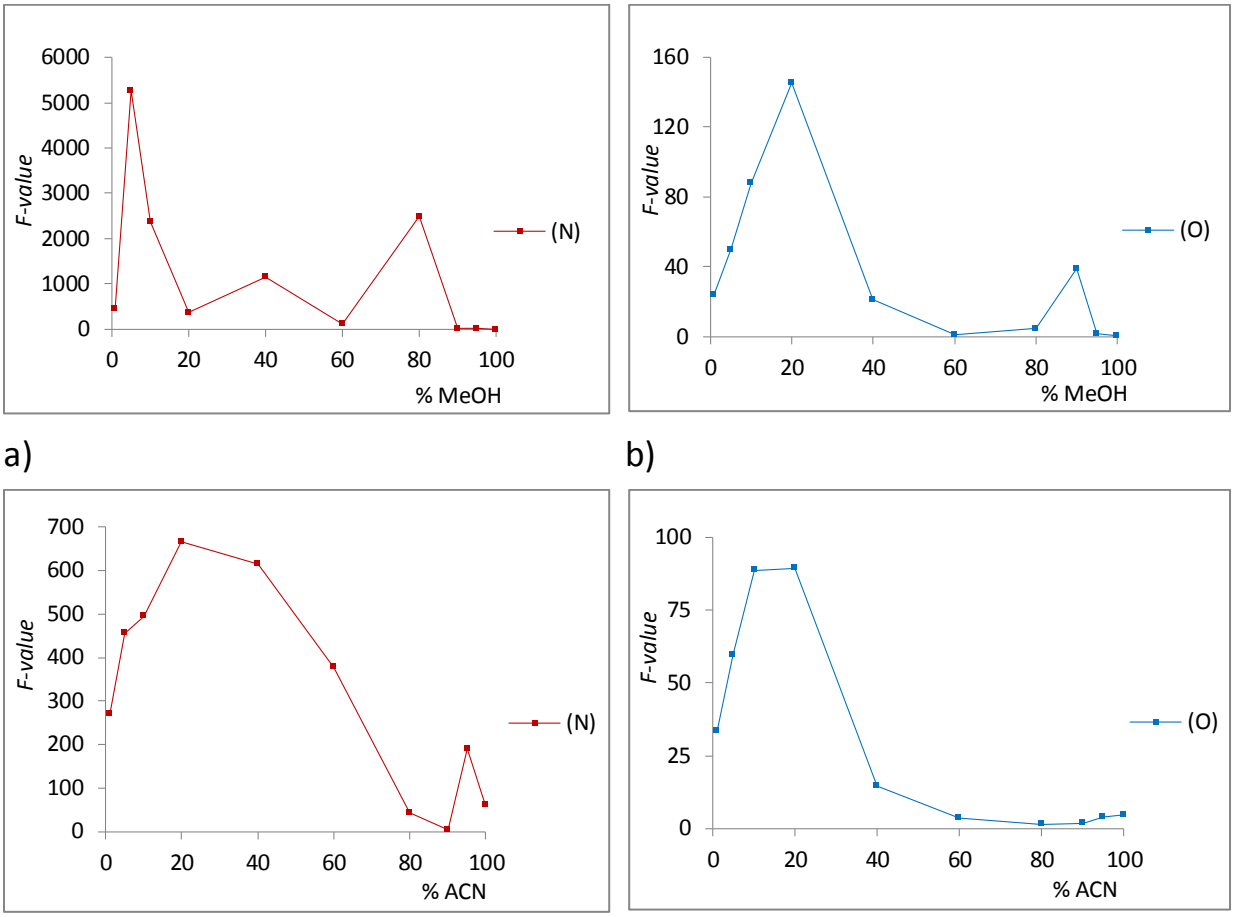


Fig. 2a,b,c,d)

F-statistics value of regression for the LSER model according to the mobile phase composition for the groups of analytes:

a) nitrogen derivatives (N) in the mobile phase methanol-water,

b) oxygen derivatives (O) in the mobile phase methanol-water,

c) nitrogen derivatives (N) in the mobile phase acetonitrile-water,

d) oxygen derivatives (O) in the mobile phase acetonitrile-water

In the mobile phase methanol-water, the group of nitrogen derivatives performed high *F*-statistics values (Fig. 2a) by far exceeding values of the original group of 21 analytes. The oxygen derivatives group provided substantially lower *F*-values (Fig. 2b).

In the mobile phase acetonitrile-water, the nitrogen derivatives group also demonstrated higher *F*-values (Fig. 2c) compared to the original group of 21 analytes. The oxygen derivatives group (Fig. 2d) showed markedly lower *F*-statistics, describing significance of the LSER model only for a half of the measured mobile phases (in range of 1 - 40 % acetonitrile). On the basis of these results, there is an evident susceptibility of the LSER model to selection of analytes for construction of the regression model.

4.2 Retention description of C5-C8 alkenes by LSER model: application of two methods of calculation of descriptor *L*

Up to now, there has not been any study dealing with a retention description of complete group of alkenes isomers by using the LSER model in gas chromatography. Inaccessibility of the experimental descriptors of analytes can be a reason for that. The solvation descriptors database of C5-C8 alkenes includes only 39 compounds of all 152 existing substances. Therefore, estimation methods (Chapter 3.2) were applied to obtain values of the descriptors *L*, *E* required for retention description of alkenes on nonpolar stationary phases.

The descriptor *E* was calculated directly according to its definition, with knowledge of the refractive index of alkenes and the McGowan´s characteristic volume V_X [14]. The descriptor *L* was obtained by using the Havelec-Ševčík (HS) and Platts-Butina (PB) methods. Experimental values of alkenes retention on stationary phases squalane and polydimethylsiloxane (PDMS) were taken from a study of Soják-Kubinec et al. [15,16]. On the basis of MLR, two LSER models were constructed for estimation of the alkenes retention, the HS model and the PB model, according to the origin of the descriptor used. The schematic working procedure is depicted in Fig. 3.

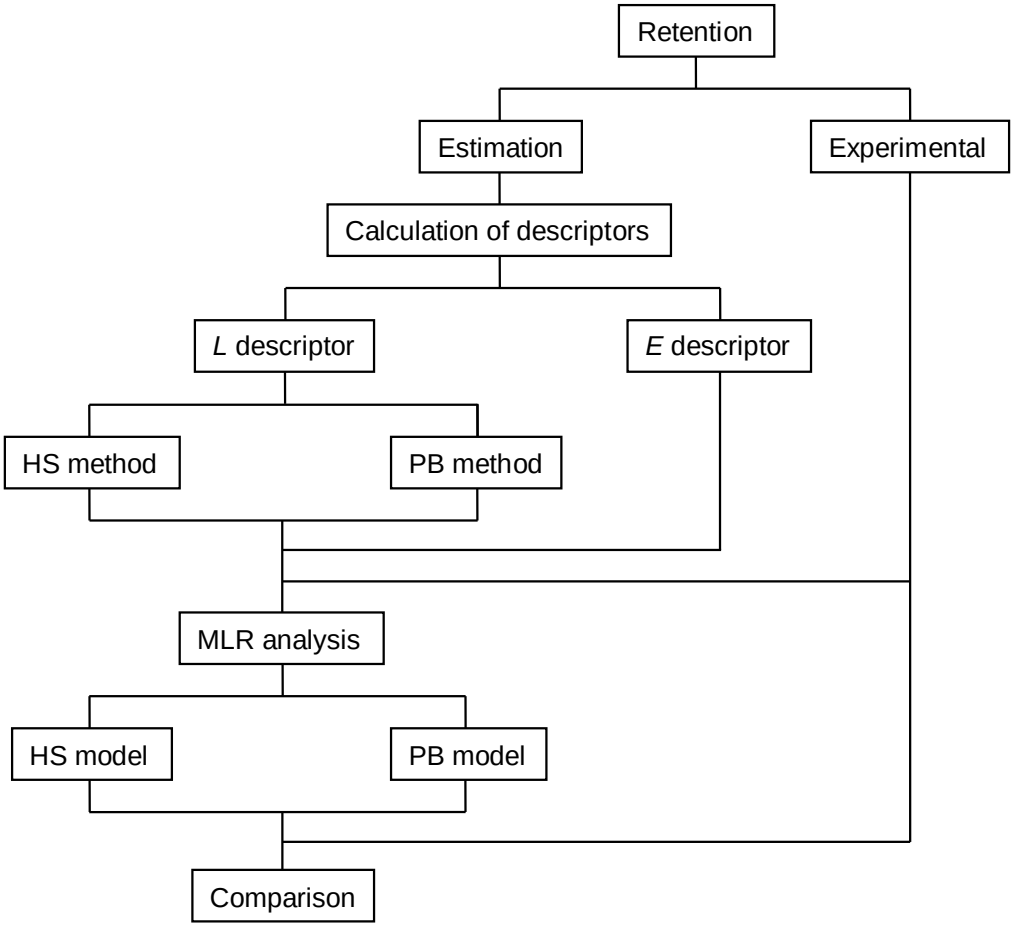


Figure 3
Diagram depicting the working procedure

4.2.1 Retention description of C5-C7 alkenes

Calculated values of the descriptors $L_{,HS}$ and $L_{,PB}$ were used to retention description of 59 alkenes C5-C7. On the basis of the residual analysis of particular analytes, the higher error of retention estimation was found for cis isomers of alkenes calculated by the HS model. In the next step, a modification of the descriptor $L_{,HS}$ was carried out by eliminating the contribution for cis interaction (Tab. 1). A new value of $L_{,HS\ no\ cis}$ was calculated for all alkenes, without the contribution for cis interaction. Such the modified HS model provided significantly better estimation of the retention than the original model. Retention of all 59 alkenes was calculated by the LSER equations with a single descriptor (*L*) and next with both descriptors (*L*, *E*), as is depicted in relations (6) to (9):

$RI_{,\text{calc SQ}} = 185.0(\pm 3.3)L_{,\text{HS no cis}} + 72.9(\pm 30.9)E_{,\text{calc}} + 94.3(\pm 8.8)$ (6)

(model HS $R^2 = 0.985$; $F = 1804$; $SE(RI) = 8.1$; $Q^2 = 0.983$; $n = 59$)

$RI_{,\text{calc SQ}} = 189.1(\pm 4.5)L_{,\text{PB}} + 105.3(\pm 40.4)E_{,\text{calc}} + 79.5(\pm 12.0)$ (7)

(model PB $R^2 = 0.974$; $F = 1032$; $SE(RI) = 10.6$; $Q^2 = 0.971$; $n = 59$)

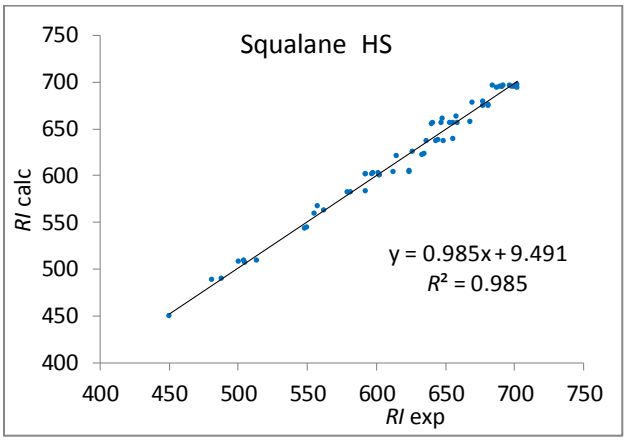
$RI_{,\text{calc PDMS}} = 187.4(\pm 3.0)L_{,\text{HS no cis}} + 69.9(\pm 27.4)E_{,\text{calc}} + 97.1(\pm 7.8)$ (8)

(model HS $R^2 = 0.988$; $F = 2354$; $SE(RI) = 7.1$; $Q^2 = 0.987$; $n = 59$)

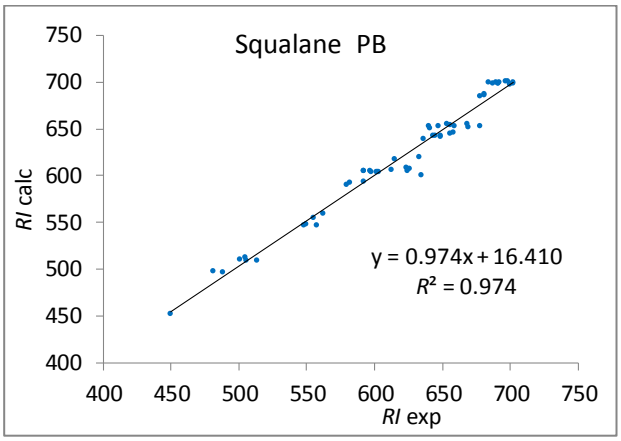
$RI_{,\text{calc PDMS}} = 191.6(\pm 4.3)L_{,\text{PB}} + 102.9(\pm 38.4)E_{,\text{calc}} + 82.2(\pm 11.4)$ (9)

(model PB $R^2 = 0.977$; $F = 1171$; $SE(RI) = 10.1$; $Q^2 = 0.975$; $n = 59$)

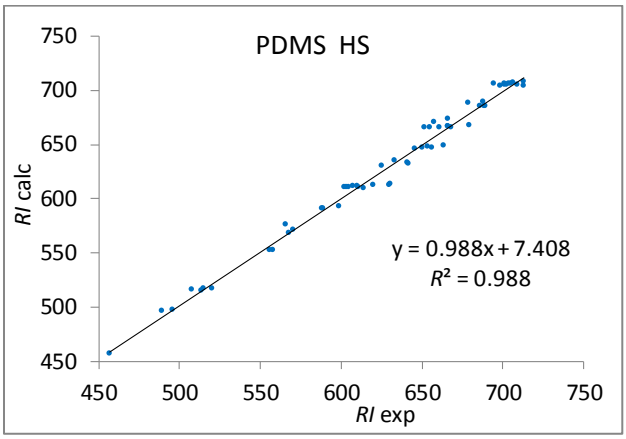
In Eq. (6) to (9), $RI_{,\text{calc SQ}}$ is the calculated retention index of alkenes on squalane, $RI_{,\text{calc PDMS}}$ is the calculated retention index of alkenes on PDMS, values in parenthesis (±) are errors of the estimated regression coefficients, R^2 is the coefficient of determination, F is the Fisher F-statistics, $SE(RI)$ designates the standard error of dependent variable (RI), Q^2 is the predicted (cross-validated) coefficient of determination (R^2_{CV}) and n is the number of points (compounds) in the regression. The calculated retention (RI_{calc}) of C5-C7 alkenes by Equations (6) to (9) was compared with the experimental retention (RI_{exp}) and graphically depicted in Fig. 4.



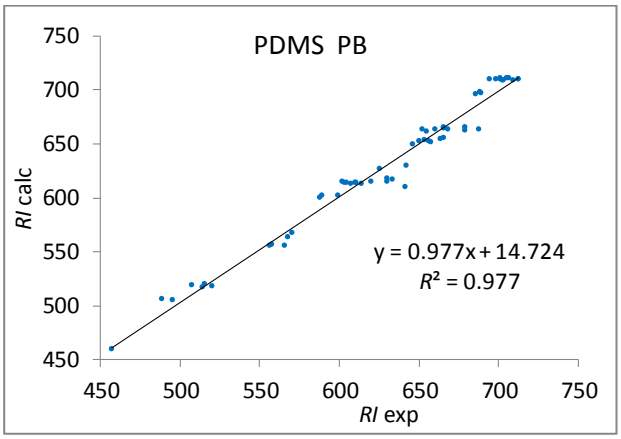
a)



b)



c)



d)

Fig. 4a,b,c,d)

Comparison of the calculated retention (*RI* calc) with the measured retention (*RI* exp) of C5-C7 alkenes using the two-descriptor model:

a) retention on squalane calculated by the HS model,

b) retention on squalane calculated by the PB model,

c) retention on PDMS calculated by the HS model,

d) retention on PDMS calculated by the PB model

Generally, the two-descriptor model better described the retention of C5-C7 alkenes. For the both cases, the HS model provided the more accurate estimation of the retention.

4.2.2 Retention description of C8 alkenes

The descriptors $L_{,HS}$, $L_{,PB}$ and E were calculated for 93 isomers of octenes, similarly as in Chapter 4.1.2. The descriptor $L_{,HS\ no\ cis}$ turned out to be more suitable for the retention description of alkenes compared to $L_{,HS}$. Next, another model was applied to estimate the LSER descriptors, based on the ADME Absolv 2.0 software. This model turned out to be inconvenient for the retention description of alkenes, in comparison with the HS and the PB models. In Equations (10) to (13), the HS model and the PB model are expressed for the retention description of octenes using two descriptors.

$$RI_{,calc\ SQ} = 135.2(\pm10.4)L_{,HS\ no\ cis} + 103.6(\pm44.3)\ E_{,calc} + 264.6(\pm33.5) \quad (10)$$

(model HS $R^2 = 0.775$; $F = 155$; $SE(RI) = 12.9$; $Q^2 = 0.757$; $n = 93$)

$$RI_{,calc\ SQ} = 114.2(\pm7.4)L_{,PB} + 222.2(\pm34.8)E_{,calc} + 327.5(\pm24.0) \quad (11)$$

(model PB $R^2 = 0.825$; $F = 212$; $SE(RI) = 11.4$; $Q^2 = 0.810$; $n = 93$)

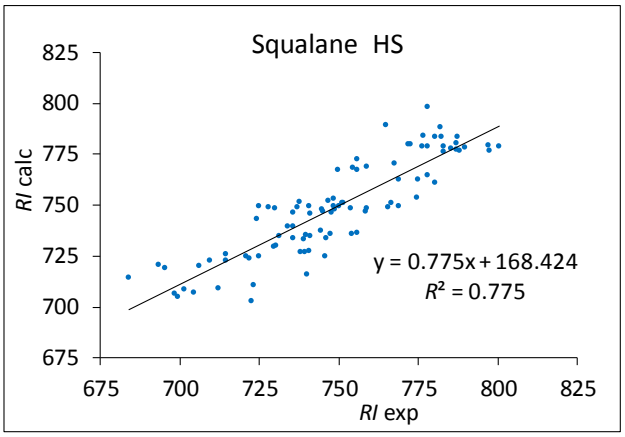
$$RI_{,calc\ PDMS} = 143.3(\pm9.2)L_{,HS\ no\ cis} + 102.5(\pm38.8)\ E_{,calc} + 246.7(\pm29.3) \quad (12)$$

(model HS $R^2 = 0.833$; $F = 224$; $SE(RI) = 11.3$; $Q^2 = 0.757$; $n = 93$)

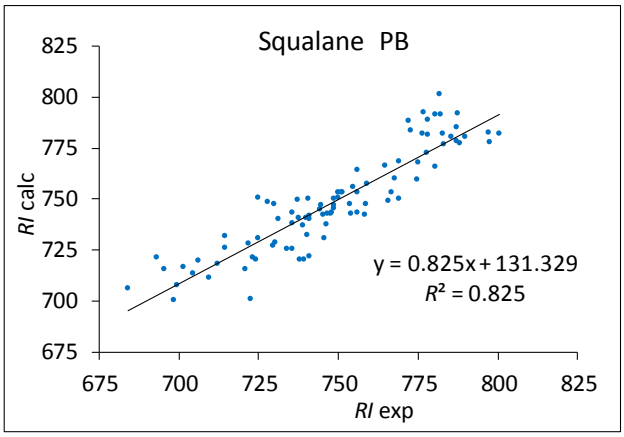
$$RI_{,calc\ PDMS} = 119.6(\pm6.4)L_{,PB} + 231.1(\pm30.0)E_{,calc} + 318.2(\pm20.7) \quad (13)$$

(model PB $R^2 = 0.874$; $F = 311$; $SE(RI) = 9.8$; $Q^2 = 0.863$; $n = 93$)

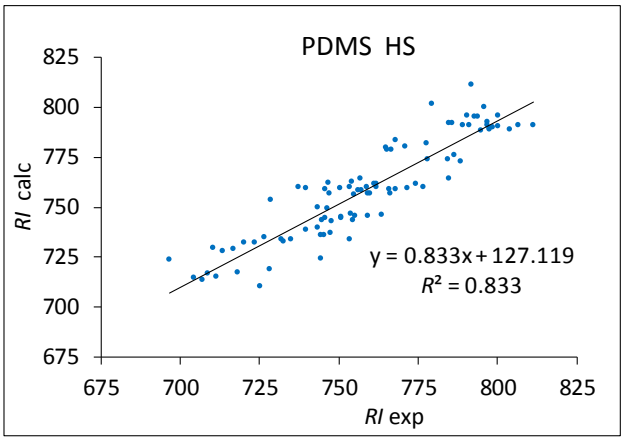
In Eq. (10) to (13) the symbols and statistics have the same meaning as in the previous equations. The calculated (RI calc) and the experimental retention (RI exp) of octenes obtained by Eq. (10) to (13) are depicted in Fig. 5.



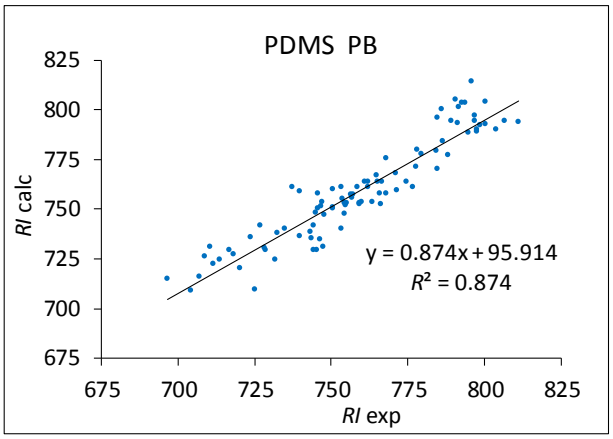
a)



b)



c)



d)

Fig. 5a,b,c,d)
Comparison of the calculated retentions (*RI* calc) with the experimental retentions (*RI* exp) of octenes using the two-descriptor model:
a) retention on squalane calculated by the HS model,
b) retention on squalane calculated by the PB model,
c) retention on PDMS calculated by the HS model,
d) retention on PDMS calculated by the PB model

The PB model with the descriptors $L_{,PB}$ and $E_{,calc}$ performed the better retention description of 93 octenes compared to the HS model. The two-descriptor LSER models for the retention description of octenes revealed noticeable differences between the HS and PB models, primarily in magnitude of the regression coefficients and importance of the particular terms in the equations. The descriptor $L_{,HS\ no\ cis}$ provided the highest correlation with the octenes retention, it can be supposed to be an optimal variable for the single-descriptor model.

4.2.3 Retention description of C5-C8 alkenes

The retention data studied in the previous chapters were merged into one group and the retention description of all C5-C8 alkenes (152 analytes) was investigated. In Equations (14) to (17), the HS and PB model with the single descriptor *L* are displayed.

$$RI_{,\text{calc SQ}} = 183.8(\pm 2.4)L_{,\text{HS no cis}} + 107.7(\pm 7.9) \quad (14)$$

(model HS $R^2 = 0.974$; $F = 5709$; $SE(RI) = 12.3$; $Q^2 = 0.974$; $n = 152$)

$$RI_{,\text{calc SQ}} = 189.3(\pm 3.1)L_{,\text{PB}} + 95.2(\pm 9.9) \quad (15)$$

(model PB $R^2 = 0.962$; $F = 3743$; $SE(RI) = 15.1$; $Q^2 = 0.961$; $n = 152$)

$$RI_{,\text{calc PDMS}} = 186.2(\pm 2.1)L_{,\text{HS no cis}} + 109.8(\pm 6.9) \quad (16)$$

(model HS $R^2 = 0.981$; $F = 7579$; $SE(RI) = 10.9$; $Q^2 = 0.980$; $n = 152$)

$$RI_{,\text{calc PDMS}} = 191.7(\pm 2.9)L_{,\text{PB}} + 97.3(\pm 9.3) \quad (17)$$

(model PB $R^2 = 0.967$; $F = 4421$; $SE(RI) = 14.1$; $Q^2 = 0.966$; $n = 152$)

In Eq. (14) to (17) the symbols and statistics have the same meaning as in the previous relations. According to the mentioned equations, the HS model performed the better retention description compared to the PB model. A difference between both the models with a single descriptor was more evident unlike the previous study of octenes. Values of the calculated retention of C5-C8 alkenes by using the single-descriptor HS and PB model in Eq. (14) to (17) were compared to the experimental retention and depicted in Fig. 6.

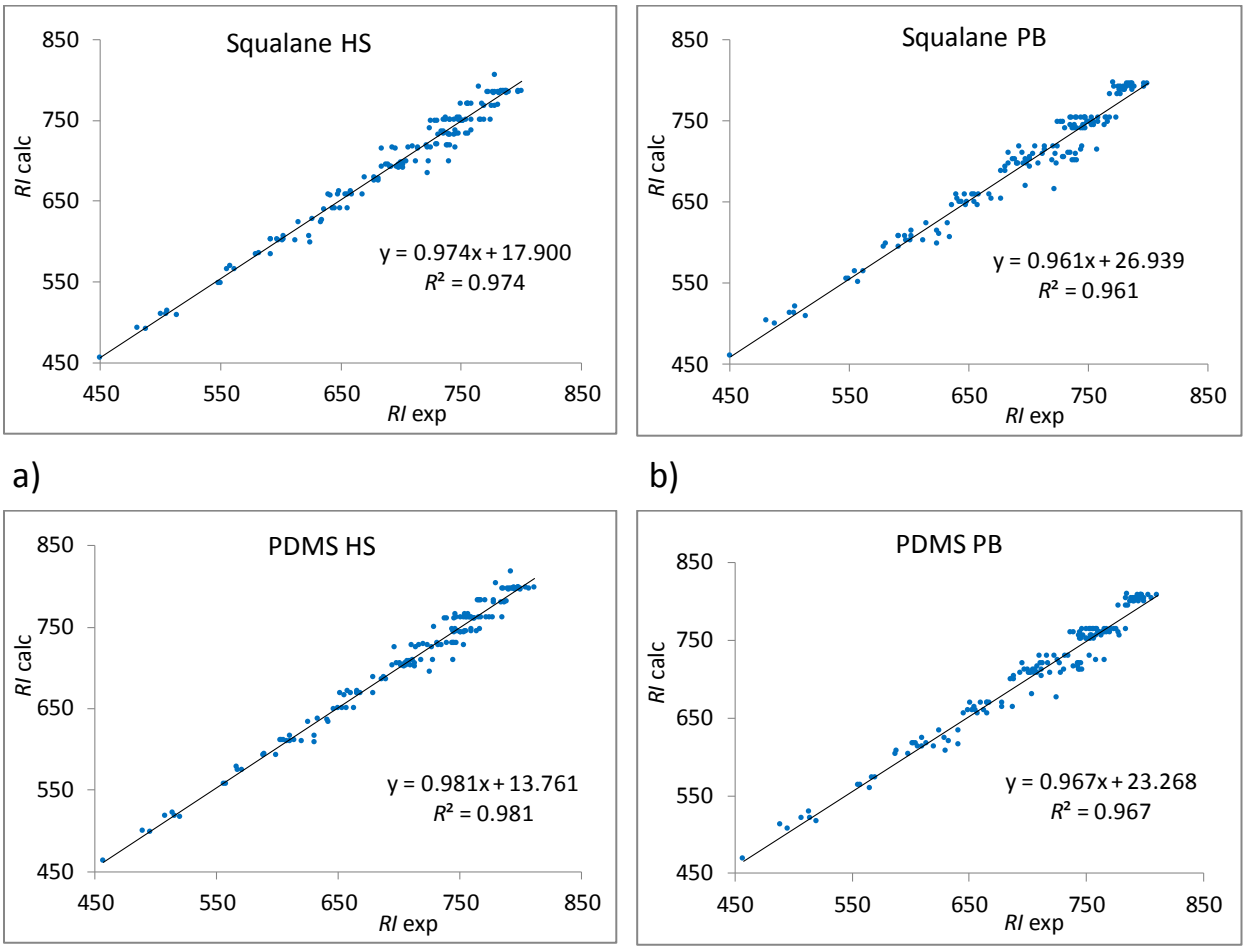


Fig. 6a,b,c,d)

Comparison of the calculated retention (*RI* calc) with the experimental retention (*RI* exp) of C5-C8 alkenes using the single-descriptor model:

a) retention on squalane calculated by the HS model,

b) retention on squalane calculated by the PB model,

c) retention on PDMS calculated by the HS model,

d) retention on PDMS calculated by the PB model

Next, statistical validation of the regression models in Eq. (14) to (17) was carried out. Residual analysis was performed on the basis of five different tests for homoscedasticity. According to the results of tests, it is impossible to decide the model validity because about a half of the five used tests proved heteroscedasticity in the HS and PB models. The resultant values of the most tests were close to the critical values. The residuals of both the models in Eq. (14) to (17) are depicted in Fig. 7. There is evident an irregular distribution of points in the graphs.

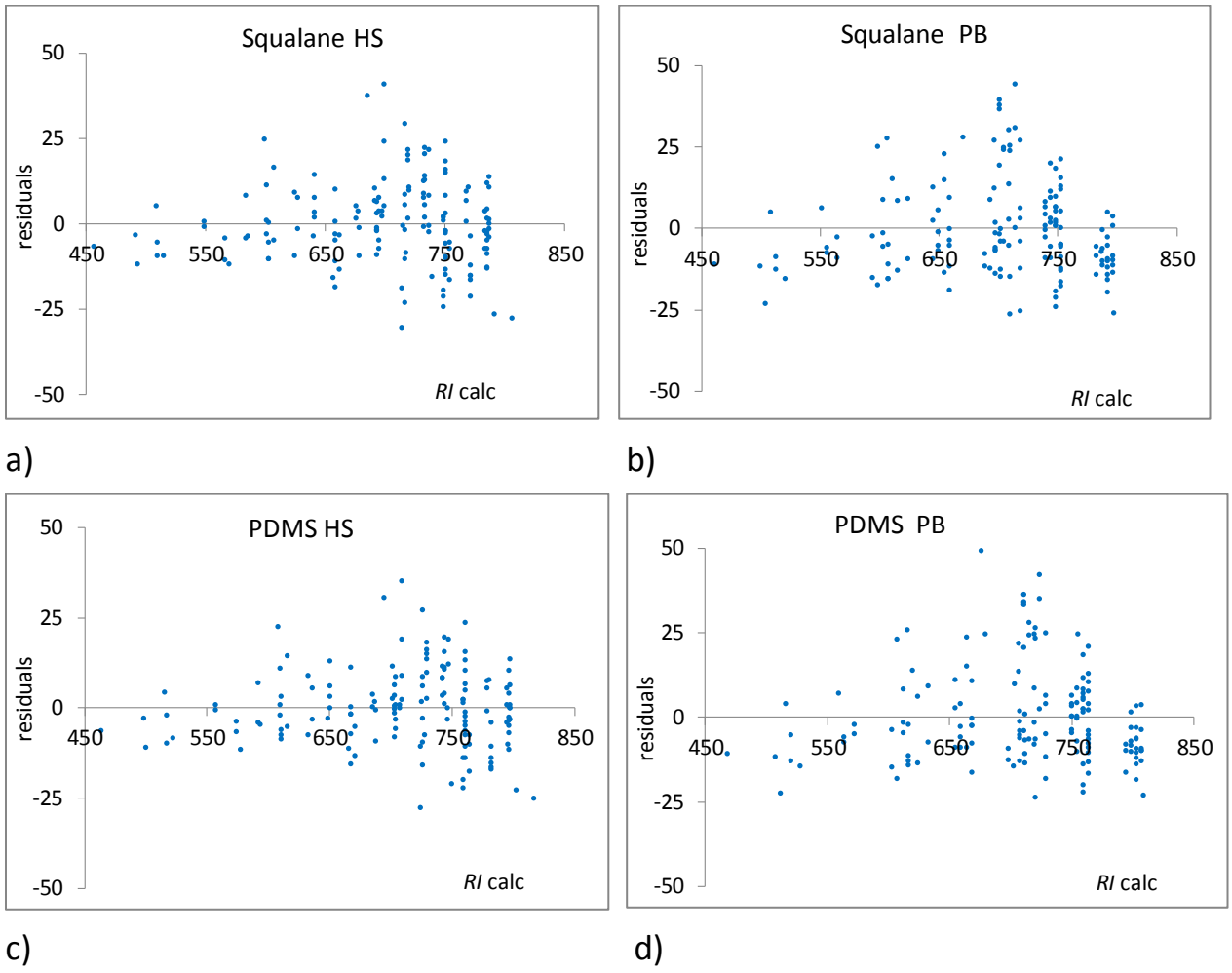


Fig. 7a,b,c,d)

The residual values of calculated retention of C5-C8 alkenes (*RI* exp - *RI* calc) by Eq. (14) to (17) for:

a) the retention estimation by the HS model on squalane,

b) the retention estimation by the PB model on squalane,

c) the retention estimation by the HS model on PDMS,

c) the retention estimation by the PB model on PDMS

In equations with both the descriptors (*L*, *E*), heteroscedasticity of residuals was proved in all cases. Finally it can be concluded that none of the models (HS, PB) with the descriptors *L* and *E* fulfilled the requirements of validity of regression model. The HS and PB models with the single descriptor *L* can be regarded as valid but generally less suitable for the retention description of C5-C8 alkenes.

5. CONCLUSIONS

The solvation model was applied to study of retention behaviour of analytes in liquid and gas chromatography. In the first chapter dealing with liquid chromatography, retention description of 21 analytes by the solvation model was investigated on reversed stationary phase in a wide range of mobile phase composition of methanol-water and acetonitrile-water mixtures. Generally, the retention of aromatic compounds was better described by the solvation model, compared to aliphatic compounds.

Retention of particular analytes was studied using the LSST model. The retention of compounds in the methanol-water mobile phase was described by the LSST model better than in case of the acetonitrile-water mobile phase. Next, the combination of the LSER and LSST model was used to improve the retention description of analytes in the border areas of the mobile phase composition, where an irregular retention of compounds occurred. Such the modified model did not describe the retention better than the original LSER model.

Effect of the particular analytes used to formulate the LSER model on ability of retention description was investigated. Different results of the retention estimation was achieved by using the regression set of compounds including aromatic solutes only or by contrast aliphatic solutes only. The solvation model developed on the basis of oxygen derivatives provided distinct results in comparison to model formulated with nitrogen derivatives only.

The second chapter of this work, thematically focused on gas chromatography, dealt with a retention description of 152 isomers of C5-C8 alkenes by the LSER model on squalane and polydimethylsiloxane stationary phases. The solvation descriptors of alkenes were obtained using estimation methods. The descriptor *L* was calculated by the Havelec-Ševčík method (HS) and the Platts-Butina method (PB), the descriptor *E* was directly determined according to the refractive index and the McGowan characteristic volume of alkenes.

On the basis of the methods used for the descriptor estimation, two models for retention description of alkenes were constructed, the HS model and the PB model. A higher error of the retention estimation was found out for cis isomers of alkenes calculated by the HS model. After a modification of the HS model by omitting the

contribution for cis interaction was achieved a significant improvement in the retention description.

Both the models were used to estimate the retention of 59 alkenes C5-C7. The HS model with descriptors $L_{,HS\ no\ cis}$ and $E_{,calc}$ provided the more accurate retention description compared to the PB model. Next, a retention description of 93 octenes was carried out and the best results were achieved by the PB model using the descriptors $L_{,PB}$ and $E_{,calc}$. Finally, the retention of all 152 alkenes C5-C7 was studied, where noticeable heteroscedasticity of residuals occurred at the two-descriptor models. In case of the single-descriptor models HS and PB, heteroscedasticity was not entirely proved. The best retention description of 152 alkenes with only the single descriptor *L* provided the HS model.

6. REFERENCES

[1] M. Vitha, P.W. Carr: The chemical interpretation and practice of linear solvation energy relationships in Chromatography, J. Chromatogr. A 1126 (2006) 143-194

[2] C.F. Poole, S.K. Poole: Column selectivity from the perspective of the solvation parameter model, J. Chromatogr. A 965 (2002) 263-299

[3] L. R. Snyder, J. W. Dolan, J. R. Gant: Gradient elution in high-performance liquid chromatography: I. Theoretical basis for reversed-phase systems, J. Chromatogr. 165 (1979) 3-30

[4] K. Valkó, L. R. Snyder, J. L. Glajch: Retention in reversed-phase liquid chromatography as a function of mobile-phase composition, J. Chromatogr. A 656 (1993) 501-520

[5] L. C. Tan, P. W. Carr: Extra-thermodynamic relationships in chromatography—study of the relationship between the slopes and intercepts of plots of ln k' vs. mobile phase composition in reversed-phase chromatography, J. Chromatogr. A 656 (1993) 521-535

[6] C. F. Poole, S. N. Atapattu, S. K. Poole: Determination of solute descriptors by chromatographic methods, Anal. Chim. Acta 652 (2009) Sp. Iss. 32-53

[7] A. Stenzel, S. Endo, K. U. Goss: Measurements and predictions of hexadecane/air partition coefficients for 387 environmentally relevant compounds, J. Chromatogr. A 1220 (2012)132-142

[8] P. Havelec, J. G. K. Ševčík: Extended additivity model of parameter logL16, J. Phys. Chem. Ref. Data 25(6) (1996) 1483-1493
[9] P. Havelec, J. G. K. Ševčík: Concept of additivity for a non-polar solute-solvent criterion log L16
[10] J. A. Platts, D. Butina, A. Hersey: Estimation of Molecular Linear Free Energy Relation Descriptors Using a Group Contribution Approach, J. Chem. Inf. Comput. Sci. 39 (1999) 835-845
[11] J. A. Platts, M. H. Abraham, D. Butina, A. Hersey: Estimation of Molecular Linear Free Energy Relationship Descriptors by a Group Contribution Approach. 2. Prediction of Partition Coefficients, J. Chem. Inf. Comput. Sci. 40 (2000) 71-80
Non-aromatic compounds, J. Chromatogr. A 677 (1994) 319-329
[12] Š. Jirkal: Diplomová práce, Přf UK, Praha (2000)
[13] M. Machovcová: Diplomová práce, Přf UK, Praha (2005)
[14] M. H. Abraham, J. C. McGowan: The use of characteristic volumes to measure cavity terms in reversed phase liquid chromatography, Chromatographia 23,4 (1987) 243-246
[15] L. Soják, G. Addová, R. Kubinec: Gas chromatographic–mass spectrometric characterization of all acyclic C5 - C7 alkenes from fluid catalytic cracked gasoline using polydimethylsiloxane and squalane stationary phases, J. Chromatogr. A 947(2002) 103-117
[16] L. Soják, G. Addová, R. Kubinec, A. Kraus, A. Boháč: Capillary gas chromatography–mass spectrometry of all 93 acyclic octenes and their identification in fluid catalytic cracked gasoline, J. Chromatogr. A 1025(2) (2004) 237-253

LIST OF ABBREVIATIONS

A	the overall hydrogen-bond acidity of the analyte
a	regression coefficient of the LSER equation
B	the overall hydrogen-bond basicity of the analyte
B_0	the overall hydrogen-bond basicity of the analyte (variable basicity)
b	regression coefficient of the LSER equation
c	constant of the LSER equation
C5-C8	organic compound with 5 to 8 carbon atoms in the molecule

E the excess molar refraction

$E_{,calc}$ calculated descriptor E

e regression coefficient of the LSER equation

F Fisher F-statistics

FG number of functional groups

ϕ volume fraction of organic solvent in the mobile phase

GC gas chromatography

HPLC high performance liquid chromatography

HS the Havelec-Ševčík methods

IC number of interactional contributions

k retention factor of the analyte

k_w the solute retention factor for the mobile phase consisting of pure water

L logarithm of the partition coefficient gas-hexadecane ($\log L^{16}$)

$L_{,HS}$ descriptor L calculated by the Havelec-Ševčík method

$L_{,HS\ no\ cis}$ descriptor L calculated by the Havelec-Ševčík method without cis interaction

$L_{,PB}$ descriptor L calculated by the Platts-Butina method

l regression coefficient of the LSER equation

LC liquid chromatography

LSER Linear solvation energy relationships

n number of points (substances) in regression

PB the Platts-Butina method

PDMS polydimethylsiloxane

Q^2 predicted coefficient of determination (R^2_{CV})

R^2 coefficient of determination

RI retention index

S the dipolarity-polarizability descriptor

S parameter including properties of the solute and the organic solvent

s regression coefficient of the LSER equation

sd standard deviation

$SE(RI)$ standard deviation of the estimate of dependent variable (RI)

SC number of structural contributions

V the McGowan characteristic volume

v regression coefficient of the LSER equation

V_X the McGowan characteristic volume

Selected publications

Š. Jirkal, M. Machovcová, J. G. K. Ševčík: Application of solvation model to prediction of the solute retention in liquid chromatography over a wide range of mobile-phase compositions, *Acta Chromatogr*. 28(1) (2016) 59-78

Š. Jirkal, J. G. K. Ševčík: Application of two methods of calculation of solvation descriptor *L* to estimate C5–C7 alkenes retention, *J. Sep. Sci* 38 (2015) 2447–2454

Š. Jirkal, J. G. K. Ševčík: Comparison of two methods of calculation LSER descriptor *L* on retention data of octenes, Book of Proceedings, *6th ISC Modern Analytical Chemistry*, ISBN 978-80-7444-005-2 (2010)

Oral presentations

Š. Jirkal: Using of LSER in chromatography, Second joint seminar, Germany, Bayreuth, 12. 04. 2002.

Š. Jirkal: Prediction of retention behaviour of alkenes, Third joint seminar, Czech Republic, Prague, 18. 11. 2002.

Š. Jirkal: Comparison of two methods of calculation LSER descriptor *L* on retention data of octenes, 6th International Students Conference “Modern Analytical Chemistry“: Czech Republic, Prague, 23. - 24. 9. 2010.

Curriculum Vitae

Personal data:

Name: Mgr. Štěpán Jirkal
Date of birth: 21. 09. 1976
Place of birth: Prague
Address: Na Beránce 3, Prague 6, 160 00, Czech Republic
Contact: stepan.jirkal@gmail.com

Education:

2008 – now Ph.D. studies at Department of Analytical chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague, supervisor: prof. Ing. Jiří Ševčík, DrSc. (to 2014), doc. RNDr. Radomír Čabala, Dr. (since 2014), consultant: prof. Ing. Jiří Ševčík, DrSc. (since 2014)

2000 – 2008 Ph.D. studies at Department of Analytical chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague, supervisor: prof. Ing. Jiří Ševčík, DrSc. Discontinued studies

1995 – 2000 Master degree in Analytical chemistry: Faculty of Science, Charles University in Prague

1991 – 1995 Secondary education at "Gymnázium Jana Keplera", Prague

Employment:

2000 – 2003 Scientist, Department of Analytical chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague

Seminars and courses:

Albertov Comprehensive Days, Theory and praxis of comprehensive separation methods, Department of Analytical chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague, 07.- 08. 02. 2012

Language skills:

English – (PET certificate, level B1, exam date: June 2010)
German – passively