МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени В.Н. КАРАЗИНА На правах рукописи ЕДАМЕНКО ДАРЬЯ ВИКТОРОВНА УДК 543 [544.943.3: 54.061: 54.062+544.1: 544-415: 415.3]+543.64 РАЗДЕЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИЦЕЛЛЯРНЫХ ПОДВИЖНЫХ ФАЗ 02.00.02 – Аналитическая химия Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук Научный руководитель Логинова Лидия Павловна Доктор химических наук, профессор Харьков – 2016 2 СОДЕРЖАНИЕ ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ………… 7 ВВЕДЕНИЕ………………………………………………………………….. 9 РАЗДЕЛ 1. ПРИМЕНЕНИЕ МИЦЕЛЛЯРНЫХ ПФ В ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ…………………………………. 16 1.1.Современное развитие тонкослойной хроматографии………………... 16 1.1.1. Классическая ТСХ…………………………………………………….. 16 1.1.2. Развитие ТСХ за счет применения специальных устройств и техник хроматографирования………………………………………………. 17 1.1.3. Использование в ТСХ новых стационарных и ПФ…………………. 18 1.2. Мицеллярные растворы ПАВ как новый тип ПФ для ТСХ………...... 20 1.2.1. Мицеллообразование в растворах ПАВ и добавки, модифицирующие свойства мицелл……………………..…………………. 20 1.2.2. Возникновение и развитие мицеллярной ТСХ……………………… 23 1.2.3. Изменение свойств ПФ введением различных модификаторов…… 24 1.2.4. Модификация стационарных фаз в ТСХ при контакте с растворами ПАВ……………………………………………………………... 27 1.2.5. Особенности и преимущества методов ТСХ с использованием ПФ на основе растворов ПАВ…………………………………………………… 30 1.2.6. Применение мицеллярных растворов ПАВ для пробоподготовки биологических объектов анализа в ЖХ………………................................. 34 1.3. Применение ТСХ для количественного определения разделяемых компонентов. Оценка метрологических характеристик методик количественного определения……………………………………………… 37 1.3.1. Количественная ТСХ. Использование в ТСХ новых способов обработки хроматограмм……………………………………………………. 37 1.3.2. Оценка метрологических характеристик методик количественного определения………………………………………………………………….. 39 1.4. Выводы к разделу 1……………………………………………………... 40 РАЗДЕЛ 2. УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА И МЕТОДИКИ 3 ИССЛЕДОВАНИЙ…………………………………………………………... 41 2.1. Оборудование и реактивы……………………………………………… 41 2.1.1. Оборудование…………………………………………………………. 41 2.1.2. Реактивы……………………………………………………………….. 42 2.2. Методики приготовления растворов…………………………………... 43 2.2.1. Приготовление исходных, рабочих растворов и ПФ в хроматографических исследованиях……………………………………….. 43 2.2.2. Приготовление растворов для проявления хроматограмм…………. 44 2.3. Техника хроматографического эксперимента………………………… 45 2.4. Обоснование выбора направления исследований…………………….. 47 РАЗДЕЛ 3. ВЫБОР ПАВ И ДРУГИХ КОМПОНЕНТОВ ПФ ДЛЯ ТСХРАЗДЕЛЕНИЯ, ОБНАРУЖЕНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В КОСМЕТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ЗЕРНЕ И БИМОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ……………………..…………………………......................... 50 3.1. Влияние добавок алифатических спиртов на характеристики мицеллообразования………………………………………………………. 50 3.1.1. Определение ККМ додецилсульфата натрия в присутствии органических модификаторов………………………………………………. 51 3.1.2. Влияние спиртов на степень связывания противоионов и числа агрегации мицелл ДСН……………………………………………………… 53 3.2. Выбор состава МПФ для ТСХ-разделения и определения эфиров 4- гидроксибензойной кислоты………………………………………………... 57 3.2.1. Общая характеристика аналитов и задачи анализа…………………. 57 3.2.2. Влияние зарядного типа ПАВ, органических модификаторов и кислотности ПФ на ТСХ-разделение парабенов…………………………... 60 3.3. Выбор состава МПФ для ТСХ-разделения и определения микотоксинов………………………………………………………………… 65 3.3.1. Общая характеристика аналитов и задачи анализа…………………. 65 3.3.2. Влияние зарядного типа ПАВ, органических модификаторов и 4 кислотности среды на ТСХ-разделение микотоксинов………………….... 68 3.4. Выбор состава МПФ для разделения и выявления других биологически активных веществ…………………………………………… 73 3.4.1. Пуриновые основания: общая характеристика и задачи определения………………………………………………………………… 73 3.4.2. Влияние зарядного типа ПАВ, органических модификаторов и кислотности ПФ на ТСХ-разделение кофеина, теофиллина и теобромина…………………………………………………………………… 75 3.4.3.Задача обнаружения и определения допинг-веществ методом ТСХ. 79 3.4.4.Влияние зарядного типа ПАВ, органических модификаторов и кислотности среды на ТСХ-разделение спиронолактона, пропраналола и эфедрина…………………………………………………………………….... 80 3.5. Выводы к разделу 3…………………………………………………… 82 РАЗДЕЛ 4. НАЛИЧИЕ НЕСКОЛЬКИХ ФРОНТОВ РАСТВОРИТЕЛЯ И ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВЛИЯНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ПАВ В ПФ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ УДЕРЖИВАНИЯ АНАЛИТОВ В ТСХ С МИЦЕЛЛЯРНЫМИ ПФ…………………………………………………..... 83 4.1. Положение третьего фронта растворителя при восходящем элюировании в ТСХ с мицеллярными ПФ……………………………….. 83 4.1.1. Методика исследования положения нескольких фронтов растворителя при использовании МПФ в ТСХ……………………………. 83 4.2. Влияние концентрации ПАВ в ПФ на характеристики удерживания аналитов в мицеллярной ТСХ с точки зрения образования нескольких фронтов ПФ…………………………………………………………………... 88 4.3. Выводы к разделу 4……………………………………………………... 91 РАЗДЕЛ 5. РАЗРАБОТКА СПОСОБОВ РАЗДЕЛЕНИЯ, ОБНАРУЖЕНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНАЛИТОВ МЕТОДОМ ТСХ С МИЦЕЛЛЯРНЫМИ ПФ ……………………………………………………. 92 5.1.Разработка способа определения парабенов в косметической продукции методом ТСХ с мицеллярной ПФ и описание 5 метрологических характеристик ……………………………….…………... 92 5.1.1. Применение мицеллярных растворов ПАВ в качестве извлекающих растворов при определении парабенов в косметической продукции……………………………………………………………………. 92 5.1.2. Способ определения парабенов в косметической продукции (кремы) методом ТСХ с мицеллярной ПФ………………………………… 93 5.1.3. Описание метрологических характеристик способа определения парабенов в косметической продукции (кремы) методом ТСХ с мицеллярной ПФ……………………………………………………………. 97 5.1.4. Сопоставление методик разделения парабенов методом ТСХ с использованием мицеллярной ПФ и традиционной ПФ (смесь растворителей)………………………………………………………………. 103 5.2. Разработка способа определения микотоксинов в зерне методом ТСХ с мицеллярной ПФ……………………………………………………. 106 5.2.1. Исследование возможности замены органических растворителей при пробоподготовке зерна мицеллярными растворами ПАВ…………… 106 5.2.2. Снижение предела определения микотоксинов за счет биоавтографического проявления хроматографических пятен. Роль ПАВ…………………………………………………………………………… 108 5.2.3. Сопоставление методик разделения и определения микотоксинов методом ТСХ с использованием мицеллярной ПФ и традиционной ПФ (смесь растворителей)………………………………………………………. 109 5.2.4. Способ определения микотоксинов в зерне методом ТСХ с ПФ на основе мицеллярного раствора ПАВ……………………………………….. 110 5.3. Разработка способа определения пуриновых оснований и допингвеществ в БЖ методом ТСХ с ПФ на основе мицеллярного раствора ПАВ…………………………………………………………………………… 114 5.3.1. О возможностях применения мицеллярных растворов ПАВ при пробоподготовке БЖ для ТСХ-разделения и определения пуриновых оснований и допинг-веществ……………………………………………….. 114 6 5.3.2. Сопоставление методик разделения и определения пуриновых оснований методом ТСХ с использованием мицеллярной ПФ и традиционной ПФ (смесь растворителей)…………………………………. 118 5.3.3. Способ определения кофеина в сыворотке крови методом ТСХ с ипользованием ПФ на основе мицеллярного раствора ПАВ……............... 120 5.3.4. Сопоставление методик разделения и определения допингпрепаратов методом ТСХ с использованием мицеллярной ПФ и традиционной ПФ (смесь растворителей)…………………………………. 123 5.3.5. Способ определения спиронолактона, пропранолола и эфедрина в моче методом ТСХ с использованием ПФ на основе мицеллярного раствора ПАВ………………………………………………………………… 126 5.4. Выводы к разделу 5…………………………………………………… 128 ВЫВОДЫ…………………………………………………………………….. 130 ЛИТЕРАТУРА……………………………………………………………….. 133 ПРИЛОЖЕНИЕ А: Количественные характеристики в ТСХ…………….. 154 ПРИЛОЖЕНИЕ Б: Подхода к описанию процесса образования мицелл и характеристики мицеллообразования……………………………………… 156 ПРИЛОЖЕНИЕ В: Метрологические характеристики. Определение терминов……………………………………………………………………… 158 ПРИЛОЖЕНИЕ Г: СПИСОК АВТОРСКИХ ПУБЛИКАЦИЙ…………… 160 7 ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ ТСХ Тонкослойная хроматография МТСХ мицеллярная тонкослойная хроматография ПАВ поверхностно-активное вещество НПАВ неионогенные поверхностно-активные вещества ПФ подвижная фаза МПФ мицеллярная подвижная фаза МФ мицеллярный фронт УТСХ ультратонкослойная хроматография ТСХ-УГФ тонкослойная хроматография с управляемой газовой фазой ЖХ - жидкостная хроматография ВЭЖХ высокоэффективная жидкостная хроматография ДСН додецилсульфат натрия ЦПХ цетилпиридиний хлорид 1-BuOH 1-бутанол 1-РеОН 1-пентанол 1-PrOH 1-пропанол П-ГБК пара-гидроксибензойная кислота Т-2 токсин (8-(3-метилбутирилокси)-4,15-диацетокси12,13-эпокситрихотец-9–эн-3-ол) НТ-2 токсин (8-(3-метилбутирилокси)- 15ацетокси-12,13- эпокситрихотец-9–ен-3,4-диол) Т-2 тетраол 12,13-эпокситрихотец-9–ен-3,4,8-триол pKa показатель константы диссоциации φ объемная доля ККМ критическая концентрация мицеллообразования МЖХ мицеллярная жидкостная хроматография 8 УФ –лампа ультрафиолетовая лампа (УФО-254, УПМФИМЕТ) ПТСХ пластины для тонкослойной хроматографии ПТСХ-АФ-А-УФ пластины для тонкослойной хроматографии аналитические на алюминиевой фольге c флуоресцирующей в ультрафиолетовом свете добавкой. 9 ВВЕДЕНИЕ Актуальность темы. Одно из направлений современного развития тонкослойной хроматографии (ТСХ) заключается в применении новых подвижных фаз (ПФ), принципиально отличающихся от традиционных водно-органических ПФ или смесей органических растворителей (ОР) своей ультрамикрогетерогенностью. В 1979 году Д. Армстронг и Р. Террил предложили использовать в качестве ПФ для ТСХ мицеллярные растворы поверхностно-активных веществ (ПАВ), и новое направление получило название мицеллярной ТСХ (МТСХ). Мицеллярные подвижные фазы (МПФ) соответствуют принципам Green Chemistry, в задачи которой входит сокращение применения опасных ОР. ОР летучие, легковоспламеняющиеся, преимущественно токсичны, их утилизация после использования требует дополнительных затрат и усилий. Водные мицеллярные растворы ПАВ лишены этих недостатков, подвергаются биологическому разложению, а затем более приемлемы, чем ОР, как с экологической, так и с экономической точки зрения. Применение МПФ создает новые возможности разделения веществ, поскольку: (1) дифильные мономеры и мицеллы ПАВ, ориентировано сорбируются на стационарной фазе (СФ), меняя ее поверхностные характеристики; (2) индивидуальность хроматографического поведения веществ усиливается, когда к процессам распределения добавляется связывание веществ мицеллами МПФ с характерными для каждого вещества параметрами мицеллярного связывания. Наиболее распространенными в ТСХ является пластины с полярной стационарной фазой- силикагелем, и здесь замена ОР на МПФ может быть особенно масштабной. Однако методология применения МПФ развивалась в основном в рамках обращенно-фазовой жидкостной хроматографии, где стационарные фазы малополярны или неполярные. В этих рамках разработаны и апробированы известные модели разпределения (трехфазная модель и модель изменения микроокружения вещества, которые 10 распределяются). При внедрении МПФ в планарную ТСХ с полярной СФ возникают вопросы о пригодности для этого случая известных моделей распределения и о возможности управления соответствующими процессами разделения. Актуальной задачей становится исследование особенностей ТСХ-разделения веществ при использовании МПФ, когда СФ полярная, и выявление факторов, влияющих на разделение веществ и характеристики хроматографирования. К тому же поведение МПФ при восходящем элюировании в планарной хроматографии вообще охарактеризована недостаточно и требует дальнейшего исследования. Важнейшие задачи современного химического анализа продиктованы заботой о здоровье человека, стремлением улучшить безопасность и качество жизни; они требуют новых подходов к анализу большого количества проб. Одно из решений проблемы заключается в многоступенчатом анализе и контроле, и ТСХ является одним из методов, пригодных для начальных этапов сортировки проб. Особого внимания в таких задачах приобретает выявление и определение биологически активных веществ в многочисленных продуктах потребления и жизнедеятельности. Для поиска и апробации аналитического применения ТСХ с новыми МПФ мы выбрали группы биологически активных веществ и объекты, связанные с наиболее массовыми анализами: широко используемые консерванты парабены, токсичные примеси микотоксины, некоторые распространенные лекарственные вещества (пуриновые основания и допинг-препараты). В условиях многочисленности анализов важной стороной конкретных методик выявления и определения становится простота пробоподготовки. Поэтому становится актуальным поиск приемов упрощения пробоподготовки для ТСХ, при использовании МПФ - за счет извлчения целевого компонента мицеллярными растворами ПАВ. Мицеллы ПАВ солюбилизируют матричные компоненты БЖ, такие как протеины; демаскируя аналиты, связанные с матрицей, без использования дополнительных операций. 11 Связь работы с научными программами, планами, темами Диссертационная работа является частью планових исследований кафедры химической метрологии Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина в рамках госбюджетных НГР, которые входили в межвузовские научные программы Украины: «Определение, теоретические оценки и применение в химическом анализе характеристик гидрофобности органических соединений», ГР № 0104U000662, «Количественные зависимости структура-удерживание-свойство биологически активных веществ по данным мицеллярной ЖХ» ГР № 0107U000659 (во всех госбюджетных темах автор является исполнителем). Цель и задачи исследования Цель работы – установить особенности хроматографирования веществ в восходящей ТСХ с МПФ и полярной стационарной фазой, и на этой основе разработать методики обнаружения и определения, в которых реализуются преимущества МПФ по сравнению с органическими растворителями. Для достижения цели необходимо было решить следующие задачи: 1. Исследовать влияние компонентного состава мицеллярной подвижной фазы (зарядного типа и концентрации ПАВ, концентрации алифатических спиртов-модификаторов с различной длиной углеводородной цепи, кислотности) на характеристики разделения и форму хроматографических зон (ХЗ) при разделении различных смесей веществ на силикагеле. 2. Охарактеризовать зависимость положения мицеллярного фронта ПФ от состава МПФ при использовании пластин на основе силикагеля. 3. Установить возможности применения растворов ПАВ для извлечения аналитов на этапе пробоподготовки при определении БАВ в косметической продукции, в объектах растительного происхождения и БЖ методом ТСХ с МПФ. 4. Выбрать оптимальные условия разделения БАВ следующих групп: парабены, микотоксины (Т-2 токсин, НТ-2 токсин, Т-2 тетраол и зеараленон), 12 пуриновые основания (кофеин, теофиллин, теобромин), допинг-препараты (эфедрин, пропранолол, спиронолактон). 5. Предложить новые способы обнаружения и определения пуриновых оснований, допинг-препаратов в БЖ, микотоксинов в зерне пшеницы, консервантов (парабенов) в косметической продукции методом ТСХ с МПФ, провести метрологическую оценку методик и сопоставить с существующими методиками с использованием нормально-фазовой ТСХ с органическими растворителями. Объекты исследования Процессы разделения веществ в нормально-фазовой ТСХ с восходящим элюированием и мицеллярными ПФ. Предмет исследования Использование МПФ для обнаружения и определения органических веществ методом ТСХ; факторы, которые влияют на характеристики хроматографирования. Методы исследования Нормально-фазовая тонкослойная хроматография с использованием мицеллярных подвижных фаз, методы экстракции, количественной обработки изображений, статистической обработки результатов. Научная новизна полученных результатов 1. Установлено, что мицеллярные растворы неионогенного ПАВ Твин-80 является наиболее пригодными ПФ для разделения на силикагеле методом ТСХ веществ широкого спектра гидрофобности. 2. Получили дальнейшее развитие представления о множественности фронтов растворителя в ТСХ при использовании МПФ. В восходящем варианте ТСХ с полярной СФ (силикагель) мицеллярная псевдофаза ПФ образует третий фронт, который существенно отстает от водной фазы (видимо фронта), раствора мономеров ПАВ (второй фронт) и хроматографических зон исследованных веществ. Подвижность мицеллярной псевдофазы неионогенного ПАВ несколько уменьшается в присутствии 13 спиртов-модификаторов и существенно уменьшается при переходе от неионогенного к катионному ПАВ. 3. Впервые установлено, что вследствие удерживания мицеллярной псевдофазы полярной стационарной фазой в условиях восходящей ТСХ концентрация ПАВ в МПФ не может быть фактором управления разделением веществ с фактором запаздывания выше 0.3-0.4, поскольку такие вещества движутся преимущественно с водной составляющей ПФ - раствором мономеров ПАВ, которые гидрофобизирует поверхность СФ. 4. Известная классификация методов ТСХ с подвижными фазами, содержащими ПАВ, по механизмам распределения (мицеллярная и ионпарная хроматография) пополнена особой разновидностью метода, которая касается применению мицеллярных ПФ на пластинах с полярным сорбентом. Этот вариант ТСХ характеризуется изменением механизма распределения в процессе элюирования от трехфазного распределения, как в мицеллярной хроматографии, к двухфазному распределению, как в обращеннофазовой хроматографии. 5. Научную новизну полученных результатов подтверждают 2 патента Украины на полезную модель. Практическое значение полученных результатов Впервые на основании исследования влияния факторов состава МПФ на хроматографическое поведение 15 соединений предложено экологически безопасные условия разделения, обнаружения и определения парабенов, микотоксинов, пуриновых оснований и допинг-препаратов с использованием МПФ методом нормально-фазовой ТСХ. Выводы об особенностях фронта мицеллярной псевдофазы и связанные с этим ограничения в управлении разделением веществ позволяют рационализировать поиск оптимального состава ПФ при разработке новых методик разделения и определения веществ методом мицеллярной ТСХ. Применение предложенных МПФ для ТСХ и мицеллярных растворов ПАВ для извлечения аналитов из проб позволяет отказаться от токсичных и 14 горючих ОВ, улучшает экологические и экономические показатели анализа (для микотоксинов в 6 раз дешевле, для парабенов - в 23 раза, для пуриновых оснований - в 60 раз для допинг-препаратов в 6 раз), демонстрирующие разработаные новые методики выявления и определения парабенов, микотоксинов, пуриновых оснований и допинг-препаратов. Вместе с тем по большинству метрологических характеристик разработанные методики не уступают методикам с использованием традиционных ПФ, а по некоторым характеристикам оказываются лучше последних. Предел обнаружения составляет для парабенов 0.07 %, для микотоксинов (30 мкг/кг для зеараленона, 50 мкг/кг для Т-2 токсина, НТ-2 Токин, Т-2 тетраолу), для пуриновых оснований 15 мг / л, для допинг препаратов 0.12 мкг/мл. Показано, что при использовании МПФ в ТСХ отпадает необходимость в предварительном насыщении хроматографической камеры парами ПФ, поскольку водные растворы ПАВ имеют низкую летучесть, даже в присутствии малых количеств спиртов-модификаторов. Это вместе с уменьшением времени непосредственного разделения и сокращением пробоподготовки способствует существенному уменьшению общей продолжительности анализа (для микотоксинов в 2.5 раза, для парабенов в 9 раз, для пуриновых оснований и допинг-препаратов в 40 раз). Обнаружен новый положительный эффекты применения МПФ в ТСХ-повышение чувствительности определения Т-2 и НТ-2 токсинов при использовании биоавтографического проявления ХЗ (Т-2 токсин 20 нг, НТ-2 токсин 150 нг). Полученные в диссертационной работе результаты позволяют распространить возможности применения ТСХ с мицеллярной подвижными фазами в практике химического анализа. Методика определения микотоксинов внедрена в лаборатории микотоксикологии Институ птицеводства НААН. Личный вклад соискателя заключается в анализе литературных данных по теме диссертации, выполнении экспериментальных исследований и обработке результатов, участии в написании научных статей. В 15 экспериментальной работе принимали участие студенты-дипломники Пугач А.И., Лаврененко А.Н., Гаджерига В.В., Чупрынин М.А.. Постановка задачи исследования, анализ и обобщение результатов, формулирование научных положений и выводов проведено совместно с научным руководителем. Апробация результатов диссертации Результаты диссертационной работы были представлены на Киевской конференции по аналитической химии: «Современные тенденции 2015» (Киев, 2015), Сессии Научного Совета НАН Украины по проблеме «Аналитическая химия», (Харьков 2007, Новый Свет 2009); «Modern Physical Chemistry for Advanced Materials (MPC’07)» (Харьков, 2007); Всеукраинской конференции молодых учених и студентов по актуальным вопросам химии (г. Днепропетровск, 2006), международном конгрессе «International Congress on Analytical Sciences (ICAS-2006)» (Москва, 2006); Международном симпозиуме «Методы химического анализа» (Ужгород, 2005); VI Всеукраїнській конференції студентів та аспірантів «Сучасні проблеми хімії» (Київ, 2005); Международной конференции «Analytical Chemistry and Сhemical Аnalysis (AC&CA-05)» (Киев, 2005); Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії (Дніпропетровськ, 2004), Международном симпозиуме “Дни ПАВ-2004” (Киев, 2004); International Conference of Chemistry and Modern Technic (Dnepropetrovsk, 2003). Публикации По материалам диссертации опубликовано 20 работ, из них 7 статьи в научных специализированных изданиях, 2 патента на полезную модель и 11 тезисов докладов

ВЫВОДЫ Установлены особенности хроматографирования при использовании мицеллярных растворов ПАВ в качестве подвижных фаз в восходящей ТСХ с полярной стационарной фазой, выяснены факторы влияния состава мицеллярной подвижной фазы на характеристики хроматограмм; обеспечено дальнейшее развитие метода ТСХ на силикагеле за счет применения мицеллярных подвижных фаз. 1. Среди ПАВ трех зарядных типов наиболее подходящим для создания мицеллярных подвижных фаз для восходящей ТСХ на силикагеле оказалось неионогенное ПАВ Твин-80 в виде индивидуальных растворов или с добавлением спиртов-модификаторов или катионного ПАВ ЦПХ. 2. Мицеллярные псевдофазы Твин-80 и ЦПХ при восходящем элюировании на пластинках с силикагелем существенно отстают от водной фракции ПФ и образуют третий фронт, который не достигает и половины длины пробега водной фракции ПФ. Фронт мицеллярной псевдофазы снижается при добавлении в раствор Твин-80 1-пентанола, при переходе от неионогенного ПАВ к катионному ЦПХ, а также при уменьшении концентрации последнего. 3. Изучение распределения четырех групп биологически активных веществ на силикагеле при использовании мицеллярных ПФ свидетельствует о том, что удерживание веществ усиливается с ростом их гидрофобности и не зависит от концентрации ПАВ в ПФ; хроматографические зоны практически всех исследованных аналитов находятся между фронтом мицеллярной псевдофазы и фронтом раствора мономеров ПАВ. 4. Особенности хроматографирования на силикагеле при использовании мицеллярных растворов ПАВ в качестве подвижных фаз обусловлены ограниченной подвижностью мицеллярной псевдофазы и гидрофобизацией поверхности силикагеля за счет адсорбции мономеров ПАВ, что приводит к обращенной зависимости удерживания от гидрофобности веществ. Механизм распределения веществ меняется в 131 процессе элюирования - от трехфазного распределения (водная часть ПФ - мицеллы ПАВ ПФ - стационарная фаза) до двухфазного (водный раствор мономеров ПАВ - стационарная фаза). 5. Установлена возможность использования растворов ПАВ для извлечения аналитов на этапе пробоподготовки при анализе косметической продукции, зерна пшеницы, биологических жидкостей методом ТСХ с мицеллярными подвижными фазами. 6. Разработаны новые способы экспресс-обнаружения и определения биологически активных веществ четырех групп методом восходящей ТСХ на пластинах с силикагелем с использованием экологически безопасных и дешовых мицеллярных растворов ПАВ в качестве ПФ: -4-ГБК и парабенов в косметических средствах; -пуриновых оснований (кофеина, теофиллина, теобромина) в сыворотке крови; -допинг-препаратов (пропранолола, эфедрина) в моче; -микотоксинов (Т-2 токсина, НТ-2 токсина, Т-2 тетраола и зеараленона) в зерне пшеницы. 7. При использовании мицеллярных растворов ЦПХ в качестве ПФ повышается чувствительность биоавтографического определения Т-2 и НТ-2 токсинов по сравнению с классическим вариантом, что объясняется синергизмом влияния микотоксинов и ЦПХ на индикаторные микроорганизмы. Разработанные способы разделения и обнаружения токсинов защищены патентами Украины на полезную модель и внедрены в Институте птицеводства Украинской академии аграрных наук. 8. При использовании мицеллярных растворов ПАВ в качестве подвижных фаз на пластинах с силикагелем общее время анализа уменьшается в несколько раз по сравнению с традиционными ПФ. Это обусловлено уменьшением времени непосредственного разделения, сокращением пробоподготовки, а также отказом от предварительного насыщения хроматографической камеры парами мицеллярной ПФ. 132 Насыщение, как показали исследования, не влияет на характеристики хроматограмм, поскольку водные растворы ПАВ имеют низкую летучесть даже в присутствии малых добавок спиртов-модификаторов.